

REDVET Rev. electrón. vet. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> - <http://revista.veterinaria.org>
Vol. 10, Nº 8, Agosto/2009 – <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080809.html>

Citocinas anti-inflamatorias y sus acciones y efectos en la sepsis y el choque séptico (Anti-inflammatory cytokines and their actions and effects in the sepsis and septic shock).

Dr. Ricardo González Álvarez: Departamento de Biomedicina, Laboratorio de Ensayos Biológicos, Centro de Investigaciones del Ozono. Apartado Postal 6414, Ciudad Habana. Cuba. | **DMV. Zullyt Zamora Rodríguez :** Centro de Investigaciones del Ozono, POBox 6414, Ciudad de La Habana, Cuba. zullyt.zamora@cnic.edu.cu | **Tec. Yaima Alonso González:** Departamento de Biomedicina, Laboratorio de Ensayos Biológicos, Centro de Investigaciones del Ozono. Apartado Postal 6414, Ciudad Habana. Cuba

Resumen

Las citocinas anti- inflamatorias reconocidas son las interleucinas (**IL**) IL-4, IL-10, IL-6, IL-13, el factor estimulante de colonia granulocito –macrófago (FEC-GM) y el interferón alfa (IFN-alfa), los cuales tienen la capacidad de inhibir la liberación de las citocinas pro-inflamatorias y de inducir la producción del antagonista del receptor de la IL-1 y la liberación del receptor soluble del FNT, los cuales limitan algunas de las actividades de las citocinas pro-inflamatorias IL-1 y FNT- α . Sin embargo, los eventos que ocurren durante la inflamación y la sepsis no son tan simples como para justificar siempre acciones antagonistas entre las citocinas pro-inflamatorias y las anti-inflamatorias, las cuales, pueden tener acorde con las circunstancias un comportamiento dual y/o antagónico en el choque séptico.

Así por ejemplo la IL-10 tiene propiedades anti-inflamatorias, lo cual ocurre en la diabetes auto-inmune cuyo comienzo y desarrollo son acelerados en ratones transgénicos que sobre-expresan la IL-10 en los islotes pancreáticos. Esto también ocurre con la IL-10 en un modelo de uveítis en el que se incrementó la inflamación ocular. Ejemplos como los anteriores son extensivos a otras citocinas anti-inflamatorias como la IL-4, IL-13, el factor estimulante de colonia granulocito –macrófago y el factor beta transformante del crecimiento (F β TC), y que serán mencionadas y

descritas en el presente artículo de revisión, así como los factores que determinan ese comportamiento dual de las citocinas.

Palabras claves: Sepsis | choque séptico | mediadores | citocinas anti-inflamatorias| interleucinas.

Abstract

The anti-inflammatory cytokines which are recognized are the interleukins (IL) IL-4, IL-10, IL-13, interferon-alpha (IFN- α) and because they are able to inhibit the release of pro inflammatory cytokines, to induce the production of IL-1 receptor antagonist (IL-ra) and the release of soluble TNF receptor and to limit some of the pro-inflammatory activities of IL-1 and TNF. However the events which occur during inflammation and sepsis are not so simple to justify always antagonists actions between pro-and anti inflammatory cytokines, that these cytokines in accord with the circumstances may play a dual role and also antagonist behavior each one. For example, IL-10 in many experimental models plays a role as anti-inflammatory cytokines and it is considered in which manner. However, in transgenic mice with auto immune diabetes, IL-10 play inflammatory role in pancreas. It also occurs with IL-10 in a model of uveitis in which in crease ocular inflammation.

Other examples as the former have been demonstrated with other anti-inflammatory cytokines such as IL-4, IL-13, GM-CSF and (TGF- β) which will be considered in this review article as well the different factors which determine this dual behavior of the cytokines.

Key word: Sepsis | Septic shock | mediators | anti-inflammatory cytokines| interleukins.

Introducción

La sepsis y su complicación mas severa, el choque séptico constituyen causas fundamentales de una morbilidad y mortalidad elevadas, caracterizándose estos procesos patológicos por trastornos fisiológicos e inmunológicos severos en el organismo de los mamíferos, denominándosele síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) al conjunto de los numerosos síntomas y signos clínicos observados en el desarrollo de esta enfermedad grave en que la infección y la inflamación que afectan a órganos y diversos tejidos, desempeñan un papel protagónico.^{1, 2}

Entre los numerosos mediadores que intervienen en la etiopatogénia del choque séptico se destacan las citocinas inflamatorias, que favorecen el desarrollo del proceso inflamatorio sistémico.³ Sin embargo, en contraposición a esas citocinas inflamatorias también se producen y se liberan en los procesos sépticos otras citocinas clasificadas como anti-inflamatorias ya que tienen la capacidad de inhibir la liberación de las citocinas inflamatorias y de contrarrestar o disminuir algunas de las acciones y efectos nocivos que ellas provocan en el desarrollo de la sepsis.

El objetivo de este artículo es describir y analizar las acciones y efectos de las citocinas anti-inflamatorias más importantes y el papel que desempeñan en la sepsis y el choque séptico.

Desarrollo

Citocinas anti-inflamatorias.

Actualmente se consideran las citocinas anti-inflamatorias más importantes a la IL-10, IL-4, IL-6, IL-13, el factor estimulante de colonia granulocito – macrófago (FEC-GM), el IFN-alfa y el factor beta transformante del crecimiento (FβTC) por el rol que desempeñan en la etiopatogénia de la sepsis.

Merece destacarse que diversas citocinas ejercen un papel dual en los procesos sépticos y se comportan como pro-inflamatoria o anti-inflamatoria en lo que influyen los siguientes factores:

1. La cantidad de citocinas presentes.
2. La naturaleza de las células dianas.
3. El tipo de agente desencadenante que actúa en las células diana.
4. El periodo de tiempo de exposición a las células diana.
5. El modelo experimental utilizado.

Interleucina -10 (IL-10)

Esta fue la primera citocina anti-inflamatoria evaluada clínicamente para su aplicación terapéutica en la sepsis. Inicialmente se le identificó como un producto de las células T auxiliaadoras del tipo 2 de los ratones, las cuales inhiben la producción de las citocinas pro-inflamatorias por las células T auxiliaadoras del tipo 1 tanto en ratones⁴ como en humanos.⁵ La IL-10 ejerce sus acciones anti-inflamatorias sobre los monocitos/macrófagos, los neutrófilos y en los linfocitos T como señalamos inicialmente y produce inhibición de la mortalidad en la endotoxemia experimental.⁶ En

concordancia con lo anterior se ha demostrado que los ratones deficientes en IL-10 son mucho más vulnerables a la mortalidad inducida por lipopolisacárido (LPS),⁷ mientras que Fretland y cols⁸ demostraron una mortalidad incrementada, cuando la IL-10 endógena fue bloqueada por anticuerpos monoclonales anti-IL-10. Sin embargo, Remick y cols⁹ reportaron que la IL-10 administrada en un modelo de sepsis experimental inducido por punción y ligadura del ciego en ratones, no redujo la mortalidad ni la morbilidad en la sepsis polimicrobiana, la cual parece ser provocada por un efecto inmunodepresor de la IL-10 que explica porque la infección persiste en los animales sépticos aunque se les administre una terapia a priori con antibióticos.

La experiencia con la administración de la IL-10 a humanos ha estado limitada a la endotoxemia experimental inducida en voluntarios sanos,¹⁰ en los que el pretratamiento con la IL-10 redujo los incrementos inducidos por la endotoxina en la temperatura corporal y en los niveles pico de FNT-alfa, la IL-6, IL-8 y el antagonista de IL-1, cuando se les comparó con el grupo placebo. También se detectó una disminución de la acumulación de neutrófilos en el pulmón. Sin embargo, cuando el tratamiento con IL-10 fue posterior a la administración de la endotoxina, la respuesta febril, la liberación de citocinas y la acumulación de los neutrófilos no fueron modificadas. Un comportamiento similar de la IL-10 se observó con relación a los parámetros hemodinámicos (frecuencia cardíaca y presión arterial) que tampoco fueron modificadas con la administración de IL-10 después de la endotoxina.

Interleucina -6 (IL-6)

La IL-6 es una citocina con propiedades pro-inflamatorias y alcanza altos niveles en sangre que están asociados con la severidad y un mal pronóstico¹¹ en los procesos sépticos. Sin embargo puede también es considerada como una citosina anti-inflamatoria ya que tiene una potente capacidad para inducir la liberación de proteínas de fase aguda que ejercen un efecto beneficioso en la sepsis y el choque séptico.

Factor Beta transformante del crecimiento (FβTC)

El FβTC es otra citocina anti-inflamatoria que ha sido evaluada para su posible uso terapéutico en la sepsis y el choque séptico. Incrementos significativos en los niveles de esta citocina se han detectado en pacientes con sepsis cuando se les compara con los controles sanos.¹² Sin embargo, los niveles pico detectados en el curso de la enfermedad no se correlacionan marcadamente con el pronóstico,^{13, 14} aunque los experimentos en modelos animales han sugerido su posible utilidad

terapéutica en la sepsis. Kenichi y cols¹⁵ evaluaron FβTC en un modelo de choque séptico en ratas inducido por LPS de salmonella typhosa demostrando que el tratamiento con FβTC produjo reversión de la hipotensión inducida por la endotoxina e incrementó la sobrevivencia, demostrando además, que el FβTC inhibe la óxido nítrico sintasa inducible vinculando por tanto, el efecto hipotensor con el óxido nítrico (ON). Las ratas tratadas con FβTC también tuvieron un significativo incremento de la sobrevivencia en comparación con los controles.¹⁶ Estos resultados apoyan la realización de ensayos clínicos controlados que esclarezcan la posible utilidad del FβTC en el tratamiento de pacientes con sepsis y choque séptico.

Interleucina-4 (IL-4)

Al igual que sucede con la IL-10, la IL-4 también posee actividad anti-inflamatoria potente y tiene la capacidad de inhibir la síntesis de las citocinas pro-inflamatorias y se ha demostrado que es capaz de reducir la mortalidad en varios modelos de choque séptico o endotóxico.^{17,18} Todos los ratones pretratados con IL-4 sobrevivieron a una inyección intraperitoneal (i.p) de E coli viva (10^7 unidades formadoras de colonia (UFC) y de bacteroides fragilis (10^9 UFC), las cuales mataron al 90 % de los ratones no pretratados con la citocina. Sin embargo, también se demostró que mientras el pretratamiento con IL-4 anterior a la inducción de la sepsis tuvo efecto protector, una incrementada mortalidad fue observada cuando la IL-4 se administró durante el período de la infección,¹⁹ lo cual argumenta la importancia de seleccionar el período de tiempo y el momento más adecuado de su administración para producir el efecto deseado (en este caso, reducir la mortalidad) y además ilustra como influye este importante factor en el comportamiento dual (efectividad o carencia de efecto) de cada una de las diversas citocinas en los procesos sépticos.

Interleucina -13 (IL-13)

Esta citocina comparte muchas acciones con la IL-4 y ejerció protección en ratones a los que se les inyectó una LD 90 de LPS.^{20,21} Por el contrario, el bloqueo de la IL-13 con anticuerpos anti-IL-13 redujo la sobrevivencia de los ratones con peritonitis e incrementó el daño tisular provocado,^{22 21} lo cual estuvo asociado con la expresión de otras quimiocinas. Este hecho nos permite sugerir que a pesar de la ausencia de niveles detectables de IL-4 e IL-13 en la circulación sanguínea, estas citocinas pudieran estar involucradas en el control de la liberación excesiva de las citocinas pro-inflamatorias.²³

Factor estimulante de colonia granulocitos /macrófagos. (FEC-GM)

Esta citocina es producida por los macrófagos, los monocitos y las células endoteliales en respuesta a estímulos diversos.

El FEC-GM ejerce también efectos importantes relacionados con la proliferación, diferenciación y el proceso de maduración de los leucocitos polimorfonucleares. También incrementa las funciones del neutrófilo tales como la quimiotaxis, la fagocitosis y la acción bactericida. Sin embargo, aunque estas propiedades del FEC-GM son beneficiosas y mejoran las defensas del hospedero contra la infección, los neutrófilos activados pueden también producir efectos nocivos a través de la producción de especies reactivas del oxígeno y de nitrógeno entre otros mediadores de daño orgánico.²⁴

En contraste con esos efectos nocivos, numerosos estudios sobre le FEC-GM reportan sus propiedades beneficiosas. Por ejemplo se ha demostrado que disminuye la endotoxemia y mejora la sobrevivencia en la neumonía por estafilococo dorado²⁴ y reduce la sepsis por heridas y quemaduras.²⁵ Cuando FEC-GM se administra en combinación con antibióticos puede impedir las complicaciones infecciosas severas en modelos de peritonitis en ratones.²⁶ Además cuando el FEC-GM se administra con la IL-11 recombinante humana a animales con neutropenia, se produce un efecto aditivo entre ambos que se manifiesta en una reducción notable de la mortalidad en un modelo de sepsis inducido por bacterias gram negativas.²⁷

Filgrastim es el FEC-G recombinante humano producido en *E. coli* registrado y comercialmente disponible y que se está utilizando con éxito en el tratamiento y prevención de la neutropenia en el cáncer y en pacientes con SIDA.²⁷ Su capacidad para incrementar las funciones del neutrófilo ha constituido el fundamento para investigar este fármaco en la sepsis y el choque séptico.²⁷ Villa y cols²⁶ evaluaron FEC-G + antibiótico en un modelo de sepsis polimicrobiana inducida por punción y ligadura del ciego en ratones, comenzando el tratamiento 3 días antes de la acción quirúrgica y observaron un incremento significativo de la supervivencia de los ratones tratados con respecto a los tratados solo con antibiótico o con solución salina²⁸ utilizando un modelo similar reportaron reducción de la mortalidad con FEC-GM cuando el tratamiento había comenzado 4 horas después de la inducción de la sepsis por perforación cecal. Sin embargo, ninguna protección adicional fue lograda administrando FEC-G, 1 día o 7 días previos a la inducción de la sepsis.²⁹ El tratamiento con FEC-G disminuyó los niveles de FNT-alfa, endotoxina y lactato en suero.

Estudios realizados en modelos de sepsis en animales mayores (cerdos inoculados con *P. aeruginosa*) han demostrado también efectos beneficiosos con el tratamiento con FEC-G mejorando la sobrevivencia con relación al grupo placebo. Los cerdos tratados con FEC-G tuvieron además menos fiebre y una mejor respuesta hemodinámica lo que se acompañó de la reducción del FNT- alfa y de los niveles de endotoxina en suero.³⁰ Un estudio realizado en perros Beagle con neumonía inducida por *E. coli* mostraron resultados semejantes a los descritos en cerdos.³¹

Es de destacar que la sobreexpresión de estas citocinas anti-inflamatorias características del síndrome de respuesta anti-inflamatorio compensatoria (SRAC) conllevan al llamado estado de inmunoparálisis del sistema inmune defensivo del organismo, el cual no responde y el paciente se hace susceptible a infecciones nosocomiales,³² esto contribuye a la muerte del paciente en una fase tardía³³

Conclusión

Se concluye que las citocinas anti-inflamatorias más importantes que han sido utilizadas como tratamiento en el choque séptico experimental son la IL-4 y la IL-10 y que su efecto beneficioso está finalmente sujeto al momento de aplicación de la misma.

Bibliografía

1. Annane D, Bellissant E and Cavaillon JM. Septic shock. *Lancet*. 2005; 365: 63-78.
2. Durán HJ, Giménez-R, Aller RMA, Lorente RGL, Durán GRL, Arias PJ, Durán SH. Sepsis y shock séptico: un torbellino de mediadores inflamatorios de difícil manejo terapéutico. *Anales de Medicina Interna* 2002;19.
3. González R, Zamora Z, Alonso Y. Citocinas pro-inflamatorias y sus acciones y efectos en la sepsis y el choque séptico. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 2007; 26: 1-9.
4. Romagnani S. Type 1 T helper and type 2 T helper cells: Functions, regulation and role in protection and disease. *International Journal of Clinical & Laboratory Research* 1992; 21:152-158.
5. Boulland ML, Meignint LV, Leroy-Viard K, Copie-Bergman Ch, Brière J, Touitou R, Kanavaros P and Gaulard P. Human Interleukin-10 Expression in T/Natural Killer-Cell Lymphomas (*American Journal of Pathology*. 1998; 153:1229-1237.

6. Nalos M, Huang SJ, Pandit R and McLean AS. Endotoxin stimulated interleukin-10 production is enhanced by adenosine. Possible key to septic shock associated with immune deficiency? *Anaesth Intensive Care*. 2006; 34: 719-723.
7. Carrillo-Vico A, Lardone PJ, Naji L, Fernández-Santos JM, Martín-Lacave I, Guerrero JM and Calvo JR. Beneficial pleiotropic actions of melatonin in an experimental model of septic shock in mice: regulation of pro-/anti-inflammatory cytokine network, protection against oxidative damage and anti-apoptotic effects. *J Pineal Res*. 2005; 39: 400-408.
8. Fretland DJ, Anglin C, Widomski D, Connor J, Wyatt P, Manning P and Currie M. Temporal relationships of cytokine production in mouse non-lethal sepsis: Effect of nitric oxide synthase inhibitors. *Inflamm. Res*. 1997; 46: S155-S156.
9. Remick DG, Garg SJ and Newcomb DE. Exogenous interleukin-10 fails to decrease the mortality or morbidity of sepsis. *Crit Care Med*. 1998; 26: 895-904.
10. Bozza FA, Salluh JI, Japiassu AM, Soares M, Assis EF, Gomes RN, Bozza MT, Castro-Faria-Neto HC, Bozza PT. Cytokine profiles as markers of disease severity in sepsis: a multiplex analysis. *Crit Care* 2007; 11: R49.
11. Martí L, N. Benito, José María Gatell, X. Filella, J. L. Marín, M. Almela, A. Moreno, M. Sánchez (). *Valor de las citocinas proinflamatorias como factor de predicción de sepsis y mortalidad en el anciano con fiebre*. *Med Clin* 2003; 121 (10), 361-366.
12. Lekkou A, Karakantza M, Mouzaki A, Kalfarentzos F and Gogos CA. *Cytokine Production and Monocyte HLA-DR Expression as Predictors of Outcome for Patients with Community-Acquired Severe Infections*. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2004; 11: 161-167.
13. Knapp S, Thalhammer F and Locker GJ. Prognostic value of MIP-1 alpha, TGF-beta, SELAM-1 and SVCAM in patients with Gram-positive sepsis. *Clin. Immunol. Immunopathol* 1998; 87: 139-144.
14. Bauhofer A, Celik I, Plaul U, Wulf H, Torossian A. Effects of G-CSF and antibiotic prophylaxis in a 2 x 2 factorial design on outcome in septic rats. *Inflamm Res* 2004; 53: S126-129.
15. Imai K, Takeshita A, and Hanazawa Sh. Transforming Growth Factor- β Inhibits Lipopolysaccharide-Stimulated Expression of Inflammatory Cytokines in Mouse Macrophages through Downregulation of Activation Protein 1 and CD14 Receptor Expression. *Infection and Immunity* 2000; 68: 2418-2423.

16. Pender BS, Chen H. and Ashton S. Transforming Growth factor beta-1 alters rat peritoneal macrophage mediator production and improves survival during endotoxic shock. *Eur. Cytokine Net Work* 1996; 7:137-144.
17. Newton C, McHugh Sh, Widen R, Nakachi N, Klein T and Friedman H. Induction of Interleukin-4 (IL-4) by *Legionella pneumophila* Infection in BALB/c Mice and Regulation of Tumor Necrosis Factor Alpha, IL-6, and IL-1 β . *Infect Immun* 2000; 68: 5234–5240.
18. Cluitmans FHM, Esendam BHJ, Landegent JE, Willemze R and Falkenburg JHF. IL-4 down-regulates IL-2-, IL-3-, and GM-CSF-induced cytokine gene expression in peripheral blood monocytes. *Annals of hematology* 2005; 68:293-298.
19. Giampietri A, Grohmann U, Vacca C, Fioretti MC, Puccetti P and Campanile F. Dual effect of IL-4 on resistance to systemic gram-negative infection and production of TNF- α . *Cytokine* 2000; 12: 417-421.
20. Muchamuel t, Menon S. and Pisacane P. IL-13 protects mice from lipopolysaccharide- induced lethal endotoxemic correlation with down-modulation of TNF- α , IFN- γ and IL-12 production. *J. Immunol* 1997; 158:2898-2903.
21. Corne J, Chupp G, Lee C G, Homer R J, Zhu Z, Chen Q, Ma B, Du Y, Roux F, McArdle J, Waxman A B and Elias J A . IL-13 stimulates vascular endothelial cell growth factor and protects against hyperoxic acute lung injury. *J Clin Invest* 2000;106: 783-91.
22. Matsukawa A, Hogaboam CM and Lukacs NW. Expression and contribution of endogenous IL-13 in an experimental model of sepsis. *J. Immunol* 2000; 164:2738-2744.
23. Van der Poll T, de Waal M, Coyle SM and Lowry SF. Anti-inflammatory cytokine response during clinical sepsis and experimental endotoxemia: sequential measurements of plasma soluble IL-1 receptor type II, IL-10 and IL-13. *J Infect Dis* 1997; 75, 8-122.
24. Karzai W, Von Specht Bu. and Parent C. G-CSF during *Escherichia coli* versus *Staphylococcus aureus* pneumonia in rats has fundamentally different and opposite effects. *Am J. Respir. Crit. Care Med* 1999; 59:1377-1382.
25. Yalcin O, Soybir G. and Koksoy F. Effects of granulocyte colony-stimulating factor on bacterial translocation due to burn wound sepsis. *Surg. Today* 1997; 27:154-158.

26. Villa P, Shakle CL, Meazza C. Granulocyte colony stimulating factor and antibiotics in the prophylaxis of murine model of polymicrobial peritonitis and sepsis. *J. Infect. Dis* 1998; 178: 471-477.
27. Ping Zhang, Gregory J. Bagby, Jay K. Kolls, David A. Welsh, Warren R. Summer, Jeff Andresen and Steve Nelson. The Effects of Granulocyte Colony-Stimulating Factor and Neutrophil Recruitment on the Pulmonary Chemokine Response to Intratracheal Endotoxin. *The Journal of Immunology* 2001; 166: 458-465.
28. Opal SM, Jhung JW and Keith JC. Additive effects of human recombinant interleukin-11 and granulocyte colony stimulating factor in experimental gram negative sepsis. *Blood* 1999; 93: 3467-3472.
29. Gurleyik G, Yanikkaya G, Gurleyik E , Ozturk E , Dulundu E and Saglam A . Effects of Granulocyte-Colony Stimulating Factor on the Polymorphonuclear Leukocyte Activity and the Course of Sepsis in Rats with Experimental Peritonitis. *Surgery Today*. 2007; 37: 401-405.
30. Bauhofer A, Stinner B, Kohlert F, Reckzeh B, Lorenz W and Celik I. Granulocyte colony-stimulating factor but not peritoneal lavage increases survival rate after experimental abdominal contamination and infection. *British Journal of Surgery*, 2002; 89: 1457-1464.
31. Freeman BD, Quezado Z. and Zeni F. RG-CSF reduce endotoxemia and improve survival during *E. coli* pneumonia. *J. Appl. Physiol.* 1997; 83: 1467-1475.
32. Hotchkiss RS, Kart IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N. Engl. J. Med* 2003; 348: 138-50.
33. Volk HD, Reinke P, Docke WD. Clinical aspect: from systemic inflammation to "immunoparalysis". *Chem. Immunol* 2000; 74: 162-77.