

Proteínas de choque térmico en el estrés quirúrgico: toracotomía frente a herniorrafia

María Concepción Guisasola^a, Rafael Ramos^b, Lorenzo Fernández-Quero^b, Antonio Suárez^a y Pedro García-Barreno^a

^aLaboratorio de Biología Celular. Unidad de Medicina y Cirugía Experimental. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

^bServicio de Anestesia y Reanimación. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.

Resumen

Introducción. El estrés quirúrgico y anestésico libera citocinas y especies reactivas de oxígeno capaces de inducir la síntesis de las proteínas de choque térmico (HSP), proteínas con propiedades inmunomoduladoras y potentes autoantígenos. Se pretende estudiar la biología de las HSP70 intraleucocitarias y la posible respuesta autoinmunitaria desencadenada por 2 tipos diferentes de agresión quirúrgica.

Pacientes y método. Grupo I: grupo control con 3 pacientes. Grupo II: grupo de toracotomía, cirugía radical y anestesia general, con 6 pacientes. Grupo III: grupo de cirugía poco radical, herniorrafia y raqui-anestesia, con 4 pacientes. Se analizaron HSP70 intraleucocitarias y anticuerpos anti-HSP70i, antes (T0) y 24 h después de la intervención (T1).

Resultados. El 50% de los pacientes expuestos a toracotomía presentó un significativo descenso del contenido de HSP intracelulares en el postoperatorio, simultáneo al incremento de los valores de autoanticuerpos anti-HSP70i. El grupo de pacientes expuestos a herniorrafia con anestesia locorregional no desarrolló respuesta autoinmunitaria.

Conclusiones. En el limitado número de pacientes estudiados, la enfermedad neoplásica y la mayor agresividad de la toracotomía parecen asociarse con una reducción de las HSP en comparación con lo que sucede en los pacientes más sanos a los que se les realizó una herniorrafia. La disminución de las HSP fue simultánea a la presencia de autoanticuerpos circulantes. No se observó relación entre el estado inmunitario previo y la respuesta autoinmunitaria en el postoperatorio inmediato.

Palabras clave: Cirugía. Anestesia. Estrés. Proteínas de

choque térmico. Leucocitos polimorfonucleares neutrófilos. Autoinmunidad.

HEAT SHOCK PROTEINS IN SURGICAL STRESS: THORACOTOMY VS HERNIORRHAPHY

Introduction. Surgical and anesthetic stresses release cytokines and reactive oxygen species, able to induce the synthesis of heat shock proteins (HSPs). HSPs are immunomodulating molecules and harmful autoantigens. We aimed to study the biology of intracellular HSPs70 and the possible autoimmune response triggered by two different types of surgical stress.

Patients and method. Group I: control (n = 3). Group II: thoracotomy, aggressive surgery and general anesthesia (n = 6). Group III: herniorrhaphy and spinal anesthesia (n = 4). Intraleukocyte HSP70s and autoimmune response were analyzed before (T0) and 24h after surgery (T1).

Results. Fifty percent of the patients who underwent thoracotomy showed a significant decrease in intracellular HSPs, simultaneously with raised levels of antiHSP70i autoantibodies in the early postoperative period. Patients who underwent herniorrhaphy with local anesthesia did not develop autoimmunity.

Conclusions. In the limited number of patients studied, neoplastic disease and the greater aggressiveness of thoracotomy seem to be associated with a reduction of HSPs, unlike healthy patients who underwent herniorrhaphy. An intracellular decrease in HSPs was simultaneous to the onset of circulating autoantibodies. No relationship was found between the prior immune status of the patient and autoimmune response in the immediate postoperative period.

Key words: Surgery. Anesthesia. Stress. Heat shock proteins. Polymorphonuclear neutrophilic leukocytes. Autoimmunity.

Este trabajo ha sido financiado en parte con una ayuda FIS 0013/01.

Correspondencia: Dra. M.C. Guisasola.
Unidad de Medicina y Cirugía Experimental. Hospital General Universitario Gregorio Marañón.
Doctor Esquerdo, 46. 28007 Madrid. España.
Correo electrónico: hsp@mce.hggm.es

Manuscrito recibido el 3-10-2003 y aceptado el 14-01-2004.

Introducción

Todas las células eucariotas y procariotas reaccionan frente a la hipertermia o ante cualquier otro estímulo que suponga un estrés para la célula, activando los genes que codifican un grupo de proteínas inducidas por

el estrés. Las proteínas de choque térmico¹ (*heat shock proteins* [HSP]) constituyen el grupo de las proteínas de estrés más estudiadas. La célula activa, como consecuencia del estrés, la denominada respuesta de choque térmico (*heat shock response* [HSR]); ello supone un incremento en la síntesis de distintos miembros de las familias HSP. El nivel de expresión de sus genes –*hsps*– es directamente proporcional a la intensidad del estímulo inductor de la HSR. Las HSP desempeñan un importante papel, no sólo en los procesos de citoprotección frente a los efectos lesivos de distintos agresores, sino también en la reparación celular y tisular. El cáncer, la isquemia-reperfusión, los procesos febriles o la infección inducen un incremento en los valores de síntesis y de expresión de las HSP²⁻⁷. Las HSP también están involucradas en los procesos de protección frente al estrés oxidativo originado por muy distintas causas, como la radiación ultravioleta (UV), las citocinas proinflamatorias (factor de necrosis tumoral alfa [TNF- α], interleucina 1 [IL-1], interleucina 6 [IL-6]) o situaciones que supongan un déficit en los sistemas antioxidantes. Así ocurre en los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos (PMN): durante los procesos inflamatorios se induce la masiva producción de radicales libres de oxígeno (RLO), que estimulan la síntesis de HSP⁸⁻¹⁰. Los agentes capaces de inducir la HSR pueden clasificarse en 3 grandes grupos⁸: medioambientales (hipertermia, análogos de aminoácidos, metales de transición, inhibidores del metabolismo energético o quimioterápicos), fisiopatológicos (fiebre, inflamación, estrés oxidativo, isquemia, cáncer, infección) y fisiológicos (ciclo celular, factores de crecimiento, desarrollo y diferenciación celulares). La superfamilia de las HSP agrupa a una serie de familias que se clasifican de acuerdo con sus pesos moleculares (proteínas de alto, de medio y de bajo peso molecular), siendo la familia HSP70 la más común y la más abundante de las caperonas moleculares. Los genes que codifican la familia HSP70 son genes muy conservados evolutivamente¹¹. Las distintas isoformas que constituyen la familia HSP70 difieren en sus valores basales de expresión e inducción: algunos de sus miembros se producen de manera constitutiva (HSP73 o HSP70c) y otros son inducidas por estrés, como ocurre con la HSP72 o HSP70i. El papel citoprotector de las HSP, y en particular de la HSP70i, permite considerar su uso potencial como biomarcador diagnóstico de daño celular, preludio de un sugerente potencial terapéutico de la HSR, sobre todo para controlar y prevenir complejas enfermedades multifactoriales. La respuesta inmunológica representa un caso particular en el contexto de las HSP¹². El reconocimiento de las células estresadas por el sistema inmunitario puede realizarse por 2 mecanismos: a) presentación de péptidos procesados de las HSP en la superficie celular mediante moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (*major histocompatibility complex* [MHC]), que permite su reconocimiento mediante células T α/β CD4 (reconocen péptidos presentados por moléculas MHC II), o CD8 (reconocen péptidos presentados por moléculas MHC I), y b) expresión superficial de las propias HSP, que permite su reconocimiento por anticuerpos (*antibodies*

[Abs]) y, quizá, por algunas células T γ/δ (reconocen autoestructuras específicas)¹³.

Los PMN pertenecen a la primera línea de reconocimiento y de defensa ante agresiones externas, y pueden ser considerados como eficaces biosensores. Conceptuados en un principio sin posibilidad de diferenciación y con una deficiente capacidad para la síntesis proteínica¹⁴, se ha demostrado que los PMN, circulantes y tisulares, poseen capacidad biosintética selectiva, tanto de ARNm como de proteínas: sintetizan HSP cuando son incubados a temperaturas superiores a la fisiológica: la hipertermia induce la síntesis de, al menos, HSP70i¹⁵; la activación de genes *hsps* en PMN ante la hipertermia y otros agentes lesivos demuestra la importancia de este sistema en el reconocimiento de la agresión, el mantenimiento de la homeostasis y la supervivencia celular^{16,17}.

La agresión quirúrgica es una situación de estrés importante para el organismo que desencadena una respuesta tendente a restablecer la hemostasia: se producen cambios endocrinos, metabólicos e inmunológicos¹⁸. Las diferentes técnicas anestésicas modulan la respuesta al estrés: en las técnicas con bloqueo de la transmisión nerviosa (anestesia locorregional) se interrumpe la conexión neuroinmunoendocrina y no hay inhibición cortical cerebral; en la anestesia general se silencia la actividad cortical, pero sigue siendo operativa la conexión señalada¹⁹.

Se hipotetiza que durante el estrés quirúrgico se produce la liberación de RLO²⁰; esto activa la HSR, que conduce a un aumento del contenido de HSP proporcional a la intensidad del estímulo. La liberación de HSP a la circulación estaría involucrada en una activación de la inmunidad innata mediada por HSP²¹. De acuerdo con ello, el primer objetivo fue estudiar la respuesta de las HSPs70 intraleucocitarias en las primeras 24 h tras 2 situaciones quirúrgicas de distinta gravedad: a) la toracotomía (cirugía radical con anestesia general, pacientes enfermos y sucesos intraoperatorios varios: manipulación de tejido pulmonar, pinzamiento vascular, etc.), y b) cirugía de herniorrafia (pacientes sanos y con bloqueo total de las aferencias nociceptivas). El segundo objetivo fue el estudio de una posible respuesta autoinmunitaria anti-HSP como consecuencia de la dispar agresión quirúrgica.

Pacientes y método

Se incluyó a 10 pacientes varones ingresados en los Departamentos de Cirugía y de Anestesia y Reanimación del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid. Tres donantes voluntarios sanos proporcionaron los valores de referencia. El estudio fue aprobado por el Comité Ético de la Investigación Clínica del Hospital, y todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito. Los pacientes y voluntarios fueron asignados a uno de los siguientes grupos: grupo I, donantes voluntarios sanos (n = 3); grupo II, pacientes del servicio de cirugía torácica sometidos a toracotomía para la realización de una lobectomía por carcinoma de pulmón (T1N0M0) bajo anestesia general (n = 6); grupo III: pacientes ingresados en el servicio de cirugía general y sometidos a una herniorrafia inguinal con anestesia regional (n = 4). En todos los pacientes se realizó una historia clínica, una exploración física, un hemograma y una bioquímica. Se extrajeron simultáneamente 5 ml de sangre no heparinizada para la obtención de suero, y 20 ml de sangre anticoagulada para el aislamiento de PMN. Las muestras de sangre se obtuvieron de forma seriada: tiempo 0 (T0), 1 h antes del inicio de la intervención; tiempo 1 (T1), 24 h después de concluir la

cirugía. A todos los pacientes expuestos a toracotomía se les administró analgesia mediante catéter paravertebral. Los pacientes intervenidos de herniorrafia recibieron analgesia mediante antiinflamatorios no esteroideos (AINE) por vía intravenosa en las primeras 6 h del postoperatorio, y posteriormente por vía oral. La reposición de fluidos se realizó según el protocolo del servicio de anestesia y reanimación.

Aislamiento de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos

Por gradiente: en tubos de centrifuga estériles (NUNC) se añaden 3,5 ml de Polymorphprep (NYCOMED) y 5 ml de sangre, y se centrifugan a 450-500 g durante 30 min a temperatura ambiente. La banda correspondiente a los PMN es la inferior; se recoge y se deposita sobre una solución tamponada de fosfatos PBS (17,11 mmol/l de NaCl; 0,335 mmol/l de KCl; 0,44 mmol/l de KH_2PO_4 ; 1,016 mmol/l de Na_2HPO_4), y se vuelve a centrifugar a 400 g durante 5 min. El precipitado con los PMN se resuspende en 100 μl de tampón de sis RIPA suplementado con inhibidores de proteasas y fosfatasa: PMSF, 1 mmol/l; ortovanadato sódico, 1 mmol/l; leupeptina, 10 $\mu\text{g/ml}$; aprotinina, 10 $\mu\text{g/ml}$, y pepstatina 10 $\mu\text{g/ml}$. Los lisados celulares se homogeneizan mediante 40 pases de homogeneizador Kontes y se centrifugan a 12.000 g durante 15 min a 4 °C. Se recoge el sobrenadante y se guarda a -70 °C hasta su posterior procesamiento.

Valoración del contenido en proteínas de los lisados celulares

Se realizó según el método de microanálisis de Lowry mediante la utilización del equipo para valoración de proteínas BIORAD frente a una curva-patrón de albúmina (0-10 $\mu\text{g/ml}$).

Electroforesis en gel de poliácridamida en condiciones desnaturizantes (PAGE-SDS)

Una alícuota idéntica de todas las muestras (50 μg) se desnaturaliza mediante la adición de tampón de muestra²² (2% SDS, 10% glicerol, 62,5 mmol/l tris HCl; pH 6,8; 0,01% azul de bromofenol, 5% 2-mercaptoetanol), se hierven durante 5 min y se centrifugan a 600 g. Las muestras se separan mediante electroforesis en geles de poliácridamida al 10% en condiciones desnaturizantes. Una vez finalizada, se transfieren a membranas de PVDF (INMOBILON, MILLIPORE).

Immunoblotting

Para la identificación de HSP intracelulares, las membranas de PVDF se tratan según el siguiente protocolo: se bloquean las uniones inespecíficas por incubación con leche en polvo desnatada 3% (p/v) en PBS-tween 20 (BIO-RAD, 0,05% (v/v)). Se lavan 3 veces con PBS-tween 20 0,05% (v/v) y posteriormente se incuban con Abs monoclonales (STRESSGEN, SPA 815 -HSP70C-, SPA 810 -HSP70I-) diluidos 1:1000 en 0,05% PBS-tween 20 (v/v)-0,5% BSA (p/v). Se lavan 3 veces y se incuban con un segundo Ab anti-IgG de ratón conjugado con biotina (AMERSHAM). La señal se amplifica mediante incubación con HRP (*horseradish peroxidase streptavidin*) (AMERSHAM). Se revelan con 4-cloro-1-naphtol (SIGMA) como sustrato. La identificación de las proteínas en estudio se completó por su peso molecular, tomando como referencia las bandas coloreadas de los patrones, que se corren paralelos a las muestras (*Rainbow Markers* AMERSHAM).

Análisis cuantitativo de bandas immunoblot

Las imágenes de las bandas son digitalizadas con un escáner SCANJET-II CX (Hewlett-Packard) y procesadas mediante software Scil-Image. El gris total de las muestras problema se normaliza a la media de los grises de las muestras control.

Valoración de anticuerpos anti-HSP70i

En una placa de microtitación de 96 pocillos se depositan 25 ng de HSP70i recombinante humana (Stressgen) en un volumen final de 100 μl . Se incuba toda la noche a 4 °C y posteriormente se bloquea con PBS-0,5% Tween 20-1% BSA durante 1 h a temperatura ambiente. Se lava 3 veces con PBS 0,5% Tween 20 y se añaden 100 μl de suero problema diluido 1:100 por triplicado a los pocillos con el antígeno adherido. Se incuba 1 h y se lava nuevamente (3 veces). Finalmente, se añaden 100 μl de anticuerpo IgG antihumano ligado a peroxidasa (SIGMA) a una dilución 1:500, en PBS 0,5% Tween 20, y se procede a revelado con 100 μl de ATBS (tampón citrato-fosfato 100 mmol/l pH 4,4, 2-2' Azino Bis [SIGMA] y 0,003% de H_2O_2). Se lee a una longitud de onda de 405 nm en un lector de microplacas (BIO-RAD). Los resultados se expresan como el cociente de la absorbancia de la muestra problema y la media de la absorbancia de 3 sueros control más 2 desviaciones estándar (*cut off*): ELISA *ratio*.

Estudio estadístico

Todos los experimentos se hicieron al menos por duplicado. Los resultados se expresaron como media \pm error estándar de la media (SEM) y se compararon mediante el test de la t de Student para datos apareados. Se aceptó una significación estadística cuando $p < 0,05$. Se utilizó el paquete estadístico SPSS 8.0 para Windows.

Resultados

La diferencia de edades entre los 3 grupos no resultó estadísticamente significativa: grupo I, $51 \pm 6,02$ años; grupo II, $57,75 \pm 7,39$ años, y grupo III, $56,83 \pm 6,5$ años.

Globalmente, el grupo II presenta una marcada reducción prequirúrgica en la concentración intraleucocitaria de HSP70 con respecto al grupo control, reducción que se acentúa a las 24 h de ésta. El 50% de los pacientes presentó valores de HSP70i prácticamente indetectables en el postoperatorio inmediato (T1). Estos 3 pacientes tenían enfermedades asociadas que podían afectar a su respuesta inmunitaria (tuberculosis pulmonar, colitis ulcerosa y tratamiento esteroideo por enfermedad pulmonar obstructiva crónica [EPOC], respectivamente). Uno de ellos, con valores muy bajos antes de la intervención, presentó múltiples complicaciones posquirúrgicas: atelectasia del pulmón izquierdo con grave insuficiencia respiratoria y tromboembolia pulmonar, que requirió ventilación asistida durante 3 semanas. En el caso de HSP70c, el comportamiento fue similar, aunque menos acusado. En todos los casos, el contenido de HSP70 intracelulares fue inverso a los valores de anticuerpos circulantes: a menor contenido de proteína, mayores valores de autoanticuerpos (fig. 1).

El GIII mostró un contenido en HSP70 intraleucocitario similar al de la población control, con una reducción de HSP70c a las 24 h de la intervención, sin diferencias significativas en los valores de autoanticuerpos anti-HSP70i en los tiempos analizados. En uno de los pacientes, el único con posible compromiso previo de la inmunidad por alcoholismo, se comprobó la ausencia de HSP70i tras la intervención, que fue simultánea al incremento de los valores de anticuerpos en las 24 h de postoperatorio (fig. 2).

El estudio comparativo de los grupos expuestos a diferentes grados de estrés anestésico y quirúrgico mostró un contenido en HSP70 intragranulocitario en T0 y T1 marca-

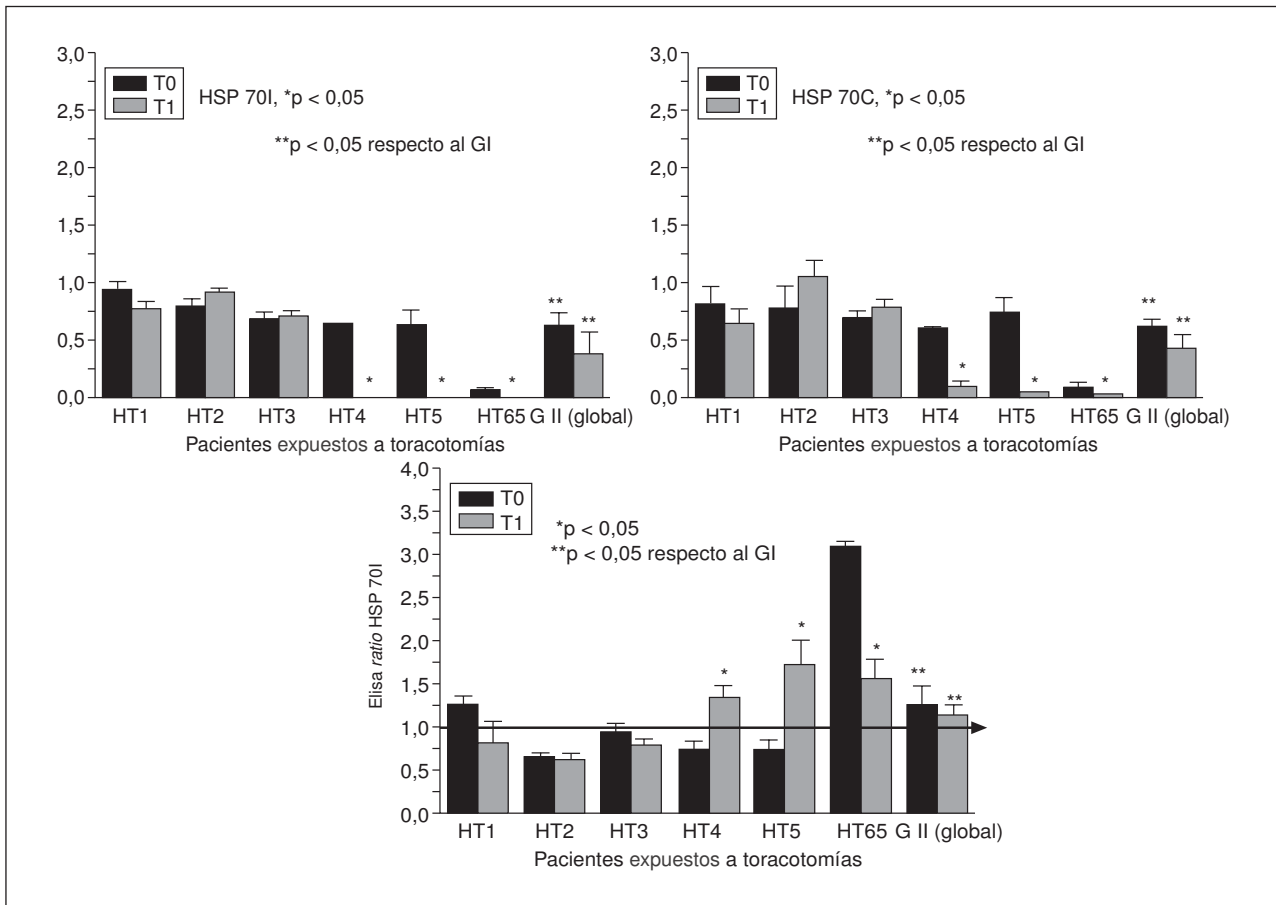


Fig. 1. Valores de HSP70 intraleucocitarios en pacientes expuestos a toracotomía con anestesia general (grupo II), antes (T0) y 24 h después de la intervención (T1). Las bandas de los inmunoblot (gráficas superiores) se analizaron por densitometrado y los resultados fueron normalizados a la media de grises del grupo I. Los resultados se expresan como media \pm error estándar de la media y se compararon mediante el test de la t de Student para datos apareados mediante el programa SPSS versión 8.0. Se estableció la significación estadística para un valor de $p < 0,05$. En la gráfica inferior se observa la valoración de anticuerpos anti-HSP70i por ELISA: los resultados se expresan como ELISA ratio —cociente de la absorbancia de la muestra problema y la media de la absorbancia de 3 sueros control más 2 desviaciones estándar— (cut off). En cada gráfica, a la izquierda, se exponen los resultados individualizados; a la derecha, los resultados globales del grupo.

* $p < 0,05$, test de la t de Student para datos apareados antes y después de la intervención.

** $p < 0,05$, test de la t de Student para datos apareados entre los grupos II y I, control.

damente inferior en el grupo II con respecto al grupo III y a los valores de referencia, y paralelo a los títulos más elevados de autoanticuerpos séricos anti-HSP70i. Dado el limitado tamaño de la muestra, los resultados no se han sometido a tratamiento estadístico, debido a su baja potencia. Estos datos preliminares plantean como objetivo más inmediato el aumento del tamaño muestral, a fin de poder comparar globalmente la respuesta de HSP70 en 2 situaciones quirúrgicas muy distintas, toracotomía y herniorrafia, mediante análisis de la varianza.

Discusión

Las HSP se han identificado en todos los tipos celulares y tejidos, en condiciones estresantes y no estresantes; está ampliamente demostrado que el estrés ambiental y patológico, y concretamente la isquemia, la

inflamación y la producción de especies reactivas de oxígeno, inducen la síntesis de HSP, especialmente de la HSP72²³. El grado de inducción depende de la intensidad y la duración de la exposición al estrés. El incremento es transitorio, pero el tiempo que permanece depende de cada estirpe celular²⁴. En este estudio se ha observado una reducción global en los valores intraleucocitarios de HSP70 en los pacientes del grupo con la enfermedad más grave, y una reducción drástica en el postoperatorio inmediato de algunos de esos pacientes. Esto podría explicarse, en primer lugar, porque se han descrito alteraciones en los valores intracelulares de HSP en pacientes con tumores que incluso podrían considerarse biomarcadores útiles en el diagnóstico y pronóstico del cáncer^{25,26}, porque la presencia constitutiva de HSP condiciona *in vitro* el porcentaje de inducción tras estrés²⁷ o por posibles polimorfismos de la región reguladora del gen *hsp70i* y de su producto de traducción, que condicionarían la dife-

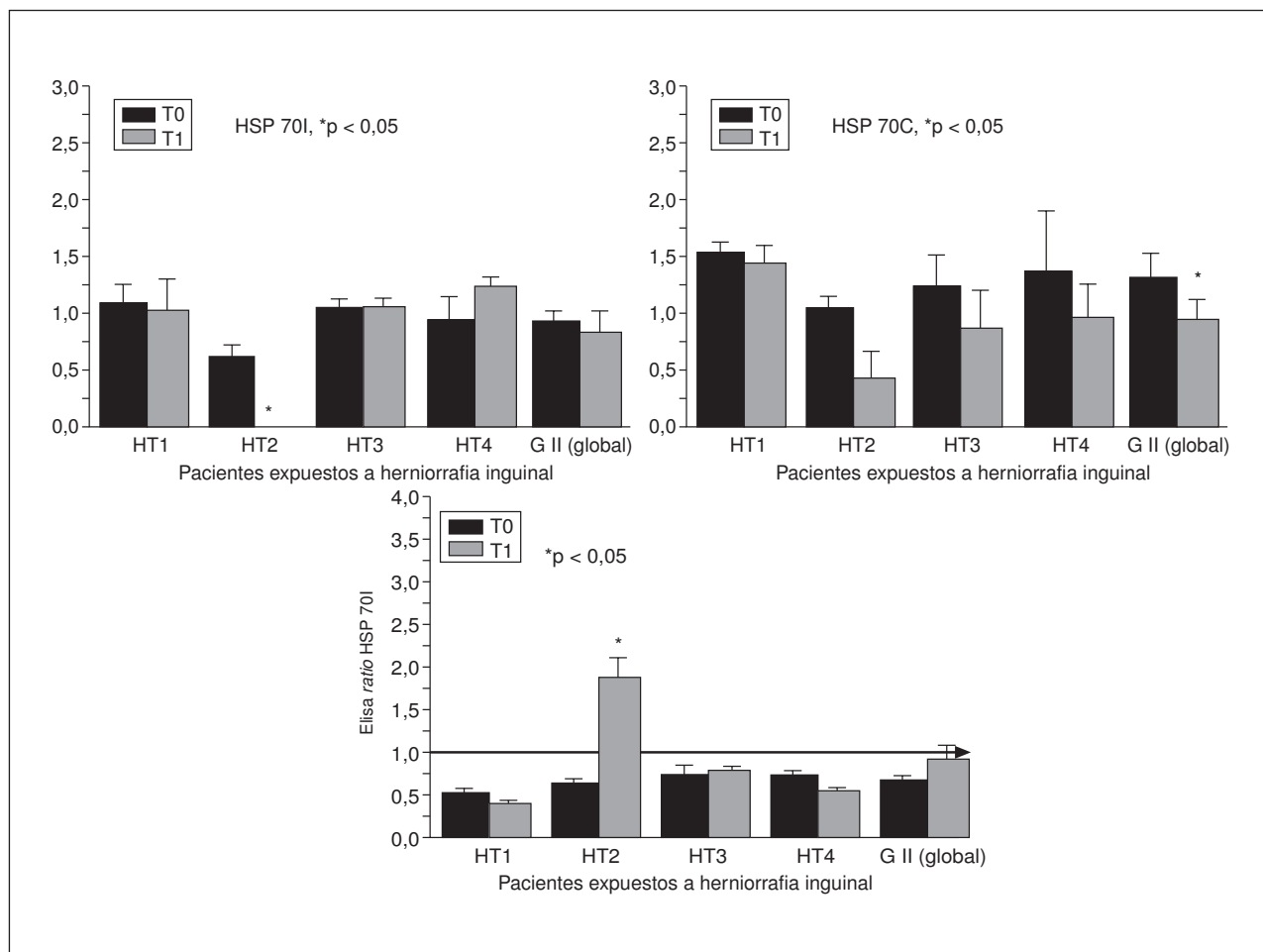


Fig. 2. Valores de HSP70 intraleucocitarios en pacientes expuestos a herniorrafia inguinal y raquianestesia (grupo III), antes (T0) y 24 h después de la intervención (T1). Las bandas de los inmunoblot (gráficas superiores) se analizaron por densitometrado y los resultados fueron normalizados a la media de grises del grupo I. Los resultados se expresan como media \pm error estándar de la media y se compararon mediante el test de la t de Student para datos apareados mediante el programa SPSS versión 8.0. Se estableció la significación estadística para un valor de $p < 0,05$. En la gráfica inferior se observa la valoración de anticuerpos anti-HSP70i por ELISA: los resultados se expresan como ELISA –ratio cociente de la absorbancia de la muestra problema y la media de la absorbancia de 3 sueros control más 2 desviaciones estándar– (cut off). En cada gráfica, a la izquierda, se exponen los resultados individualizados; a la derecha, los resultados globales del grupo.

* $p < 0,05$, test de la t de Student para datos apareados antes y después de la intervención.

rente expresión y capacidad de inducción de HSP y la susceptibilidad individual a la enfermedad²⁸. En segundo lugar, la inflamación es un agente inductor de HSP, especialmente de la HSP72¹²; el grado de inducción depende de la intensidad, la duración de la exposición al estresor y la estirpe celular. Por último, es posible que la agresión anestésicoquirúrgica, intensa y prolongada, desencadene una rápida respuesta de estrés e induzca la síntesis inmediata de grandes cantidades de HSP70: el gen *hsp70* carece de intrones, lo que sugiere su involucración en la respuesta inmediata. Cuando las células alcanzan una concentración crítica de HSP70, probablemente un exceso de HSP70 sobre la cantidad de proteínas desnaturizadas, la caperona se une a los factores de transcripción de choque térmico (HSF) y bloquea la expresión del gen²⁹. La disminución postoperatoria puede ser también consecuencia de un excesivo consumo; esto es debido a que en los PMN, las HSP participan en la neutrali-

zación de las especies reactivas de oxígeno que se producen como consecuencia del estrés quirúrgico y anestésico²⁰.

La respuesta autoinmunitaria anti-HSP70i fue paralela a la disminución de HSP intracelulares, a pesar de evidenciarse en los pacientes que podían tener comprometida su respuesta inmunitaria por enfermedades asociadas. Las HSP son moléculas inmunodominantes, con un papel importante en fenómenos de autoinmunidad que actúan como potentes autoantígenos¹³ y moléculas candidatas a explicar el potencial inflamatorio de las células lesionadas: los tejidos lesionados liberarían señales de peligro (p. ej., HSP) que, reconocidas por las células presentadoras de antígenos, iniciarían una respuesta inmunitaria innata³⁰. El grupo de pacientes sometido a herniorrafia inguinal y, por tanto, con bloqueo de la respuesta neuroinmunoendocrina, mantuvo valores de anticuerpos anti-HSP70i estables antes y después de la intervención

quirúrgica. Sólo un paciente de este grupo, sin complicaciones en el postoperatorio, tuvo un comportamiento distintivo.

Se puede concluir, por tanto: a) que los pacientes con la enfermedad más grave ya presentaban constitutivamente un menor contenido en HSP, probablemente por la naturaleza neoplásica de su enfermedad; b) que, en contra de la hipótesis de partida, cuanto más radical es la cirugía, mayor reducción de HSP se produce en algunos pacientes, probablemente por la activación inmediata y masiva del sistema y su posterior agotamiento, a diferencia de lo observado en los pacientes expuestos a herniorrafia que, en general, mantuvieron valores estables (a pesar de una disparidad individual, quizá en relación con un particular polimorfismo-HSP70i); c) la disminución intracelular de HSP es simultánea a la presencia de autoanticuerpos circulantes, lo que corrobora la posible activación de la inmunidad innata mediada por HSPs, y d) el estado inmunitario previo del paciente no condiciona la respuesta autoinmunitaria en el postoperatorio inmediato.

La brevedad de la muestra, 10 pacientes, no permite extraer conclusiones definitivas y obliga a continuar el estudio a fin de establecer la eficacia de las HSP como biomarcadores de agresión tisular y desencadenantes de una respuesta autoinmunitaria, posiblemente involucrada en la evolución postoperatoria. Uno de los objetivos finales de este estudio sería intentar conocer de forma precisa la biología de este tipo de proteínas para buscar posibles protocolos de manipulación farmacológica, con un doble objetivo: la hiperexpresión del sistema³¹ o bien el bloqueo de su función³².

Agradecimiento

A María Jesús Sánchez, por su colaboración técnica.

Bibliografía

- Lindquist, S The heat-shock response. *Annu Rev Biochem* 1986;55:1151-91.
- Fuller KJ, Issels RD, Slosman DO, Guillet JG, Soussi T, Polla BS. Cancer and the heat shock response. *Eur J Cancer* 1994;30A:1884-91.
- Wallin RPA, Lindquist A, Moré SH, Bonin A, Kiessling R, Ljunggren H-G. Heat-shock proteins as activators of the innate immune system. *Trends Immunol* 2002;23:130-5.
- Xu Q. Role of heat shock proteins in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1547-59.
- Pockley AG. Heat shock proteins, inflammation, and cardiovascular disease. *Circulation* 2002;105:1012-7.
- Kitamura Y, Nomura Y. Stress proteins and glial functions: possible therapeutic targets for neurodegenerative disorders. *Pharmacol Ther* 2003;97:35-53.
- Polla BS, Bachelet M, Elia G, Santoro MG. Stress proteins in inflammation. *Ann NY Acad Sci* 1998;851:75-85.
- Morimoto RI, Kroeger PE, Cotto JJ. The transcriptional regulation of heat shock genes: a plethora of heat shock factors and regulatory conditions. En: Feige U, Morimoto RI, Yahara I, Polla BS, editors. *Stress-inducible cellular responses*. Basel: Birkhäuser Verlag, 1996; p. 139-63.
- Voellmy R. Sensing stress and responding to stress. En: Feige U, Morimoto RI, Yahara I, Polla BS, editors. *Stress-inducible cellular responses*. Basel: Birkhäuser Verlag, 1996; p. 121-37.
- Witko-Sarsta V, Rieu P, Descamps-Latscha B, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L. Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. *Lab Invest* 2000;80:617-52.
- Silver PA, Way JC. Eukaryotic DNA J homologs and the specificity of HSP70 activity. *Cell* 1993;74:5-6.
- Feige U, Van Eden W. Infection, autoimmunity and autoimmune disease. En: U Feige, RI Morimoto, I Yahara, BS Polla, editors. *Stress-inducible cellular responses*. Basel: Birkhäuser Verlag, 1996; p. 359-73.
- Pockley AG. Heat shock proteins as regulators of the immune response. *Lancet* 2003;362:469-76.
- Jack RM, Fearon DT. Selective synthesis of mRNA and proteins by human peripheral blood neutrophils. *Immunol J* 1988;140:4286-93.
- Eid NS, Kravath RE, Lanks KW. Heat-shock protein synthesis by human polymorphonuclear cells. *J Exp Med* 1987;165:1448-52.
- Hashiguchi N, Ogura H, Tanaka H, Koh T, Aoki M, Shiozaki T, et al. Enhanced expression of heat shock proteins in leukocytes from trauma patients. *J Trauma* 2001;50:102-7.
- Hashiguchi N, Ogura H, Tanaka H, Koh T, Nakamori Y, Noborio M, et al. Enhanced expression of heat shock proteins in activated polymorphonuclear leukocytes in patients with sepsis. *J Trauma* 2001;50:1104-9.
- Udelsman R, Blake MJ, Hoolbrooke MJ. Molecular response to surgical stress: specific and simultaneous heat shock protein induction in the adrenal cortex, aorta, and vena cava. *Surgery* 1991;110:1125-31.
- Moraca RJ, Sheldon DG, Thirlby RC. The role of epidural anesthesia and analgesia in surgical practice. *Ann Surg* 2003;238:663-73.
- Polat C, Kahraman A, Yilmaz S, Koken T, Serteser M, Akbulut G, et al. A comparison of oxidative stress response and capacity of open and laparoscopic hernia repairs. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2003;13:167-73.
- Dybdahl B, Wahba A, Lien E, Flo TH, Waage A, Qureshi N, et al. Inflammatory response after open heart surgery. Release of Heat-Shock protein 70 and signalling through toll-like receptor-4. *Circulation* 2002;105:685-90.
- Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4. *Nature* 1970;227:680-5.
- Kiang JG, Tsokos GC. Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry, and physiology. *Pharmacol Ther* 1998;80:183-201.
- Kiang JG, Carr FE, Burns MR, McClain DE. HSP-72 synthesis is promoted by increase in $[Ca^{2+}]$ or activation of G proteins or cAMP. *Am J Physiol* 1994;267:C104-14.
- Cornford PA, Dodson AR, Parsons KF, Desmond AD, Woolfenden A, Fordham M, et al. Heat shock protein expression independently predicts clinical outcome in prostate cancer. *Cancer Res* 2000;60:7099-105.
- Geisler JP, Geisler HE, Tammela J, Wiemann MC, Zhou Z, Miller GA, et al. Heat shock protein 27: an independent prognostic indicator of survival in patients with epithelial ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 1998;69:14-6.
- Boshoff T, Lombard F, Eiselen R, Bornman JJ, Bachelet M, Polla BS, et al. Differential basal synthesis of HSP70/Hsc70 contributes to interindividual variation in HSP70/HSP70c inducibility. *Cell Mol Life Sci* 2000;57:1317-25.
- Favatiere F, Bornaman L, Hightower LE, Günther E, Polla B. Variation in hsp gene expression and HSP polymorphism: do they contribute to differential disease susceptibility and stress tolerance? *Cell Stress & Chaperone* 1997;2:141-55.
- De Maio A. Heat shock proteins: facts, thoughts, and dreams. *Shock* 1999;11:1-12.
- Forsdyke DR. Heat shock proteins as mediators of aggregation-induced "danger" signals: implications of the slow evolutionary fine-tuning of sequences for the antigenicity of cancer cells. *Cell Stress & Chaperone* 1999;4:205-10.
- Hoos A, Levey DL. Vaccination with heat shock protein-peptide complexes: from basic science to clinical applications. *Expert Rev Vaccines* 2003;2:369-79.
- Gurbuxani S, Bruey JM, Frommentin A, Larmonier N, Parcellier A, Jaattela M, et al. Selective depletion of inducible HSP70 enhances immunogenicity of rat colon cancer cells. *Oncogene* 2001;20:7478-85.