



Original

Efectos protectores de infliximab sobre el daño pulmonar inducido por metotrexato



Aysel Kurt^{a,*}, Levent Tumkaya^b, Hasan Turut^a, Medine Cumhur Cure^c, Erkan Cure^d, Yildiray Kalkan^b, Ibrahim Sehitoglu^e y Ahmet Acipayam^a

^a Department of Thoracic Surgery, School of Medicine, Recep Tayyip Erdogan University, Rize, Turquía

^b Department of Histology and Embryology, School of Medicine, Recep Tayyip Erdogan University, Rize, Turquía

^c Department of Biochemistry, School of Medicine, Recep Tayyip Erdogan University, Rize, Turquía

^d Department of Internal Medicine, School of Medicine, Recep Tayyip Erdogan University, Rize, Turquía

^e Department of Pathology, School of Medicine, Recep Tayyip Erdogan University, Rize, Turquía

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 11 de diciembre de 2014

Aceptado el 24 de marzo de 2015

On-line el 10 de junio de 2015

Palabras clave:

Toxicidad pulmonar

Metotrexato

Infliximab

Factor de necrosis tumoral-alfa

Endotelina-1

R E S U M E N

Introducción: El metotrexato (MTX) se emplea para tratar el cáncer, varias formas de artritis y otras patologías reumáticas, pero puede causar toxicidad pulmonar debido a la producción de radicales libres del oxígeno y varias citocinas. Infliximab (IB) es un potente inhibidor del factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α) e inhibe también la liberación de endotelina-1 (ET-1). Nos propusimos investigar si IB reduce el daño pulmonar inducido por una sobredosis de MTX.

Método: Las ratas se dividieron en 3 grupos de 8 animales. Al grupo control solamente se le administró solución salina. Al grupo MTX se le administró una dosis intraperitoneal de 20 mg/kg de MTX. Al grupo de MTX + IB (MI) se le administraron 7 mg/kg de IB. Tres días después de la administración de IB se administraron 20 mg/kg de MTX. Todas las ratas se sacrificaron 5 días después de la administración de MTX.

Resultados: Las concentraciones de TNF- α , ET-1, malondialdehído (MDA), mieloperoxidasa (MPO) y caspasa-3 fueron significativamente más altas en el grupo MTX que en el grupo control: TNF- α ($p < 0,001$), ET-1 ($p < 0,001$), MDA ($p < 0,001$), MPO ($p < 0,001$) y caspasa-3 ($p < 0,001$) y en el grupo MI: TNF- α ($p < 0,009$), ET-1 ($p < 0,001$), MDA ($p < 0,047$), MPO ($p < 0,007$) y caspasa-3 ($p < 0,003$). El grupo MI mostró menos daño histopatológico en el tejido pulmonar que en el grupo MTX.

Conclusión: La sobredosis de MTX induce la liberación de citocinas y la formación de especies reactivas de oxígeno, además de una mayor secreción de ET-1 que provoca daño pulmonar. IB es un agente proinflamatorio potente, bloquea el TNF- α , puede reducir la liberación de ET-1 y el estrés oxidativo y mostrar importantes efectos protectores del tejido pulmonar frente al daño causado por una sobredosis de MTX.

© 2014 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Protective Effects of Infliximab on Lung Injury Induced by Methotrexate

A B S T R A C T

Keywords:

Pulmonary toxicity

Methotrexate

Infliximab

Tumor necrosis factor alpha

Endothelin-1

Introduction: Methotrexate (MTX) is used to treat cancers, several forms of arthritis and other rheumatic conditions, although MTX may cause pulmonary toxicity related to the production of free oxygen radicals, various cytokines. Infliximab (IB) with its potent effect on tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) inhibition also inhibits the release of endothelin-1 (ET-1). We aimed to investigate whether IB reduces pulmonary damage induced by an overdose of MTX.

Method: The rats were divided into 3 groups of 8 animals. The control group was given only saline. One dose of 20 mg/kg MTX intraperitoneal was administered in the MTX group. IB 7 mg/kg was given to the MTX + IB (MI) group. Three days after IB was administered, 20 mg/kg MTX was given. Five days after MTX was administered, all rats were sacrificed.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: drayselkurt@yahoo.com (A. Kurt).

Results: The TNF- α , ET-1, malondialdehyde (MDA), myeloperoxidase (MPO) and caspase-3 levels in MTX group were significantly higher than in control groups of TNF- α ($P=.001$), ET-1 ($P=.001$), MDA ($P=.001$), MPO ($P=.001$) and caspase-3 levels ($P=.001$) and MI groups of TNF- α ($P=.009$), ET-1 ($P=.001$), MDA ($P=.047$), MPO ($P=.007$) and caspase-3 levels ($P=.003$). The MI group had less histopathological damage in lung tissue than the MTX group.

Conclusion: Overdose of MTX leads to cytokine release and the formation of reactive oxygen species in addition to increased ET-1 secretion release that causes lung damage. IB, as a potent proinflammatory agent, TNF- α blocker, can decrease ET-1 release and oxidative stress, it may show significant protective effects in lung tissue against damage caused by MTX overdose.

© 2014 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

El metotrexato (MTX) es un análogo del ácido fólico que se utiliza de forma general para tratar enfermedades inflamatorias sistémicas tales como el lupus eritematoso sistémico, patologías del pulmón y la mama, la artritis reumatoide, la psoriasis y muchos tipos de cáncer^{1,2}. Las dosis farmacológicas de MTX suprimen las citocinas proinflamatorias y tienen también un débil efecto supresor del factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α). Se han notificado importantes efectos colaterales pulmonares dependientes de la dosis con el uso a largo plazo de dosis terapéuticas o la sobredosis de MTX. Estos efectos incluyen insuficiencia respiratoria aguda y subaguda, tos no productiva, disnea, fiebre, neumonitis, enfermedad pulmonar intersticial y fibrosis pulmonar^{2,3}.

Aunque el efecto tóxico del MTX en los pulmones es todavía incierto, se han propuesto algunas explicaciones. La supresión del sistema inmunitario con MTX causa infecciones víricas o bacterianas recurrentes y reacciones de hipersensibilidad. También puede producir un efecto tóxico directo en el epitelio de la pared alveolar⁴. Asimismo, el MTX muestra un efecto tóxico en el tejido pulmonar, aumentando la apoptosis y la fibrosis⁵. A pesar de que no se han efectuado estudios en humanos, los estudios experimentales han mostrado que el MTX puede causar toxicidad pulmonar aguda, debido a un incremento en la secreción de citocinas como el TNF- α , la interleucina-1 (IL-1), la interleucina-8 (IL-8) y la proteína quimiotáctica-1 de los monocitos^{6,7}. Además, las sobredosis de MTX pueden producir la liberación de citocinas proinflamatorias al aumentar el estrés oxidativo y la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS)⁸. La sobredosis también produce daño en el tejido pulmonar al incrementar el sistema de la enzima caspasa y activar la formación de ROS^{5,9}.

El infliximab (IB), un anticuerpo monoclonal quimérico, se emplea como agente anti-TNF- α y en patologías reumatológicas, gastrointestinales y dermatológicas, así como en enfermedades oculares crónicas y en la sarcoidosis¹⁰⁻¹². En bioensayos *in vitro* efectuados con fibroblastos, células endoteliales, neutrófilos, linfocitos y células epiteliales humanas se ha observado que el IB limita la actividad útil del TNF- α ¹³. El IB disminuye la secreción de citocinas proinflamatorias y reduce la formación de ROS mediante la inhibición del TNF- α . El IB previene el daño tisular inhibiendo la liberación excesiva de citocinas y reduciendo la formación de ROS, lo que reduce el daño tisular al disminuir la estimulación de la apoptosis¹⁴. Se ha descrito que el IB, junto con el bloqueo del TNF- α y la inhibición de la endotelina-1 (ET-1), tiene un efecto protector en el tejido pulmonar. La ET-1, una potente sustancia vasoconstrictora y broncoconstrictora, se libera en el epitelio bronquial y está implicada en la fibrosis¹⁵. La ET-1 fomenta la liberación de citocinas proinflamatorias y su liberación aumenta al elevarse la concentración de citocinas en el tejido pulmonar¹⁶.

El objetivo de este estudio fue cuantificar las principales citocinas proinflamatorias, la ET-1 y el TNF- α , las concentraciones de malondialdehído (MDA) y la actividad enzimática de la

mieloperoxidasa (MPO) en lesiones del tejido pulmonar inducidas por dosis altas de MTX, con el objetivo de evaluar el papel de la formación de ROS y de la apoptosis. Además, pretendimos investigar si el IB afecta a estos parámetros y si tiene un rol protector en la toxicidad pulmonar causada por la sobredosis de MTX.

Materiales y métodos

Animales

El estudio se llevó a cabo en 24 ratas albinas Wistar. En promedio, las ratas tenían de 12 a 15 semanas de edad y pesaban 250-300 g. Los animales experimentales se dividieron de forma aleatoria en 3 grupos: grupo control ($n=8$), grupo MTX ($n=8$) y grupo MTX + IB (MI) ($n=8$). El estudio se realizó cumpliendo la Guía de cuidado y uso de animales de laboratorio (NIH, 1985) y fue aprobado por el comité de ética del centro (número de aprobación: 2014/12).

Diseño experimental

El grupo control únicamente recibió solución salina intraperitoneal (mismo volumen que en el caso de MTX intraperitoneal). Al grupo MTX se le administró una dosis única de 20 mg/kg de MTX (Emthexat-s, ampolla de 50 mg) mediante inyección intraperitoneal. A las ratas del grupo MI se les administró una dosis única intraperitoneal de 7 mg/kg de IB y 3 días más tarde recibieron una dosis única de 20 mg/kg de MTX. Todas las ratas se sacrificaron el mismo día, 5 días después de la administración de MTX en todos los grupos. Todos los animales se anestesiaron con hidrocloreuro de ketamina (50 mg/kg de ketamina por vía intramuscular, Parke-Davis Eczacibasi, Estambul, Turquía) antes del sacrificio. El tejido pulmonar de las ratas se conservó a -80°C hasta su análisis.

Homogeneizados tisulares

Las muestras de tejido pulmonar se homogeneizaron con solución salina tamponada con fosfato (PBS; pH 7,4). Las muestras se centrifugaron a 10.000 g durante 20 min. Se retiró el sobrenadante, se alicuotaron, se conservaron a -80°C y durante el mes siguiente se analizaron los parámetros.

Determinación de proteínas

Para determinar las concentraciones de proteínas en los homogeneizados tisulares se utilizó el protocolo de Lowry. Este método está basado en la reacción de Biuret, por la que en condiciones alcalinas los enlaces peptídicos de las proteínas reaccionan con el cobre para producir Cu^{+} , que reacciona con el reactivo Folin (reacción de Folin-Ciocalteu)¹⁷.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/4202999>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/4202999>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)