**ARTÍCULO ORIGINAL**

Efecto de naloxona y piroxicam en la lesión por isquemia-reperfusión hepática

Effect of naloxone and piroxicam in ischemia-reperfusion liver's injury

Eduardo E. Montalvo-Javé,^{1,2} Luis Humberto Ortega-León,² Enrique Fernández-Hidalgo,² César E. Montalvo-Arenas,³ Mario Téllez-Sánchez,¹ Julieta Peña-Sánchez,⁴ Jorge Landetta-García,² Neyla Baltazar-López,⁵ Rafael Gutiérrez-Vega¹

Resumen

Introducción: La lesión por isquemia-reperfusión hepática (IRH), se caracteriza por la interrupción del aporte de oxígeno y del flujo sanguíneo al hígado, esta fase se conoce como isquemia y la fase de reperfusión se lleva a cabo al restablecerse el aporte sanguíneo a este órgano. El fenómeno de IRH esta involucrado en una serie de eventos como son la procuración de órganos para trasplante, en cirugía y resecciones hepáticas, en el trasplante hepático y en las lesiones asociadas al trauma.

Métodos: Se emplearon 50 ratas Wistar, machos, aleatoriamente en cinco grupos de estudio, con 10 ratas cada uno, siendo el grupo I el sham o simulado y los grupos II, III, IV y V los experimentales. Se realizó isquemia caliente parcial por 60 minutos, se aplicó naloxona y piroxicam previo al evento isquémico o posterior a la reperfusión de acuerdo al grupo de estudio, y se tomaron biopsias hepáticas para estudios histopatológico y muestras sanguíneas para las determinaciones de ácido láctico, bilirrubina total, deshidrogenasa láctica, y transaminasas. Se observó sobrevida a los siete días posterior al evento de IRH.

Resultados: Se observó una mayor sobrevida en los grupos tratados con naloxona o piroxicam previos al evento isquémico (Grupos III y V) y una disminución en los valores séricos de las variables estudiadas con un menor daño histológico, cuando se comparó con el grupo sometido únicamente a IRH (Grupo II) sin aplicación de los fármacos. Este efecto se incrementó cuando se aplicó de manera adicional en el período de reperfusión (Grupo V); sin embargo, al aplicarse únicamente en la fase de reperfusión estos efectos benéficos no se presentaron con las mismas características (Grupo IV).

Discusión: Se observó efecto protector de naloxona y piroxicam, durante el fenómeno de IRH, cuando fueron administrados conjuntamente, previos al evento isquémico y posterior a la fase de reperfusión en el modelo de isquemia caliente en rata. Se observó una mayor sobrevida de los animales que fueron tratados con estos fármacos comparados con el grupo experimental sometido únicamente a IRH.

Palabras clave: Hígado; Naloxona; Piroxicam; Isquemia; Reperfusión; Radicales Libres; Enzimas Hepáticas; México.

1 Departamento de Cirugía. Facultad de Medicina. UNAM.

2 Servicio de Cirugía General. Hospital General de México, SSA.

3 Departamento de Biología Celular y Tisular. Facultad de Medicina. UNAM.

4 Departamento de Biología Molecular. Instituto de Ciencias Biomédicas. UNAM.

5 Servicio de Cirugía Experimental y Laboratorio Clínico. Hospital General de México, SSA.

Correspondencia: Eduardo E. Montalvo Javé. Circuito Universitario 3000.

C.P. 04510. Delegación Coyoacán. México D.F. México. Teléfono y fax:

56 2321 6061. Correo electrónico: montalvoeduardo@hotmail.com

Abstract

Introduction: Ischemic-reperfusion injury (IRI) is characterized by the interruption of oxygen support and blood flow to the liver. This phase is known as ischemia, and the reperfusion phase is effected on re-establishment of blood support to this organ. The phenomenon of IRI is involved in a series of events such as procurement of organs for transplant, in surgery and in hepatic resections, in liver transplants, and in trauma-associated injuries.

Methods: We used 50 male Wistar rats randomly assigned to five study groups, with 10 rats in each group, with group I as the sham or simulated group, and with groups II, III, IV, and V as the experimental groups. Partial hot ischemia was conducted for 60 min; we applied Naloxone and Piroxicam prior to the ischemic event or after reperfusion according to the study group, and we took liver biopsies for histopathological studies and blood samples for lactic acid, total bilirubin, lactic dehydrogenase, and transaminase determination. We observed survival 7 days after the IRI event.

Results: We observed longer survival in groups treated with Naloxone or Piroxicam prior to the ischemic event (groups III and V) and diminution in the serum values of the variables studied, with less histological injury when compared with the group submitted only to IRI (group II) with no application of drugs. This effect increased if were applied in an additional manner in the reperfusion period (group V); however, on applying them solely the reperfusion phase, these beneficial effects did not present with the same characteristics (group IV).

Discussion: The protector effect of Naloxone and Piroxicam was observed during the phenomenon of IRI, when the drugs were administered together, prior to the ischemic event and after the reperfusion phase in the hot ischemic model in rat. Longer survival was observed in animals that were treated with the drugs when compared with the experimental group that was submitted only to IR.

Keywords: Naloxone; Piroxicam; Ischemia; Reperfusion; Injury; Free radicals; Liver; Transplantation; Enzymes; Mexico.

Introducción

La lesión por isquemia-reperfusión hepática (IRH), se caracteriza por la interrupción del aporte de oxígeno y del flujo sanguíneo al hígado, esta fase se conoce como isquemia, y la fase de perfusión se lleva a cabo al restablecerse el aporte sanguíneo a este órgano;¹ con lo que se produce una fase inflamatoria a nivel local y sistémica que puede llegar a producir daño celular como necrosis o apoptosis,² falla orgánica o muerte, que dependerá del tiempo de isquemia fría o caliente al que haya sido sometido el órgano y por lo tanto estos pueden ser los efectos directos a la reoxigenación del hígado.³

El fenómeno de IRH está involucrado en una serie de eventos como son la procuración de órganos para trasplante, en cirugía y resecciones hepáticas, en el trasplante hepático (TH)⁴ y en las lesiones asociadas al trauma, como las heridas ocasionadas por armas de fuego, lesiones penetrantes de abdomen o contusas.⁵ Las especies reactivas del oxígeno (ERO) se producen

en la fase de perfusión, siendo el radical superóxido e hidroxilo, especies altamente reactivas, que son en parte responsables del inicio de la lesión por IRH.⁶ Posteriormente se activan las células endoteliales y las de Kupffer, con migración de neutrófilos polimorfonucleares (PMN), por lo que se produce lesión sobre los hepatocitos asociada a una respuesta inmunológica mediada entre otros grupos celulares por los leucocitos CD4 y el sistema de complemento, por lo que la respuesta inflamatoria altera la señalización intracelular.^{7,8}

En relación con la respuesta celular, se ha tratado de modular para evitar los efectos deletéreos de la IRH, nuestro grupo previamente ha trabajado con los antiinflamatorios no esteroideos (AINE). El piroxicam pertenece a ésta familia de fármacos; es un inhibidor primariamente de la enzima COX-1, es ampliamente empleado en la práctica clínica,⁹ tiene además funciones inmunoreguladoras del proceso inflamatorio, se le ha atribuido un efecto antioxidante y modulador de la migración y adhesión de PMN.¹⁰

Estudios realizados con naloxona en modelos experimentales similares, han proporcionado datos alentadores en base a los resultados obtenidos en el fenómeno de isquemia reperusión.¹¹ La naloxona se conoce como un antagonista de los receptores opiáceos, que modula la producción del anión superóxido de los PMN y se ha estudiado en el tratamiento de las lesiones isquémicas de corazón, riñón, intestino delgado, cerebro, hígado y en estudios de choque hemorrágico.¹²⁻¹⁴ En trabajos previamente publicados por nuestro grupo, se demostró la acción benéfica del piroxicam al ser administrado de manera aislada durante el fenómeno de isquemia-reperusión hepática,¹⁵ y del mismo modo, se observó efecto protector con naloxona durante la isquemia-reperusión en el intestino delgado,¹¹ por lo que decidimos probar la administración conjunta de ambos fármacos esperando observar un efecto sinérgico.

En los estudios mencionados anteriormente, se aplicaron los fármacos en la fase previa al evento isquémico, pero desconocemos si éste efecto se modifica al aplicarlo en la fase de reperusión, por lo que nos será de utilidad en eventos programados en los que conocemos que el tejido será sometido a un evento de isquemia-reperusión.

Objetivo

Determinar la utilidad de piroxicam y naloxona aplicados conjuntamente en un modelo experimental en rata de isquemia reperusión hepática, así como identificar el tiempo de administración de los fármacos mencionados, ya sea previo al evento isquémico o posterior a la reperusión.

Métodos

Previo aprobación por el comité de ética e investigación del protocolo de estudio y la autorización para el manejo de los animales de laboratorio del Hospital General de México, se utilizaron ratas Wistar de características microbiológicas convencionales de 250 a 300 g de peso, machos, del servicio de Bioterio y Cirugía Experimental de la misma institución. Fueron 50 ratas asignadas aleatoriamente en cinco grupos de estudio, con 10 ratas por cada grupo, siendo el grupo I el sham o simulado y los grupos II, III, IV y V los experimentales.

Las características y distribución de los grupos de estudio, fueron las siguientes:

Grupo I: Sham o Simulado. Se realizó laparotomía exploradora, con incisión por la línea media

abdominal, previa anestesia intramuscular con ketamina y xilacina, no se realizó isquemia-reperusión del hígado y no se aplicaron los fármacos en estudio.

Grupo II: Con el mismo abordaje quirúrgico, pero se realizó isquemia caliente parcial por 60 minutos y reperusión hepática, sin aplicación de fármacos.

Grupo III: A diferencia del grupo anterior, con la aplicación de piroxicam y naloxona, una hora previo al evento isquémico.

Grupo IV: A diferencia del grupo anterior la aplicación de piroxicam y naloxona fue a los 30 minutos posteriores, al inicio de la fase de reperusión.

Grupo V: Y en este grupo se inyectó naloxona y piroxicam una hora antes de la isquemia y 30 minutos después de la reperusión.

Las dosis empleadas fueron: piroxicam: 0.3 mg/Kg IV por dosis y de naloxona: 20 nanogramos/Kg IV por dosis.

Después de 12 horas de ayuno, manteniendo a los animales únicamente con ingesta de agua *ad libitum*, bajo anestesia general con xilacina 100 mg/Kg IM y ketamina 10 mg/kg IM. Se colocó a las ratas en tabla quirúrgica en posición decúbito dorsal, fijando y separando las cuatro extremidades con tela adhesiva, con técnica aséptica se realizó incisión media longitudinal, con electrocauterio y tijera de Metzemaum, hasta abordar la cavidad peritoneal, procediendo a la disección e identificación de la rama izquierda de la vena porta y la rama izquierda de la arteria hepática, realizando una isquemia hepática parcial, con micro-pinzas vasculares, interrumpiendo el flujo de los vasos que irrigan el lóbulo mediano y lateral izquierdo, manteniendo la circulación de los lóbulos caudado y lateral derecho, para evitar la estasis esplácnica.

Se mantuvo la isquemia por 60 minutos, al término de ella, se retiraron las pinzas vasculares, para reperfundir los lóbulos isquémicos y se resecaron los lóbulos caudado y lateral derecho, para dejar al animal de investigación únicamente con el tejido sometido a isquemia-reperusión, durante el procedimiento quirúrgico, se mantuvo la hidratación del animal con solución salina isotónica tibia a 15 mL/kg/hora por vía intraperitoneal.

Los fármacos se administraron: la primera dosis, una hora antes de la fase isquémica, por vía intravenosa a través de la vena cava inferior, en los grupos en los que se aplicó los fármacos en la reperusión, se realizó a los 30 minutos por la vena porta y las subsecuentes dosis por vía intramuscular, cada 12 horas, por los siguientes tres días. Se mantuvieron las ratas en observación por ocho días, registrándose

sobrevida acumulada, se sacrificaron los animales con una sobredosis anestésica. Se les realizó estudio *postmortem* inmediato, enviando los lóbulos hepáticos a estudio histopatológico, con conservación/fijación con (formol al 10%). Cuando falleció algún animal antes del término del período de observación, de la misma manera se le realizó estudio *postmortem* inmediato.

Además, se realizó determinaciones de laboratorio para deshidrogenasa láctica (DL), ácido láctico (AL), bilirrubinas totales (BT), transaminasa glutámico oxaloacética (TGO), transaminasa glutámico pirúvica (TGP), con muestras de sangre obtenidas de la vena cava inferior, en las 10 ratas por grupo de estudio. Se llevó a cabo con una jeringa de insulina de un mililitro a los 60 minutos de iniciada la reperusión en los grupos II, III, IV y V y el grupo I a los 60 minutos posteriores a realizar la exploración de la cavidad abdominal.

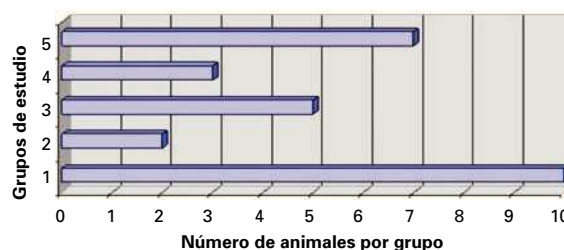
Estadística: Para todas, se empleó la prueba estadística de *Ji cuadrada*, en función de valorar si existen diferencias entre los grupos de estudio en las muestras de laboratorio y se aplicó la prueba Exacta de Fisher para la sobrevida acumulada y para identificar diferencias estadísticas, con un valor de $p < 0.05$ y T pareada para los grupos y sus variables respectivas.

Resultados

A todos los grupos se les realizó el análisis estadístico *Ji cuadrada*, resultando diferencias entre los grupos por lo que se aplicó, la prueba estadística de T pareada en las determinaciones de TGO, TGP, DHL, AL y BT.

1. **Sobrevida acumulada:** En relación a la sobrevida acumulada, en el grupo I o SHAM, las 10 ratas sobrevivieron los siete días, que comprendió el tiempo estimado para el estudio de esta variable, que inició posterior al evento quirúrgico. Por el contrario, en el grupo II sobrevivió una de las 10 ratas, mientras que en el grupo III fueron cinco de 10 ratas, en el IV fueron tres y en el grupo V, ocho de 10 animales de experimentación, encontrándose diferencias estadísticas significativas (DES), a favor del grupo V, al compararse con los grupos II y IV, con un valor $p < 0.003$; no se encontró DES con el grupo III (**Figura 1**).
2. **Biopsias hepáticas con tinción de hematoxilina y eosina:** Se presentan en la **Figura 2**, una muestra representativa de las biopsias hepáticas de los

Figura 1. La sobrevida acumulada fue realizada a los siete días, posteriores al procedimiento quirúrgico, y en los grupos experimentales fue registrado el seguimiento después del evento isquémico y de la fase de reperusión.



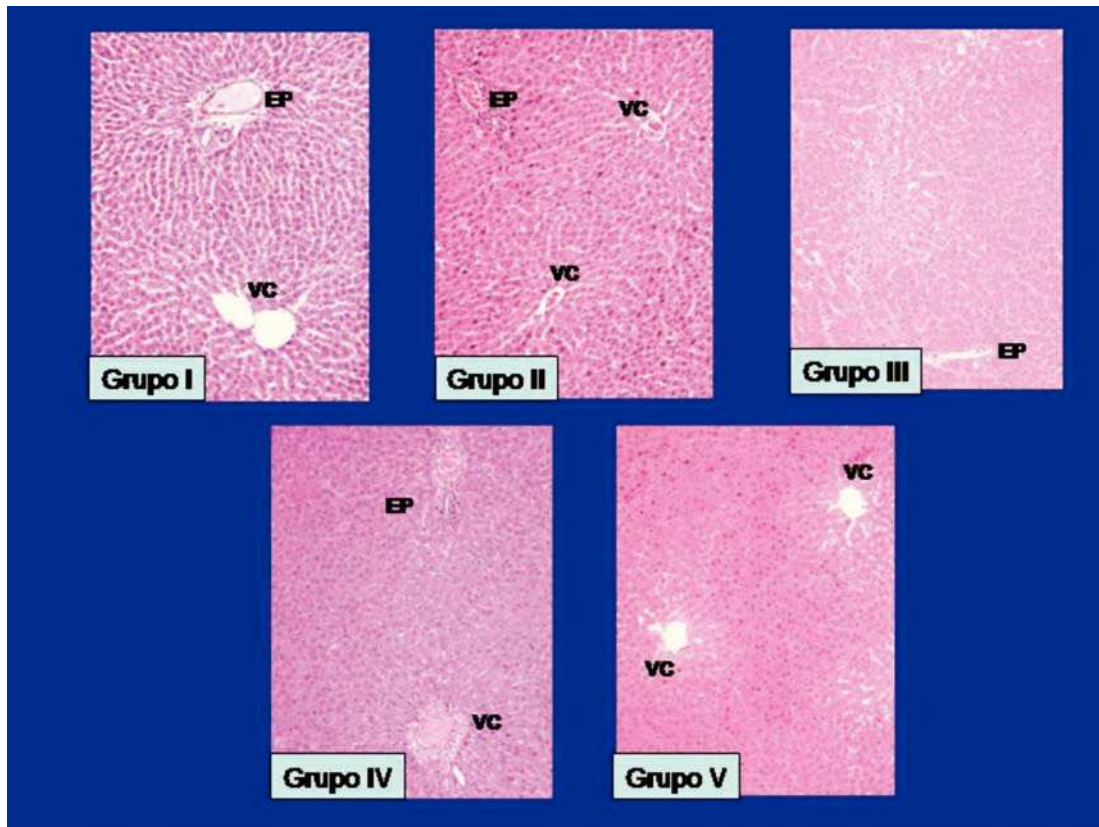
grupos de estudio, las fotomicrografías se realizaron con la tinción de hematoxilina y eosina.

Necrosis: En relación al grupo I, no se observó datos de necrosis, mientras que en el grupo II, se presentó necrosis en ocho de 10 biopsias hepáticas estudiadas, en el grupo III en cuatro, en el grupo IV se observó datos de necrosis en siete y en el grupo V fueron dos muestras de hígado, existiendo DES entre el grupo V al compararse con los grupos II y IV, con una $p < 0.0004$, no encontrándose DES al compararse con el grupo III.

Infiltrado inflamatorio: En relación al grupo I, no se observó infiltrado inflamatorio, mientras que en el grupo II, se presentó en nueve biopsias hepáticas analizadas, en el grupo III en tres, en el grupo IV en seis muestras, y relación al grupo V en tres ratas observó infiltrado inflamatorio en las 10 muestras revisadas. Existiendo DES, en los grupos II y IV, al compararse con los restantes grupos de estudio, con un valor de $p < 0.008$.

Congestión: No se observó congestión en los sinusoides hepáticos en el grupo I, mientras que en el grupo II presentó una congestión severa en las 10 biopsias de hígado revisadas, en el grupo III se observó en cinco muestras hepáticas, en el IV fueron en siete biopsias evaluadas

» **Figura 2.** Se presentan las fotomicrografías representativas de las biopsias de hígado, con una tinción de hematoxilina y eosina. Los hallazgos encontrados se presentan en el área de resultados en base a los datos de necrosis, infiltrado inflamatorio y congestión del parenquima hepático. Se muestran señalados los Espacio Porta (EP), y la Vena Central (VC). Ampliación 10 aumentos.



y en el grupo V se observó congestión en cuatro de las muestras revisadas, se demostró DES a favor del grupo V al compararse con el grupo II, no hubo DES con los grupos III y IV, con un valor de $p < 0.003$.

3. *Enzimas hepáticas séricas, ácido láctico y bilirrubinas:* A todos los grupos se les realizó el análisis estadístico *Ji cuadrada*, resultando diferencias entre los grupos para las determinaciones de TGO, TGP, DHL, AL y BT. Los valores se midieron en unidades internacionales.

Bilirrubina total (BT): Se observó una mayor elevación en los valores de bilirrubina total en el grupo IV al compararse con datos de los grupos I, II, III y IV, aunque no se encontró diferencias estadísticamente significativas (DES) (**Figura 3**).

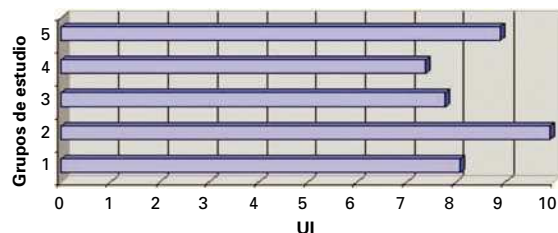
Deshidrogenasa láctica (DHL): Se evidenció DES en los valores de deshidrogenasa láctica en los grupos II, III y IV, en comparación con en el grupo IV (**Figura 4**).

Ácido láctico (AL): En las determinaciones de AL, no se encontró DES, en ninguno de los grupos de estudio. No se muestra en figuras las variaciones de los grupos.

Transaminasa glutámico oxaloacética (TGO): En las muestras séricas de la transaminasa glutámico oxaloacética, se observó una mayor elevación en el grupo II y IV al compararse con los grupos III y IV. Entre estos dos grupos no se encontraron DES (**Figura 5**).

Transaminasa glutámico pirúvica (TGP): Asimismo, en los valores séricos de la transaminasa glutámico pirúvica, se observó una mayor

Figura 3. Bilirrubina total.



elevación en el grupo II y IV al compararse con los grupos III y IV. Entre estos dos grupos no se encontraron DES (Figura 6).

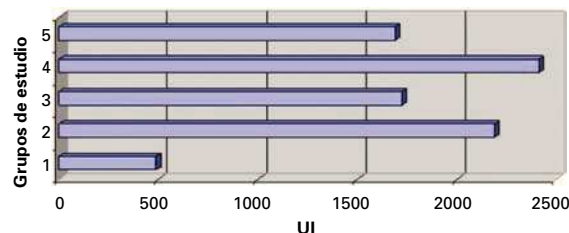
Los resultados de laboratorio de las determinaciones por grupo, corresponden al rango de parámetros normales para el grupo de animales de estudio.

Discusión

Se observó efecto protector de naloxona y piroxicam, durante el fenómeno de IRH, cuando fueron administrados conjuntamente, previo al evento isquémico y posterior a la fase de reperfusión en el modelo de isquemia caliente en rata. Se observó una mayor sobrevivencia de los animales en los grupos III, IV y V, que fueron tratados con estos fármacos comparados con el grupo experimental sometido únicamente a IRH sin aplicación de los fármacos como lo observado en el grupo II (Figura 1); así como una menor lesión histológica, con base en las variables estudiadas, como fueron el infiltrado inflamatorio, congestión y necrosis (Figura 2) y con los resultados obtenidos en las determinaciones séricas de deshidrogenasa láctica, y transaminasas, no se observó efecto en los valores de bilirrubinas y ácido láctico (Figuras 3 - 6).

El emplear piroxicam y naloxona en el presente trabajo, brindó un efecto protector al hígado; de estos fármacos, piroxicam pertenece a la familia de los AINE y su mecanismo de acción es primordialmente mediado por la regulación de las prostaglandinas, sintetizadas a partir del ácido araquidónico por la enzima prostaglandina H sintetasa o también

Figura 4. Deshidrogenasa láctica.



denominada ciclooxigenasa (COX).¹⁶ Se han identificado dos enzimas: COX-1 y la COX-2; este AINE tiene un efecto mayor sobre la COX-1, enzima que se caracteriza por la regulación del tracto gastrointestinal, especialmente en estómago, así como a nivel renal y plaquetas,¹⁷ mientras que la actividad de la COX-2 se manifiesta en la respuesta inflamatoria,¹⁸ se ha aislado en el hipocampo, en órganos genitales femeninos y se han empleado en el tratamiento de varios tipos de cáncer como de piel, tiroides, páncreas, colon, mama y pulmón,¹⁹⁻²³ así como su efecto en la carcinogénesis;^{20,24,25} por otro lado participa en la expresión genética como factor transcripcional.^{26,27}

Como parte fundamental en la línea de estudios de nuestro grupo, es identificar sustancias que se puedan emplear en soluciones de preservación de órganos, o idealmente aplicarlos en la práctica clínica previo al evento isquémico.²⁸ Como son las soluciones de preservación EuroCollins, de la Universidad de Winsconsin, HTK (histidine-tryptophan-ketoglutarate) y Celsior.²⁹⁻³²

En base en trabajos previos, el tiempo de isquemia de 60 minutos es adecuado para el presente modelo experimental, sin embargo 90 minutos parece ser el límite tolerable para recuperar la viabilidad del tejido hepático hipóxico, aunque se han planteado la posibilidad del pre-acondicionamiento hepático, con la finalidad de disminuir el grado de lesión y proporcionar un mayor tiempo total de isquemia, y menor daño histológico.^{33,34}

Previamente comentamos que durante la lesión por IRH se liberan especies reactivas de oxígeno por la activación de las CK en el hígado pos-isquémico,

Figura 5. Transaminasa glutámico oxalacética.

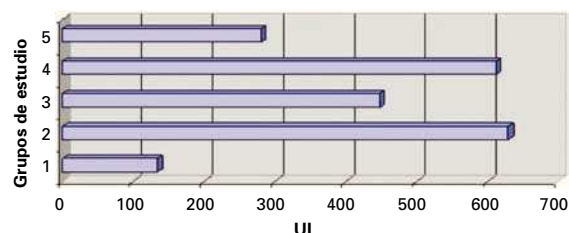
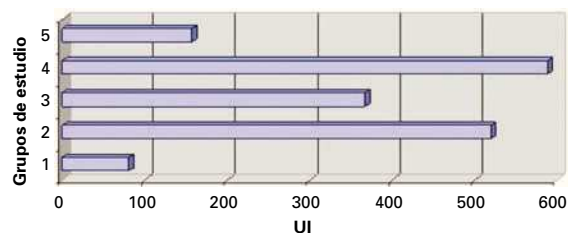


Figura 6. Transaminasa glutámico pirúvica.



estas ERO's pueden dañar el ADN, las proteínas o los lípidos celulares, mediante la carbonilación de las proteínas o lipoperoxidación lipídica.³⁵

Cuando el fenómeno de IRH total, se prolonga por más tiempo, el daño histológico puede ser irreversible, este efecto se disminuye al plantearse el modelo experimental de IRH parcial o segmentario, como el que empleamos en este trabajo, evitando la éxtasis esplácnica y translocación bacteriana intestinal.³⁶

Conclusión

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio experimental, el grupo V fue en el que se observó mejores resultados en sobrevida y las variables histopatológicas; se evidencia que los fármacos administrados, naloxona y piroxicam, proporcionan un efecto protector adicional durante la lesión por IRH, cuando se aplica antes de la isquemia y después de la reperfusión de manera simultánea. Es necesario, continuar trabajando en la realización de protocolos de investigación, para evaluar su posible aplicación clínica.

Agradecimientos

Al todo el personal médico y equipo técnico de la Unidad de Cirugía Experimental del Hospital General de México, en especial al Dr. Javier Rojero y Vallejo, a la Dra. Guadalupe Rojas Vargas, al Dr. Cuahatemoc Campos García Rojas y a la Enfermera Alicia Perez Jiménez por su valiosa ayuda a la realización de la fase quirúrgica del presente trabajo.

Referencias

1. Montalvo-Javé EE, Escalante-Tattersfield T, Ortega-Salgado JA, et al. Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 2008;147:153-9.
2. Kohli V, Selzner M, Madden JF, et al. Endothelial cell and hepatocyte deaths occur by apoptosis after ischemia-reperfusion injury in the rat liver. *Transplantation* 1999;67:1099-105.
3. Delmonico FL, Sheehy E, Marks WH, et al. Organ donation and utilization in the United States, 2004. *Am J Transplant* 2005;5:862-73.
4. Montalvo-Javé E, Villegas-Alvarez F, Montalvo-Arenas C, et al. Liver transplantation: Some advances in liver cancer, live liver donation, and cell transplantation. A literature review. *Rev Gastroenterol Mex* 2009;74:341-348.
5. Montalvo-Javé EE. Lesión por Isquemia Reperfusión y trauma hepático. *Trauma* 2008;11:92-100.
6. Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury: Present concepts. *J Gastroenterol Hepatol* 2011;26(Suppl1):173-9.
7. Jaeschke H. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;284:G15-26.
8. Teoh NC. Hepatic ischemia reperfusion injury: Contemporary perspectives on pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection-the good, bad and deadly. *J Gastroenterol Hepatol* 2011;26(Suppl1):180-7.
9. Olkkola KT, Brunetto AV, Mattila MJ. Pharmacokinetics of oxycam nonsteroidal anti-inflammatory agents. *Clin Pharmacokinet* 1994;26:107-20.
10. Hossain MA, Wakabayashi H, Izuishi K, et al. The role of prostaglandins in liver ischemia-reperfusion injury. *Curr Pharm Des* 2006;12:2935-51.
11. Gutiérrez Vega R, Toledo-Pereyra LH. Acute mesenteric small bowel ischemia in the rat I. Protective effect of naloxone. *Transplantation* 1990;49:830-3.
12. Benedict PE, Benedict MB, Su TP, Bolling SF. Opiate drugs and delta-receptor-mediated myocardial protection. *Circulation* 1999;100:11357-60.
13. Patel HH, Hsu A, Gross GJ. Attenuation of heat shock-induced cardioprotection by treatment with the opiate receptor antagonist naloxone. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;282:H2011-7.
14. Chen CJ, Liao SL, Chen WY, et al. Cerebral ischemia/reperfusion injury in rat brain: effects of naloxone. *Neuroreport* 2001;12:1245-9.
15. Gutiérrez-Vega R, LM, Alcantara VA, Amancio CO, et al. Prevention of the lesion due to hepatic ischemia-reperfusion in animals treated with piroxicam. *Rev Med Hosp Gen Mex* 1994;57:102-109.
16. Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, et al. Cyclooxygenase in biology and disease. *Faseb J* 1998;12:1063-73.
17. Morham SG, Langenbach R, Loftin CD, et al. Prostaglandin synthase 2 gene disruption causes severe renal pathology in the mouse. *Cell* 1995;83:473-82.
18. Simmons DL, Botting RM, Hla T. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol Rev* 2004;56:387-437.
19. Klass CM, Shin DM. Current status and future perspectives of chemoprevention in head and neck cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2007;7:623-32.
20. Rostom A, Dube C, Lewin G, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase-2 inhibitors for primary prevention of colorectal cancer: a systematic review prepared for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2007;146:376-89.
21. Cha YI, DuBois RN. NSAIDs and cancer prevention: targets downstream of COX-2. *Annu Rev Med* 2007;58:239-52.

22. Ghosh N, Chaki R, Mandal V, Mandal SC. COX-2 as a target for cancer chemotherapy. *Pharmacol Rep* 2010;62:233-44.
23. Stan SD, Singh SV, Brand RE. Chemoprevention strategies for pancreatic cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010;7:347-56.
24. Khatami M. Inflammation, aging, and cancer: tumoricidal versus tumorigenesis of immunity: a common denominator mapping chronic diseases. *Cell Biochem Biophys* 2009;55:55-79.
25. Rothwell PM, Fowkes FG, Belch JF, et al. Effect of daily aspirin on long-term risk of death due to cancer: analysis of individual patient data from randomised trials. *Lancet* 2010;377:31-41.
26. Wang D, Mann JR, DuBois RN. The role of prostaglandins and other eicosanoids in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 2005;128:1445-61.
27. Khabar KS. Post-transcriptional control during chronic inflammation and cancer: a focus on AU-rich elements. *Cell Mol Life Sci* 2010;67:2937-55.
28. Maathuis MH, Leuvenink HG, Ploeg RJ. Perspectives in organ preservation. *Transplantation* 2007;83:1289-98.
29. Fridell JA, Mangus RS, Tector AJ. Clinical experience with histidine-tryptophan-ketoglutarate solution in abdominal organ preservation: a review of recent literature. *Clin Transplant* 2009;23:305-12.
30. Feng L, Zhao N, Yao X, et al. Histidine-tryptophan-ketoglutarate solution vs. University of Wisconsin solution for liver transplantation: a systematic review. *Liver Transpl* 2007;13:1125-36.
31. Wilson CH, Brook NR, Talbot D. Preservation solutions for solid organ transplantation. *Mini Rev Med Chem* 2006;6:1081-90.
32. Garcia-Gil FA, Arenas J, Guemes A, et al. Preservation of the liver graft with Celsior solution. *Transplant Proc* 2006;38:2385-8.
33. Montalvo-Jave EE, Pina E, Montalvo-Arenas C, et al. Role of Ischemic Preconditioning in Liver Surgery and Hepatic Transplantation. *J Gastrointest Surg* 2009;13:2074-83.
34. Franchello A, Gilbo N, David E, et al. Ischemic preconditioning (IP) of the liver as a safe and protective technique against ischemia/reperfusion injury (IRI). *Am J Transplant* 2009;9:1629-39.
35. Montalvo-Jave EE, Ortega-Salgado JA, Castell A, et al. Piroxicam and meloxicam ameliorate hepatic oxidative stress and protein carbonylation in Kupffer and sinusoidal endothelial cells promoted by ischemia-reperfusion injury. *Transpl Int* 2011;24:489-500.
36. Gutierrez-Vega R, LO, Amancio CO, Montalvo-Javé E, et al. Efecto protector de Naloxona y Piroxicam durante la lesión por isquemia-reperfusión en el intestino delgado. *Rev Med Hosp Gen Mex* 1994;57:60-67.