



Original

Interleucina-8 en el lavado broncoalveolar del donante y su impacto en la disfunción primaria del injerto en el trasplante bipulmonar

María Almenar^a, José Cerón^a, M^a Dolores Gómez^b, Juan C. Peñalver^a, M^a José Jiménez^b y José Padilla^{a,*}^a Unidad de Trasplante Pulmonar-Fibrosis Quística, Servicio de Cirugía Torácica, Hospital Universitario La Fe, Valencia, España^b Servicio de Microbiología, Hospital Universitario La Fe, Valencia, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 3 de diciembre de 2007

Aceptado el 20 de febrero de 2008

Palabras clave:

Donante pulmonar

Interleucina-8

Disfunción primaria del injerto pulmonar

RESUMEN

Introducción y objetivo: el propósito del estudio es conocer el papel que las concentraciones de interleucina-8 (IL-8) en el lavado broncoalveolar (BAL) del donante pulmonar desempeñan en el desarrollo de la disfunción primaria del injerto pulmonar (DPIP).

Pacientes y método: se ha analizado a 20 pacientes que recibieron un trasplante bipulmonar. Se recogió una serie de datos del donante, incluida la concentración de IL-8 en el BAL. Del receptor se registraron los valores gasométricos a las 6, 24 y 48 h del implante, así como el tiempo de intubación. Los pacientes con un cociente presión arterial de oxígeno (PaO₂)/fracción inspiratoria de oxígeno (FiO₂) inferior a 300 durante las primeras 48 h se clasificaron como pacientes que habían desarrollado DPIP. La determinación de IL-8 se realizó mediante enzoinmunoanálisis. La posible asociación entre las variables de los donantes y las concentraciones de IL-8 se evaluó mediante el *r* de Spearman y el test de Mann-Whitney, según las variables fueran continuas o categóricas. En el análisis multivariante se utilizó la regresión logística.

Resultados: de los 20 donantes estudiados, 15 eran varones. En 9 la causa de la muerte cerebral fue traumática, 7 eran fumadores activos, 13 precisaron soporte inotrópico y en 18 se aislaron gérmenes en el BAL. La mediana de edad fue de 35 años (rango intercuartílico [RIC]: 23,5–51,25), el tiempo de ventilación asistida fue de un día (RIC: 1–2), el cociente PaO₂/FiO₂ fue 459,5 (RIC: 427–510,25) y la concentración de IL-8 obtenida en el BAL fue de 49,01 ng/l (RIC: 7,86–94,05).

En cuanto a los receptores, 10 eran varones y la mediana de la edad fue de 48,43 años (RIC: 25,4–56,81). El tiempo de isquemia para el primer pulmón fue de 210 min (RIC: 176,25–228,75) y para el segundo, 300 min (RIC: 273,75–333,73). El cociente PaO₂/FiO₂ a las 6, 24 y 48 h del implante fue de 329 (RIC: 190,25–435), 363,5 (RIC: 249–434,75) y 370,5 (RIC: 243,25–418,25), respectivamente. El tiempo de intubación fue de 39,5 h (RIC: 19,25–68,5) y su correlación con los valores de IL-8 resultó positiva, ya que, cuanto mayor era la concentración de IL-8 en el BAL, más tiempo de ventilación asistida precisó el paciente (test de Spearman, *p* = 0,007; *r* = 0,583). Desarrollaron DPIP 5 pacientes, en los que la concentración de IL-8 fue significativamente mayor que en quienes no presentaron dicho cuadro clínico (test de Mann-Whitney, *p* = 0,003).

Conclusión: las concentraciones elevadas de IL-8 en el BAL del donante condicionan un mayor tiempo de ventilación asistida en el receptor de trasplante y favorecen el desarrollo de DPIP.

© 2007 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Interleukin 8 Concentrations in Donor Bronchoalveolar Lavage: Impact on Primary Graft Failure in Double Lung Transplant

A B S T R A C T

Background and Objective: The purpose of this study was to determine concentrations of interleukin 8 (IL-8) in the bronchoalveolar lavage (BAL) fluid from donor lungs and assess the role of IL-8 levels in the development of primary graft failure.

Patients and Method: Twenty patients who received a double lung transplant were studied. A series of data, including BAL fluid concentrations of IL-8, were collected for the donors. Data collected for the recipients included arterial blood gases after 6, 24, and 48 hours, and intubation time. Patients with a ratio of PaO₂ to the fraction of inspired oxygen (FiO₂) of less than 300 during the first 48 hours were diagnosed with primary graft failure. IL-8 levels were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. Associations between the donor variables and IL-8 concentrations were evaluated using the Spearman rank correlation coefficient (*p*) and the Mann-Whitney test for categorical and continuous variables, respectively. Logistic regression was used for multivariate analysis.

Keywords:

Lung donor

Interleukin 8

Primary lung graft failure

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jpadilla@comv.es (J. Padilla).

Results: Fifteen of the 20 donors were men. The cause of brain death was trauma in 9 donors, 7 were smokers, 13 required inotropic support, and pathogens were isolated in the BAL fluid of 18. The median age was 35 years (interquartile range [IQR], 23.5–51.25 y), the median ventilation time was 1 day (IQR, 1–2 d), the median PaO₂/FiO₂ was 459.5 (IQR, 427–510.25), and the median IL-8 concentration in BAL fluid was 49.01 ng/L (IQR, 7.86–94.05 ng/mL).

Ten of the recipients were men and the median age was 48.43 years (IQR, 25.4–56.81 y). The median ischemic time was 210 minutes (IQR, 176.25–228.75 min) for the first lung and 300 minutes (IQR, 273.75–333.73 min) for the second lung. The median PaO₂/FiO₂ ratio for the implant at 6, 14, and 48 hours was 329 (IQR, 190.25–435), 363.5 (IQR, 249–434.75), and 370.5 (IQR, 243.25–418.25), respectively. The median intubation time was 39.5 hours (IQR, 19.25–68.5 h) and the correlation with IL-8 values was positive: higher IL-8 concentrations in BAL fluid correlated with longer ventilation times (Spearman rank correlation, $P = .007$; $\rho = 0.583$). Five patients developed primary graft failure; IL-8 concentrations were significantly higher in these patients than in those whose grafts did not fail (Mann-Whitney test, $P = .003$).

Conclusion: High IL-8 concentrations in donor BAL fluid lead to longer ventilation time in the recipients and favor the development of primary graft failure after lung transplant.

© 2007 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La disfunción primaria del injerto pulmonar (DPIP) continúa siendo la principal causa de mortalidad perioperatoria y precoz en los receptores de un trasplante pulmonar (TP)¹. La DPIP es una lesión pulmonar aguda, que acontece en el período perioperatorio inmediato como consecuencia de una serie de eventos inherentes al TP. Se expresa clínicamente por hipoxemia intensa y en la radiografía se aprecia un patrón de infiltrado alveolar (edema pulmonar), lo que obliga a mantener al paciente intubado y ventilado con un alto aporte de oxígeno y óxido nítrico. Este hecho favorece la infección pulmonar, la sepsis y el posterior fracaso multiorgánico del paciente trasplantado².

La DPIP se ha relacionado casi exclusivamente con las lesiones de isquemia que acontecen durante la preservación del pulmón y la posterior reperfusión, una vez implantado. El mecanismo de lesión pulmonar por isquemia-reperfusión es extremadamente complejo y aún no está dilucidado del todo. Es el resultado de la interacción entre potentes mediadores y distintos tipos celulares^{3,4}. Entre estos mediadores, las interleucinas (IL), y en especial la IL-8, parecen desempeñar un papel importante en el desarrollo de la DPIP.

Sin embargo, el TP es un proceso complejo, por lo que cabría pensar que su éxito o fracaso podría estar condicionado por otros factores, y entre éstos se encontraría el donante. Fisher et al⁵ han comprobado que las concentraciones elevadas de IL-8 en el lavado broncoalveolar (BAL) de donantes de pulmón óptimos se correlacionan significativamente con la DPIP; es decir, podría haber un estado de “inflamación subclínica” —y, por lo tanto, sin expresión radiológica o gasométrica— que condicionara la posterior evolución del paciente trasplantado.

El objetivo de nuestro estudio es comprobar el papel que las concentraciones de IL-8 en el BAL del donante de pulmón tienen en el desarrollo de la DPIP.

Pacientes y método

Pacientes

Se ha estudiado prospectivamente a 20 pacientes que recibían un trasplante bipulmonar secuencial en el Hospital Universitario La Fe de Valencia, en el período comprendido entre noviembre de 2005 y diciembre de 2006.

Todos los donantes pulmonares reunieron criterios para ser considerados óptimos según la normativa internacional⁶. La técnica de explante se realizó siguiendo el protocolo de la Unidad de Trasplante Pulmonar del Hospital Universitario La Fe de Valencia, y para la preservación pulmonar se utilizó una solución baja en potasio a 4 °C.

Inmediatamente antes del implante pulmonar se realizó un BAL mediante la instilación de 20 ml de suero fisiológico en ambos bronquios principales. Todas las muestras obtenidas se procesaron y almacenaron a –80 °C para su posterior análisis.

Durante el postoperatorio inmediato se recogieron los valores gasométricos —cociente presión arterial de oxígeno/fracción inspiratoria de oxígeno (PaO₂/ FiO₂)— a las 6, 24 y 48 h del implante, así como el tiempo de intubación del receptor. Los pacientes con un cociente PaO₂/FiO₂ inferior a 300 durante las primeras 48 h se clasificaron como pacientes que habían desarrollado DPIP, tras excluir rechazo agudo, obstrucción de la anastomosis venosa, edema pulmonar cardiogénico o neumonía.

Determinación de interleucina-8

Todas las muestras se procesaron y guardaron a –80 °C para su posterior análisis. La determinación de IL-8 se realizó mediante enzoinmunoanálisis ELISA (R&D System, Inc., Minneapolis, MN, EE.UU.).

VARIABLES sometidas a estudio

- Variables del donante: sexo, edad, causa de muerte, tabaquismo, tiempo de intubación (días), cociente PaO₂/ FiO₂, soporte inotrópico, cultivo bacteriológico y concentraciones de IL-8 en BAL.
- Variables del receptor: sexo, edad, cociente PaO₂/ FiO₂ a las 6, 24 y 48 h, tiempo de intubación (h) y DPIP.

Análisis estadístico

Se describieron las características de donantes y receptores usando los estadísticos centrales y de dispersión habituales (mediana y rango intercuartílico [RIC]). La posible asociación entre las variables de los donantes y las concentraciones de IL-8 se evaluó mediante la r de Spearman y el test de Mann-Whitney, según las variables fueran continuas o categóricas. Se empleó la regresión logística para el análisis multivariante. En todos los análisis realizados se consideraron significativos los valores de $p < 0,05$.

Resultados

Donantes

Quince donantes fueron varones y 5 mujeres. La mediana de la edad fue de 35 años (RIC: 23,5–51,25). La causa de la muerte cerebral fue traumática en 9 casos y no traumática en 11. Siete

donantes eran fumadores activos en el momento de la donación. El tiempo de ventilación asistida fue de un día (RIC: 1-2). La mediana del cociente PaO₂/FiO₂ fue de 459,5 (RIC: 427-510,25). Trece precisaron de soporte inotrópico para mantener la estabilidad hemodinámica. En 18 ocasiones se aislaron gérmenes en el BAL. La mediana de concentración de IL-8 obtenida en el BAL fue de 49,01 ng/ml (RIC: 7,86-94,05).

Receptores

Diez pacientes eran varones y 10 mujeres. La mediana de la edad fue de 48,43 años (RIC: 25,4-56,81). La enfermedad pulmonar que determinó el trasplante fue de etiología séptica en 8 casos y no séptica en los 12 restantes. Como hemos comentado, en todos los casos se realizó un trasplante bipulmonar secuencial, con un tiempo de isquemia para el primer pulmón de 210 min (RIC: 176,25-228,75) y para el segundo pulmón de 300 min (RIC: 273,75-333,73). Los valores del cociente PaO₂/FiO₂ a las 6, 24 y 48 h del implante fue de 329 (RIC: 190,25-435), 363,5 (RIC: 249-434,75) y 370,5 (RIC: 243,25-418,25), respectivamente.

Relación de la IL-8 con las características clínicas del donante, el tiempo de intubación del receptor y el desarrollo de DPIP

No se encontró asociación alguna entre las características clínicas del donante y los valores de IL-8 obtenidos en el BAL (tabla 1).

El tiempo de intubación del receptor fue de 39,5h (RIC: 19,25-68,5) y su correlación con los valores de IL-8 resultó positiva, ya que, cuanto mayor era la concentración de IL-8 en el BAL, más tiempo de ventilación asistida precisó el paciente (test de Spearman, p = 0,007; r = 0,583) (fig. 1).

Desarrollaron DPIP 5 pacientes, de los que 2 fallecieron en el postoperatorio inmediato (tabla 2). Estos pacientes habían recibido el órgano de donantes en los que las concentraciones de IL-8 en el BAL eran significativamente mayores que las de los donantes de pulmones trasplantados a pacientes que no presentaron dicho cuadro clínico (test de Mann-Whitney, p = 0,003) (fig. 2).

Tabla 1
Concentraciones de interleucina-8 (IL-8) en el lavado broncoalveolar y características clínicas de los donantes (n = 20)

Características	IL-8 (ng/ml): mediana (RIC)	p
Variables categóricas^a		
Varones (n = 15)	24,48 (4-79,09)	0,445
Mujeres (n = 5)	79,09 (31,58-162,74)	
No fumador (n = 13)	79,09 (16,42-87,54)	0,211
Fumador (n = 7)	9 (2,74-60,43)	
Muerte cerebral traumática (n = 9)	24,48 (1,99-79,09)	0,456
Muerte cerebral no traumática (n = 11)	60,43 (9-96)	
Soporte inotrópico (n = 13)	37,6 (6,18-87,54)	0,817
Sin soporte inotrópico (n = 7)	60,43 (2,7-79,09)	
BALC positivo (n = 18)	42,45 (3,68-83,31)	0,674
BALC negativo (n = 2)	58,34 (37,6-79,09)	
Variables continuas^b		
Edad		0,202
Tiempo de intubación		0,615
Cociente PaO ₂ /FiO ₂		0,186

BALC: cultivo bacteriológico del lavado broncoalveolar; FiO₂: fracción inspiratoria de oxígeno; PaO₂: presión arterial de oxígeno; RIC: rango intercuartílico.

^a Test de la U de Mann-Whitney.

^b Test de Spearman.

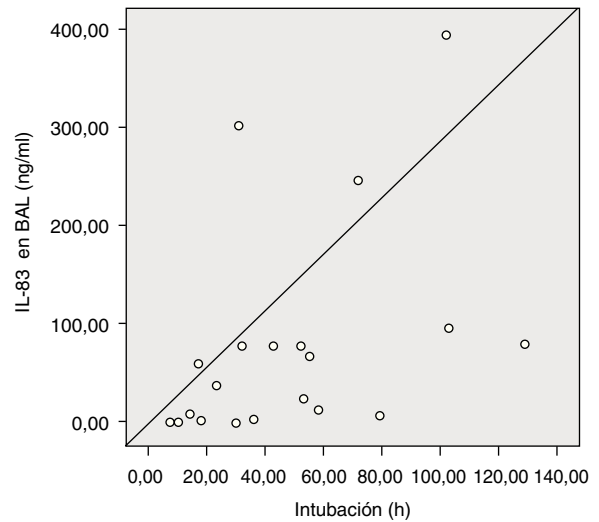


Figura 1. Concentración de interleucina-8 (IL-8) en el lavado broncoalveolar (BAL) del donante y tiempo de intubación del receptor (test de Spearman, r = 0,538; p = 0,007).

Tabla 2
Concentraciones de interleucina-8 (IL-8) en el lavado broncoalveolar del donante y desarrollo de disfunción primaria del injerto en el trasplante bipulmonar (DPIP)

Receptores (n = 20)	IL-8 (ng/ml): mediana (RIC)	p*
DPIP (n = 5)	96 (45,99-320,33)	0,039
Sin DPIP (n = 15)	12,9 (2,74-79,09)	

RIC: rango intercuartílico.

* Test de la U de Mann-Whitney.

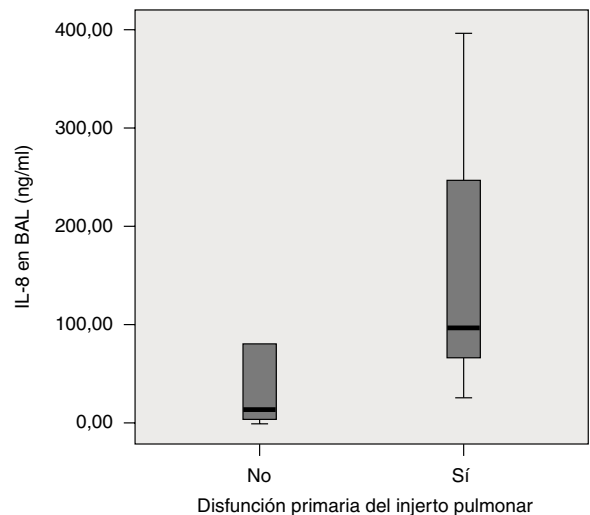


Figura 2. Concentración de interleucina-8 (IL-8) en el lavado broncoalveolar (BAL) del donante y disfunción primaria del injerto pulmonar (test de la U de Mann-Whitney, p = 0,032).

Según el análisis multivariante mediante el modelo de regresión logística binaria, la concentración de IL-8 obtenida en el LAB fue la única variable que entró en regresión, aunque limitó la significación (p = 0,07). La ecuación de regresión obtenida fue: -5,079+(BAL × 13,16).

Discusión

En nuestro trabajo hemos comprobado que las concentraciones elevadas de IL-8 en el BAL del donante condicionan un mayor

tiempo de ventilación asistida en el paciente trasplantado y favorecen el desarrollo de DPIIP.

La obtención de órganos para la realización de un trasplante, sobre todo el pulmón, es un serio problema. En la actualidad los criterios para la selección del donante pulmonar se basan en una serie de datos clínicos como la edad, la presencia de tabaquismo, gasometría arterial, hallazgos tanto radiológicos como broncoscópicos y el examen físico del pulmón en el momento del explante. Sin embargo, la mayoría de estos criterios no se han evaluado rigurosamente y se basan más en impresiones clínicas que en una evidencia clínica sólida⁷. Aunque donantes pulmonares marginales pueden conducir a resultados aceptables⁶, no es menos cierto que la DPIIP continúa siendo un grave problema a pesar de la utilización de donantes clasificados como óptimos⁸.

La DPIIP se ha relacionado casi exclusivamente con las lesiones de isquemia que acontecen durante la preservación del pulmón y la posterior reperusión, una vez implantado. El mecanismo de lesión pulmonar por isquemia-reperusión es extremadamente complejo y aún no está dilucidado del todo. Es el resultado de la interacción entre potentes mediadores y distintos tipos celulares^{3,4}. Entre estos mediadores, las IL, y en especial la IL-8, potente mediador proinflamatorio en la activación y reclutamiento de los neutrófilos en el lugar en que se produce un proceso inflamatorio agudo, parecen desempeñar un papel importante en el desarrollo de la DPIIP. En este sentido, se ha podido comprobar que en el período post-TP inmediato los valores elevados de citocinas proinflamatorias se correlacionan significativamente con la aparición de DPIIP⁹⁻¹¹.

Sin embargo, el TP es un proceso complejo, por lo que cabría pensar que su éxito o fracaso podría estar condicionado por otros factores, y entre éstos estaría el donante. Innumerables trabajos han estudiado el impacto de las características del donante en los resultados del TP⁶. Sin embargo, son escasos los dedicados al estudio del estado biológico del pulmón del donante y de su impacto en la DPIIP.

Algunos autores han encontrado una correlación significativa entre la concentración sanguínea de determinadas citocinas y la depleción hormonal que acontece en la muerte cerebral¹². Igualmente se ha observado, en pacientes con traumatismo craneal aislado, la existencia de una lesión pulmonar aguda caracterizada histológicamente por una infiltración pulmonar de neutrófilos en todo superponible a lo que acontece en la DPIIP, lo que ha llevado a algún autor a cuestionar el estado inflamatorio del pulmón en donantes de órganos¹³. Fisher et al⁵ comprobaron que concentraciones elevadas de IL-8 en el BAL de donantes pulmonares óptimos —12 analizados antes del explante y 15 con el injerto sometido a isquemia— determinaron el desarrollo posterior de la DPIIP. En un estudio reciente Kaneda et al¹⁴ han descrito un modelo de predicción de mortalidad perioperatoria en el que el cociente IL-6/IL-10, obtenido mediante análisis de ARN mensajero a partir de biopsias del pulmón donante, condicionó la mortalidad. En nuestro trabajo los valores elevados de IL-8 en el BAL condicionaron el tiempo en que el paciente necesitó ventilación mecánica asistida. Igualmente, los pacientes que presentaron DPIIP mostraron concentraciones significativamente mayores de IL-8.

En conclusión, en nuestra limitada experiencia, coincidimos con Fisher et al⁵ en que en determinados donantes clasificados como óptimos puede haber lesiones pulmonares subclínicas, cuya expresión sería la elevación de las concentraciones de IL-8 en el BAL, las cuales se agravarían tras la isquemia y posterior reperusión del injerto. Este hecho podría explicar, al menos en parte, que, a pesar del esfuerzo encaminado a conseguir una preservación pulmonar ideal¹⁵, la DPIIP continúe condicionando los resultados en el TP, por lo que es necesario desarrollar nuevas estrategias que permitan una evaluación biológica del donante pulmonar antes del implante¹⁴ y opciones terapéuticas que minimicen el efecto de la cascada inflamatoria en el período inmediatamente posterior al trasplante¹⁶.

Bibliografía

1. Trulock EP, Christie JD, Edwards LB, Boucek MM, Aurora P, Taylor DO, et al. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fourth official adult lung and heart-lung transplantation report-2007. *J Heart Lung Transplant.* 2007;26:782-95.
2. Christie JD, Carby M, Bag R, Corris P, Hertz M, Weill D. Report of the ISHLT working group on primary lung graft dysfunction part II: definition. A consensus statement of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2005;24:1454-9.
3. De Perrot M, Keshavjee S. Lung preservation. *Curr Opin Organ Transplant.* 2001;6:223-30.
4. Padilla AM, Padilla J. Estado actual de la preservación pulmonar. *Arch Bronconeumol.* 2004;40:86-93.
5. Fisher AJ, Donnelly SC, Hirani N, Haslett C, Strieter RM, Dark JH, et al. Elevated levels of interleukin-8 in donor lungs is associated with early graft failure after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163:259-65.
6. Orens JB, Boehler A, De Perrot M, Estenne M, Glanville AR, Keshavjee S, et al. A review of lung transplant donor acceptability criteria. *J Heart Lung Transplant.* 2003;22:1183-200.
7. Weill D. Donor criteria in lung transplantation. An issue revisited. *Chest.* 2002;121:2029-31.
8. Christie JD, Sager JS, Kimmel SE, Ahya VN, Gauhan C, Blumenthal NP, et al. Impact of primary graft failure on outcome following lung transplantation. *Chest.* 2005;127:161-5.
9. Mal H, Dehoux M, Sleiman C, Boczkowski J, Lesèche G, Pariente R, et al. Early release of proinflammatory cytokines after lung transplantation. *Chest.* 1998;113:645-51.
10. De Perrot M, Sekine Y, Fischer S, Waddell TK, McRae K, Liu M, et al. Interleukin-8 release during early reperfusion predicts graft function in human lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:211-5.
11. Mathur A, Báez M, Staples D, Bonnell M, Speckman JM, Hess PJ. Cytokine profile after lung transplantation: correlation with allograft injury. *Ann Thoracic Surg.* 2006;81:1844-50.
12. Amado JA, López-Espadas F, Vázquez-Barquero A, Salas E, Riancho JA, López-Cordovilla JJ, et al. Blood levels of cytokines in brain-dead patients: relationship with circulating hormones and acute-phase reactants. *Metabolism.* 1995;44:812-6.
13. Fisher AJ, Donnelly SC, Hirani N, Burdick MD, Strieter RM, Dark JH, et al. Enhanced pulmonary inflammation in organ donor following fatal non-traumatic brain injury. *Lancet.* 1999;353:1412-3.
14. Kaneda H, Waddell TK, De Perrot M, Bai XH, Gutiérrez C, Arenovich T, et al. Pre-implantation multiple cytokine mRNA expression analysis of donor lung grafts predicts survival after lung transplantation in humans. *Am J Transplant.* 2006;6:544-51.
15. Nath DS, Walter AR, Johson AC, Radosevich DM, Prekker ME, Herrington C, et al. Does Perfadex affect outcomes in clinical lung transplantation? *J Heart Lung Transplant.* 2005;24:2243-8.
16. Keshavjee S, Davis RD, Zamora MR, De Perrot M, Patterson GA. A randomized placebo-controlled trial of complement inhibition in ischemia-reperfusion injury after lung transplantation in human beings. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2005;129:423-8.