

REVISIÓN

Disfunción mitocondrial en sepsis, impacto y posible papel regulador del factor inducible por hipoxia (HIF-1 α)

T. Regueira^{a,*}, M. Andresen^a y S. Djafarzadeh^b

^aDepartamento de Medicina Intensiva, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

^bDepartment of Intensive Care Medicine, University of Bern and Bern University Hospital (Inselspital), Bern, Switzerland

Recibido el 15 de julio de 2008; aceptado el 19 de octubre de 2008

Disponible en Internet el 20 de septiembre de 2009

PALABRAS CLAVE

Sepsis;
Mitocondria;
Disfunción
multiorgánica;
Factor inducible por
hipoxia-1

Resumen

Existe una relación directa entre el desarrollo del síndrome de disfunción de órganos (SDOM) y la alta mortalidad asociada a sepsis. Los mecanismos causantes del desarrollo de SDOM permanecen en estudio, pero los mayores esfuerzos en su evaluación se han centrado en la optimización de la oxigenación tisular y en la modulación de la cascada inflamatoria característica de la sepsis, con resultados negativos. Estudios recientes muestran desarrollo de acidosis tisular aun con niveles de oxigenación tisular adecuados y escasa presencia de necrosis o apoptosis celular en los tejidos afectados, lo que indica una disfunción celular energética como un elemento central en el desarrollo del SDOM. Las mitocondrias son la principal fuente energética celular, reguladores clave de la muerte celular y principal fuente de especies reactivas de oxígeno. Varios mecanismos contribuyen al desarrollo de disfunción mitocondrial durante la sepsis: el bloqueo en la entrada de piruvato al ciclo de Krebs, el consumo de sustratos de la fosforilación oxidativa por parte de otros complejos enzimáticos, la inhibición enzimática y el daño de membrana secundarios a estrés oxidativo, y la disminución en el contenido mitocondrial celular. El *hypoxia inducible factor* (HIF)-1 α es un factor de transcripción que actúa como un regulador clave en la homeostasis del oxígeno celular. Su inducción en condiciones de hipoxia se asocia a la expresión de cientos de genes que coordinan la optimización de la entrega de oxígeno celular y el metabolismo energético celular. El HIF-1 α puede estabilizarse en normoxia en presencia de inflamación; esta activación parece asociarse a un patrón de respuesta inmunitaria proinflamatorio, a una disfunción de linfocitos y a una disminución de consumo de oxígeno celular. Nuevos estudios deberán establecer un papel terapéutico en la modulación del HIF-1 α .

© 2008 Elsevier España, S.L. y SEMICYUC. Todos los derechos reservados.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: regueira@med.puc.cl (T. Regueira).

KEYWORDS

Sepsis;
Mitochondrial;
Multiorgan
dysfunction;
Hypoxia inducible
factor-1 α

Mitochondrial dysfunction during sepsis, impact and possible regulating role of hypoxia-inducible factor -1 α

Abstract

There is a direct correlation between the development of the multiple organ dysfunction syndrome (MODS) and the elevated mortality associated with sepsis. The mechanisms responsible for MODS development are being studied, however, the main efforts regarding MODS evaluation have focused on oxygen delivery optimization and on the modulation of the characteristic inflammatory cascade of sepsis, all with negative results. Recent studies have shown that there is development of tissue acidosis, even when there are normal oxygen conditions and limited presence of tissue cellular necrosis or apoptosis, which would indicate that cellular energetic dysfunction may be a central element in MODS pathogenesis. Mitochondria are the main source of cellular energy, central regulators of cell death and the main source for reactive oxygen species. Several mechanisms contribute to mitochondrial dysfunction during sepsis, that is blockage of pyruvate entry into the Krebs cycle, oxidative phosphorylation substrate use in other enzymatic complexes, enzymatic complex inhibition and membrane damage mediated by oxidative stress, and reduction in mitochondrial content. Hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) is a nuclear transcription factor with a central role in the regulation of cellular oxygen homeostasis. Its induction under hypoxic conditions is associated to the expression of hundreds of genes that coordinate the optimization of cellular oxygen delivery and the cellular energy metabolism. HIF-1 α can also be stabilized under normoxic condition during inflammation and this activation seems to be associated with a prominent pro-inflammatory profile, with lymphocytes dysfunction, and to a reduction in cellular oxygen consumption. Further studies should establish a role for HIF-1 α as a therapeutic target.

© 2008 Elsevier España, S.L. and SEMICYUC. All rights reserved.

Daño y disfunción mitocondrial tienen un papel en la sepsis

A pesar de todos los esfuerzos y recursos empleados en investigación, la mortalidad por sepsis continúa siendo elevada^{1,2}. Existe una relación directa entre el desarrollo del síndrome de disfunción de órganos (SDOM) y la mortalidad; así, pacientes sépticos con disfunción de 4 o más sistemas alcanzan mortalidades de un 65%². Los mecanismos causantes del desarrollo de SDOM durante la sepsis permanecen aún en estudio³⁻⁵, pero parece claro que las alteraciones macrohemodinámicas y microcirculatorias características de la sepsis no explican por sí solas la patogénesis del SDOM en su totalidad⁶.

Durante las últimas décadas, los mayores esfuerzos en el tratamiento de la sepsis grave y en la prevención de la disfunción orgánica múltiple se han centrado en la optimización de la oxigenación tisular para evitar el daño celular por isquemia y en la modulación de la cascada proinflamatoria característica de la sepsis, pero los resultados de estos estudios han sido en su mayoría negativos⁶⁻⁸. Dos líneas de investigación parecen poner en duda la importancia de la isquemia tisular en el desarrollo del SDOM. En primer lugar, la presencia de hiperlactatemia se ha asociado a la existencia de "deuda de oxígeno" en los tejidos, y aunque niveles elevados de lactato se asocian claramente a mayor mortalidad, estudios recientes muestran que el desarrollo de acidosis tisular ocurre aun en presencia de niveles de oxigenación tisular adecuados^{9,10}. En segundo lugar, si la hipoxia tisular fuese un mecanismo preponderante en el desarrollo de SDOM durante la sepsis,

se esperaría encontrar necrosis o apoptosis celular en los tejidos afectados. Éste no es el caso. Hotchkiss et al⁸ realizaron autopsias precoces en 20 pacientes fallecidos por sepsis y SDOM, y encontraron apoptosis sólo en las células del sistema inmunitario y escasamente en el epitelio gastrointestinal. El resto de los órganos presentaba escasa o nula evidencia de daño celular. Aún más, los pacientes que sobreviven al SDOM en su mayoría recuperan la función del órgano completamente.

La disfunción de un órgano es finalmente una disfunción celular. La principal función de una célula es mantener activos todos los procesos metabólicos que le son propios. Para lograr esto, cada célula debe ser capaz de producir energía (adenosintrifosfato [ATP]) que permita llevar a cabo todas aquellas reacciones bioquímicas anabólicas necesarias para el crecimiento, la reproducción y la síntesis. El ATP puede generarse tanto en forma anaeróbica como aeróbica. La generación anaeróbica de ATP ocurre principalmente en el citoplasma y se lo conoce como glucólisis. La producción aeróbica de ATP tiene lugar exclusivamente en el interior de la mitocondria y es, por lejos, el principal mecanismo de producción de ATP. Las mitocondrias usan aproximadamente el 95% del consumo de oxígeno celular para generar ATP.

La fosforilación oxidativa (FO) que ocurre en la membrana interna de las mitocondrias acopla efectivamente 2 procesos: 1) la progresiva oxidorreducción de la cadena respiratoria que finalmente reduce el oxígeno molecular a agua y que al mismo tiempo crea un gradiente electroquímico de protones entre la matriz mitocondrial y el espacio intermembrana, y 2) la fosforilación de adenosín difosfato (ADP) para formar adenosín trifosfato (ATP) (fig. 1).

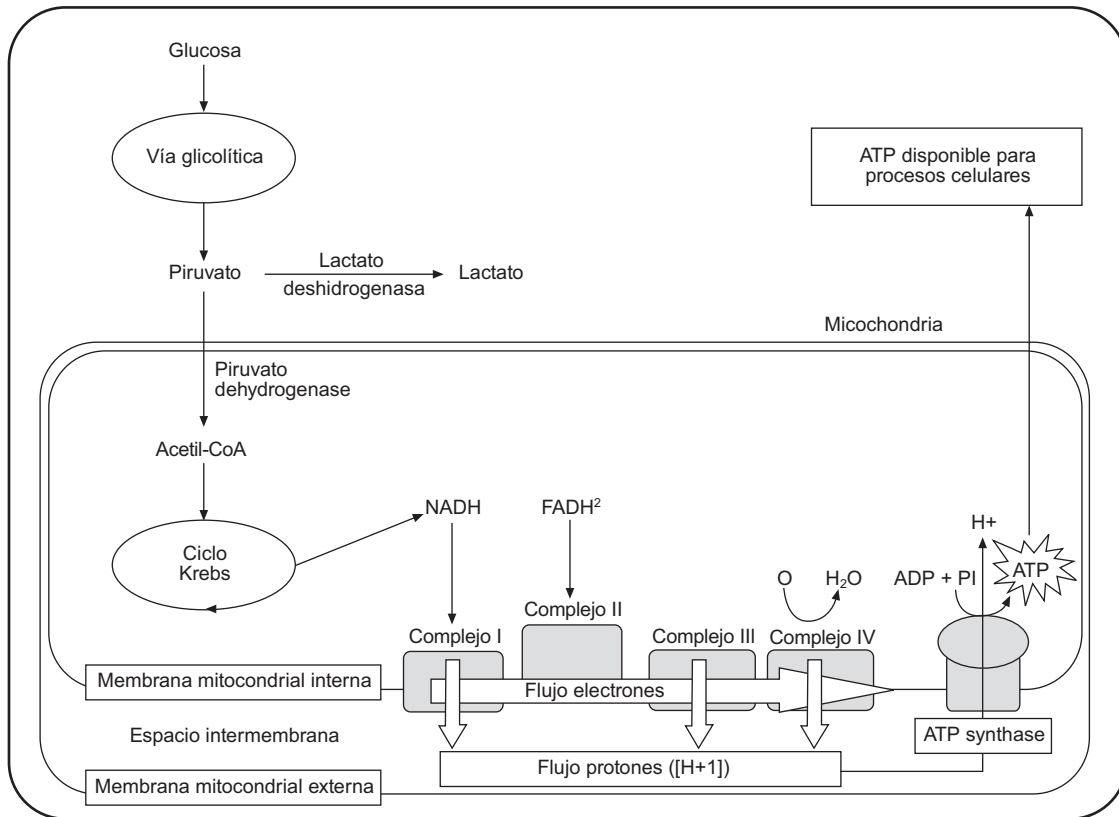


Figura 1 Diagrama que muestra el flujo metabólico de la glucosa desde su entrada a la célula, la vía glicolítica, la entrada de piruvato a la mitocondria y al ciclo de Krebs, y la entrega de compuestos reductores a la cadena de fosforilación oxidativa. Los electrones pasan del complejo I al complejo IV, mientras este paso se acopla a la translocación de protones desde la matriz mitocondrial al espacio intermembrana. El gradiente quimiosmótico creado por el paso de protones permite el regreso de éstos a la matriz mitocondrial a través de la enzima adenosintrifosfato (ATP) sintasa que ocupa la energía disipada para generar ATP a partir de adenosín difosfato+fósforo inorgánico.

Durante la última década, numerosos estudios han demostrado que durante la sepsis existe disfunción mitocondrial y que ésta podría asociarse al desarrollo de disfunción de órganos y a peor pronóstico¹¹. De hecho, diversos trabajos han demostrado la presencia de disfunción mitocondrial tanto en órganos vitales (p. ej. el hígado) como en el músculo, y han señalado que la patogénesis de la disfunción mitocondrial es multifactorial, con mecanismos propuestos, como el déficit de sustratos, el bloqueo enzimático y el daño de membranas, entre otros¹¹⁻¹⁶. La aparición de disfunción mitocondrial ocurre aun en presencia de niveles adecuados de oxigenación tisular, es decir, en ausencia de hipoxia tisular^{15,17}, lo que indica un mecanismo independiente al hemodinámico o microcirculatorio en la génesis de la disfunción celular.

Breve repaso de la función mitocondrial

La producción de ATP por parte de la célula depende de procesos metabólicos interconectados. Entre éstos figuran la glucólisis en el citoplasma, el ciclo de Krebs, la betaoxidación de ácidos grasos y la FO en la mitocondria (fig. 1).

Las mitocondrias son estructuras dinámicas en constante movimiento y fusión-división. Están constituidas por un sistema de doble membrana; ambas membranas son diferentes: la externa es altamente permeable (presencia de poros) y sólo contiene un 50% de proteínas, mientras que la membrana interna es impermeable (sólo oxígeno y agua pueden difundir libremente) y contiene hasta un 80% de proteínas. La membrana interna se pliega hacia la matriz y forma las “crestas mitocondriales”.

La matriz mitocondrial contiene ribosomas para síntesis proteica y ADN, que codifican algunas de las subunidades de los complejos de la cadena de FO. Contiene, además, las enzimas para la betaoxidación de ácidos grasos y casi todas las enzimas para el ciclo de Krebs (excepto la succinato deshidrogenasa, que está unida a la membrana como parte de la cadena respiratoria [complejo II]).

El producto final de la glucólisis es piruvato; éste, en condiciones aeróbicas normales difunde hacia la matriz mitocondrial, donde por medio de un complejo enzimático (piruvato deshidrogenasa [PDH]) reacciona con la coenzima A (CoA) y se desdobla en CO₂ y un grupo acetilo de 2 carbonos, éste se une a la CoA y forma acetil-CoA. En esta reacción se forma nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH). El acetil-CoA puede provenir también de la betaoxidación de ácidos grasos o del metabolismo de ciertos

aminoácidos. El acetil-CoA es el compuesto inicial del ciclo de Krebs. El producto final del ciclo de Krebs es la generación de potentes agentes reductores (NADH_2 y flavín adenín dinucleótido reducido [FADH], CO_2 y guanósín trifosfato (GTP).

La FO es el proceso por el que NADH_2 y FADH_2 provenientes de la glucólisis y del ciclo de Krebs donan sus electrones a complejos proteicos localizados en la membrana interna mitocondrial. Los complejos I (NADH: CoQ oxidorreductasa) y II así reducidos donan, a su vez, electrones a una proteína (ubiquinona, Q) que se reduce a ubiquinol (QH_2) y media el paso de electrones hacia el complejo III, cuyos principales componentes son proteínas heme conocidas como citocromos b y c1 y una proteína conocida como *rieske iron sulfur protein*. Asimismo, el complejo III entrega los electrones al citocromo c, que se une débilmente a la cara externa de la membrana interna mitocondrial, que a su vez entrega los electrones al complejo IV (citocromo c oxidasa [COX]). Este complejo está formado por proteínas heme conocidas como citocromos a y a3, así como por proteínas que requieren cobre, y participa en el proceso de oxidorreducción ($\text{Cu}^+ - \text{Cu}^{2+}$). Finalmente, los electrones pasan del complejo IV al aceptor final, oxígeno molecular, para formar agua. Los complejos I, III y IV utilizan la energía libre que deja el paso de los electrones para translocar protones desde la matriz mitocondrial al espacio intermembrana, se genera así un gradiente electroquímico. Es fundamental que la membrana interna mitocondrial se

encuentre intacta para que el regreso de protones a la matriz ocurra sólo a través del complejo V, o ATP sintasa, que aprovecha este gradiente para acoplarlo con la síntesis de ATP a partir de ADP y fósforo inorgánico (fig. 2).

La disfunción mitocondrial puede ocurrir a cualquiera de los niveles descritos, ya sea por un bloqueo de la enzima PDH, de cualquiera de los pasos del ciclo de Krebs, por inhibición de los complejos de la FO o por pérdida de la integridad de la membrana interna o externa mitocondrial. Cualquiera que sea la causa, el riesgo para la célula es la disminución en el aporte de ATP para los diferentes procesos celulares, el aumento en la producción de radicales libres y el comienzo de procesos de activación de vías conducentes a la apoptosis celular (vía intrínseca).

Mecanismo de daño mitocondrial durante la sepsis

Estudios en animales así como estudios clínicos confirman que la presencia de daño celular (necrosis o apoptosis), a excepción del sistema inmunitario y el epitelio gastrointestinal, es de escasa cuantía en órganos sólidos durante la sepsis con falla multiorgánica. Hotchkiss et al⁸ estudiaron 20 pacientes que fallecieron a causa de sepsis con SDOM. Sólo encontraron una grave depleción de linfocitos y focos de apoptosis en células intestinales; el resto de los órganos presentaba mínimos signos de daño celular. Por lo tanto, aun

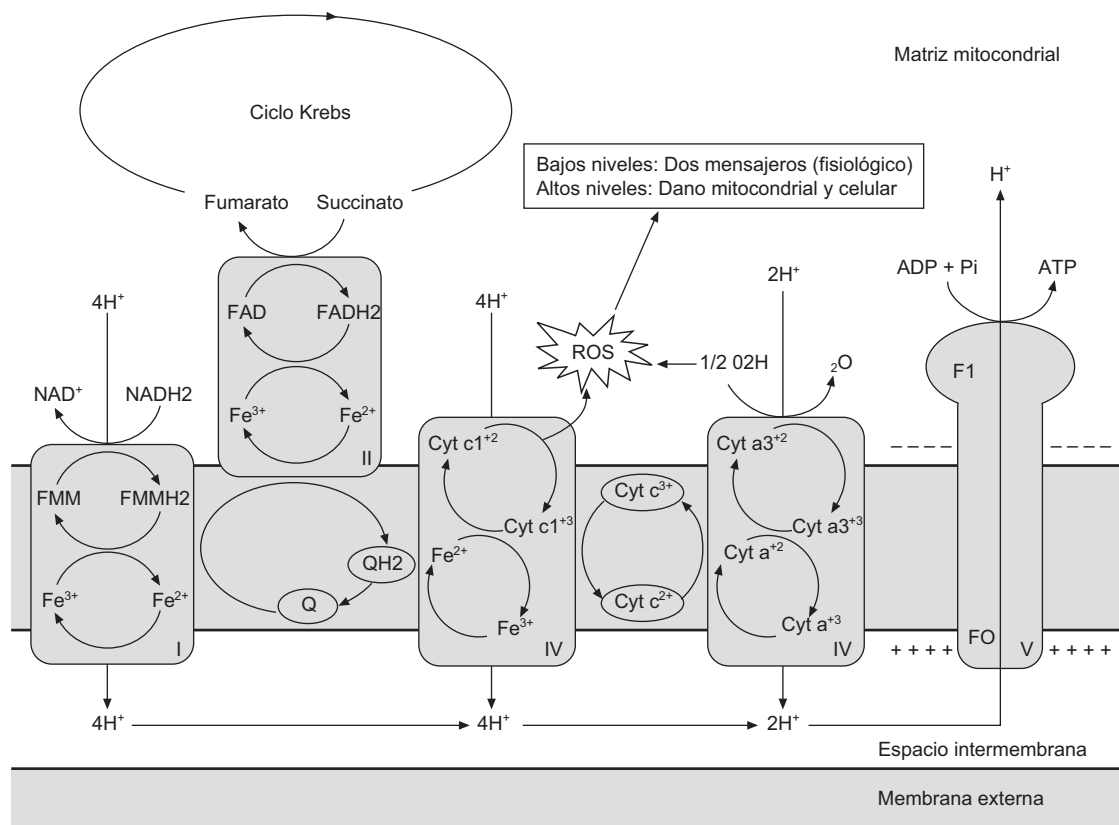


Figura 2 Diagrama de la cadena de fosforilación oxidativa. El paso de protones a través de complejos termina en el complejo IV, donde se asocia a oxígeno molecular para formar agua. Sin embargo, un porcentaje del oxígeno se ocupa en reacciones parciales en los complejos I al III, y forma especies intermedias de oxígeno. Estos compuestos aumentan en condiciones de hipoxia e inflamación, lo que genera daño celular.

cuando la sepsis se asocia a un cuadro clínico crítico y a disfunción de órganos, no parece existir evidencia de muerte celular significativa. Una explicación complementaria para la disfunción orgánica de la sepsis es la falla metabólica celular asociada a disfunción mitocondrial^{9,18,19}. Varios mecanismos se han propuesto para explicar de qué forma podría mediarse este fenómeno:

1. **Inhibición de PDH.** Como se señaló anteriormente, el producto final de la glucólisis anaeróbica es el piruvato. Este compuesto puede ser luego metabolizado en diferentes rutas metabólicas pero, en condiciones aeróbicas normales, la mayor parte difunde hacia la matriz mitocondrial, donde por intermedio de un complejo enzimático PDH, es metabolizado para continuar con el ciclo de Krebs. Sin embargo, durante la sepsis existe un incremento en la actividad de enzimas PDH cinasas^{20,21}, las que inhiben la función de PDH y disminuyen los sustratos disponibles para la FO, de tal manera que finalmente se reduce la producción de ATP. Este aumento en la expresión de las PDH cinasas es probablemente mediado por señales desde la membrana por parte de citoquinas proinflamatorias (factor de necrosis tumoral- α [TNF- α] e interleucina-6 [IL-6])²². El bloqueo de la PDH trae como consecuencia la acumulación de piruvato y su metabolización por rutas metabólicas alternativas. Entre éstas, destaca la conversión del piruvato en lactato por acción de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH). La acumulación de lactato por este mecanismo sería independiente de la presencia de hipoxia o isquemia tisular. De esta manera, la acumulación de lactato en el plasma, si bien es un demostrado marcador pronóstico, no parece ser en todas las circunstancias un buen marcador de hipoperfusión tisular.
2. **Aumento en los niveles de iNOS (inducible nitric oxide synthase) durante la sepsis.** Durante la sepsis existe un aumento en la expresión de iNOS con la consiguiente sobreproducción de óxido nítrico (NO). El NO es capaz de reaccionar con el anión superóxido (O₂⁻) para formar peroxinitrito (ONOO⁻), compuesto altamente reactivo capaz de dañar membranas lipídicas (lipoperoxidación), producir fragmentación y mutación del ADN y daño proteico²³. Entre estos últimos es capaz de producir inicialmente un bloqueo reversible, pero posteriormente irreversible de los distintos complejos de la cadena de FO, al menos en los complejos I¹⁴, II y V²⁴. De hecho, varios estudios han mostrado una fuerte correlación entre la inhibición de la respiración mitocondrial y niveles elevados de NO¹¹. Un interesante estudio reciente²⁵ mostró que la inhibición de iNOS durante la sepsis no reclutaba los capilares bloqueados en la microcirculación como consecuencia de la sepsis, pero sí aumentaba el consumo de oxígeno tisular, lo que probablemente se relaciona con un cese en el bloqueo reversible de la respiración mitocondrial por parte del NO.
3. **Poli-(ADP-ribosa)-polimerasa (PARP-1).** La PARP-1 es una enzima que se localiza normalmente en el núcleo celular, y es causante de la reparación de alteraciones en el ADN. Las especies reactivas de oxígeno (radicales libres) y en particular el ONOO⁻ son capaces de activar la PARP-1 por

su efecto de fragmentación sobre el ADN. La activación de poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP-1) trae consigo el consumo masivo del NAD, con una importante caída en sus niveles celulares y disminución de la tasa de glucólisis, transporte de electrones y formación de ATP. Este fenómeno puede resultar en disfunción celular o muerte celular²⁶. Por otro lado, la PARP-1 estimula la expresión de varios mediadores proinflamatorios, a través de la activación del factor nuclear κ - β [nuclear factor- κ β [NF- κ β] y otras vías intracelulares^{26,27}.

4. **La morfología y el contenido celular mitocondrial** también se altera durante la sepsis. La alteración en la morfología mitocondrial se ha correlacionado con el grado de disfunción¹⁵; asimismo, la disminución en el contenido de mitocondrias durante la sepsis aparece relacionado no a un incremento en la apoptosis celular, pero sí a un mayor aclaramiento lisosomal¹³.

Posible papel regulador del factor inducible por hipoxia-1 α

El HIF-1 α es un factor de transcripción que actúa como un regulador clave en la homeostasis del oxígeno celular. Cientos de genes están regulados por HIF-1 α ²⁸. El HIF-1 α es un heterodímero que consiste en 2 subunidades (α y β). Ambas subunidades se expresan constitutivamente, pero la subunidad α es constantemente degradada en presencia de oxígeno. Para ser funcionales, las 2 subunidades de HIF-1 deben translocarse dentro del núcleo, dimerizarse y unirse a las secuencias de ADN conocidas como HRE (*hypoxia response elements* 'elementos de respuesta a hipoxia'), ubicadas dentro del promotor de genes diana. En condiciones de oxigenación normal, el HIF-1 α es continuamente sintetizado y degradado por hidroxilación de 2 residuos de prolina mediante las enzimas *prolyl hydroxylases* 1-3. Estas enzimas utilizan oxígeno, Fe y α -ketoglutarato (del ciclo de Krebs) como sustratos. Luego de que el HIF-1 α se hidroxila, las proteínas de von Hippel Lindau lo reconocen y es marcado para degradación²⁹. También la acción del *factor inhibiting HIF* puede degradar al HIF-1 α . Este factor hidroxila un residuo de asparagina en una reacción que también requiere oxígeno como sustrato. Esta hidroxilación bloquea la unión del HIF a sus coactivadores de transcripción p300 y *cyclic AMP responsive element-binding protein*³⁰. Durante períodos de hipoxia, la baja concentración de oxígeno impide ambas reacciones y el HIF-1 α no se degrada y se acumula rápidamente. Por otro lado, concentraciones fisiológicas de especies reactivas de oxígeno que actúan como segundos mensajeros, generados mayoritariamente en el complejo III de la cadena de FO en condiciones de hipoxia, pueden también oxidar las prolyl hidroxilasas y favorecer la acumulación de HIF-1 α ³¹.

El HIF-1 α activa la transcripción de genes que participan en la homeostasis del oxígeno. Algunos genes bajo el control del HIF se relacionan con un aumento en la entrega de oxígeno a los tejidos, como por ejemplo el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y la eritropoyetina³², mientras que otros genes entregan a la célula elementos para protegerse de la grave deprivación de oxígeno. El HIF-1 α participa también en la regulación del metabolismo energético³³. Activa la transcripción de genes

que codifican para transportadores de membrana de glucosa y virtualmente todas las enzimas de la vía glucolítica de oxidación de la glucosa, una manera de compensar la pérdida de eficiencia en la producción de ATP. De hecho, los macrófagos que deben funcionar en un microambiente de bajas concentraciones de oxígeno asociado a la presencia de inflamación dependen mayormente de la vía glucolítica para producir el ATP necesario para sus funciones metabólicas. En ausencia de HIF-1 α , no producen suficientes reservas de ATP y se vuelven no funcionales³⁴ (fig. 3).

Bajo condiciones de hipoxia tisular existe un aumento mediado por HIF en los niveles de ARN mensajero (ARNm) que codifican para enzimas glucolíticas, pero también un descenso coordinado en los niveles de mRNA de la cadena de FO que prioriza la síntesis de ATP anaeróbica sobre la aeróbica. Normalmente, el piruvato es el compuesto final de la vía glucolítica; la enzima LDH puede transformarlo en lactato, o bien puede entrar en la mitocondria y ahí, mediante la acción de la enzima PDH, convertirse en acetyl-CoA que luego se emplea en el ciclo de Krebs. Durante períodos de hipoxia, el HIF-1 α induce la expresión de PDH cinasas, que regulan negativamente la unidad catalítica de la PDH mediante fosforilación. De esta manera, el piruvato es derivado fuera de la mitocondria debido a la inhibición de la PDH, lo que disminuye la respiración mitocondrial, mientras que la enzima LDH es inducida y la producción de lactato se encuentra aumentada²⁸.

Las células que no poseen HIF-1 α y que están expuestas a un ambiente hipóxico, rápidamente aumentan su contenido de especies reactivas de oxígeno, lo que conduce a la muerte celular. Las especies reactivas de oxígeno se producen en el complejo I y III hacia la matriz mitocondrial, pero principalmente en el complejo III hacia el espacio intermembrana. Si a estas células carentes de HIF se les

añade un vector con un inhibidor de PDH, que disminuye los niveles de piruvato que entran al ciclo de Krebs, la tasa de muerte celular decae secundariamente a una disminución en los niveles de especies reactivas de oxígeno. Estas observaciones indican que el HIF-1 α reduce en forma adaptativa el flujo de electrones a través de la cadena de oxidación mitocondrial para prevenir el aumento a niveles tóxicos de las especies reactivas de oxígeno³⁵. En efecto, el HIF-1 α ejerce un efecto directo sobre la transcripción de subunidades de los complejos de la cadena de FO. La enzima COX (complejo IV) se compone de 13 subunidades, y el HIF-1 α regula algunas de las isoformas de estas subunidades^{28,36}.

Inflamación y factor inducible por hipoxia-1 α

Publicaciones recientes han demostrado que el HIF-1 α puede estabilizarse y translocarse efectivamente al núcleo no sólo en condiciones de hipoxia tisular, sino también en condiciones de inflamación. Se ha demostrado que el HIF-1 α se encuentra en concentraciones aumentadas en macrófagos y monocitos estimulados con lipopolisacáridos (LPS) bajo condiciones de normoxia³⁷. Esta activación es funcionalmente relevante en cuanto se asocia a translocación al núcleo y unión en el ADN a los HRE³⁷.

El LPS es una endotoxina de las bacterias gram (-) capaz de activar el receptor celular TLR (*toll like receptor*)-4, una molécula de reconocimiento fundamental para la iniciación de la respuesta inmunitaria. Los niveles de HIF-1 α disminuyen en macrófagos deficientes en el receptor de membrana TLR-4 luego de ser estimulados con LPS, lo que demuestra que la activación de HIF requiere la activación previa de TLR-4³⁸.

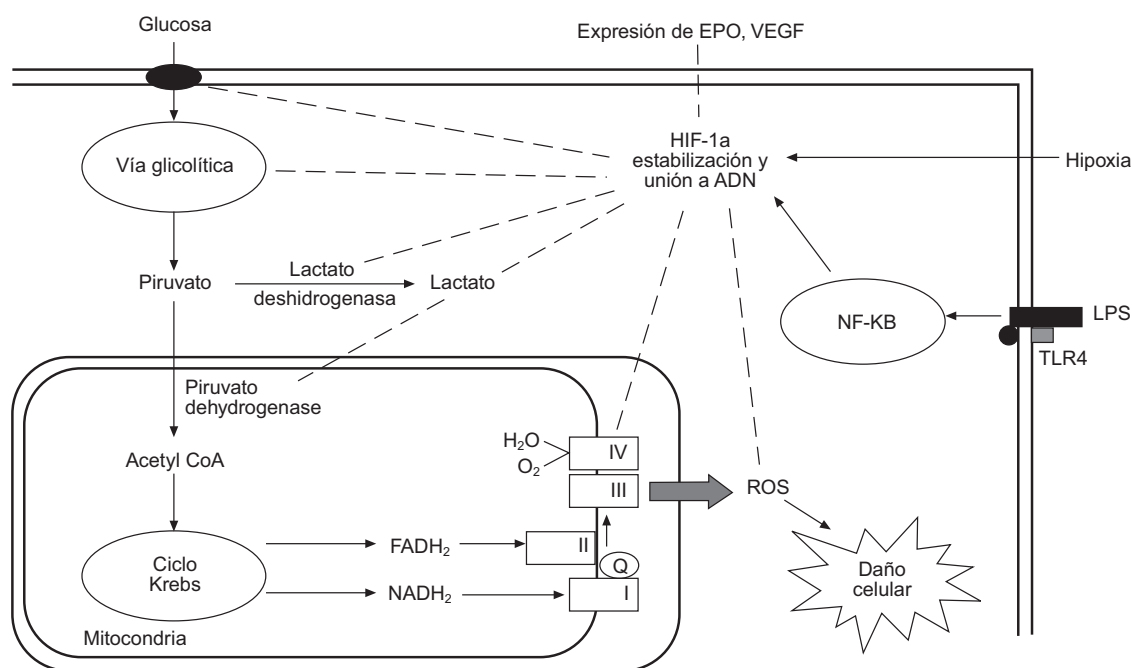


Figura 3 Factor inducible por hipoxia es un potente factor de transcripción celular. Bajo su control se encuentran cientos de genes que regulan la disponibilidad de oxígeno celular, el transporte de glucosa al intracelular y su metabolismo energético y la eficiencia de la fosforilación oxidativa.

Observaciones recientes muestran que en la expresión del HIF-1 α en respuesta a LPS media la inducción del TNF- α ³⁹ y el aumento en los niveles de IL-1, IL-6 e IL-12⁴⁰, lo que implicaría que el HIF-1 α participaría activamente no sólo en la regulación del metabolismo energético, sino también en aumentar la respuesta proinflamatoria de la sepsis. En efecto, al comparar ratas normales versus ratas con macrófagos deficientes en HIF-1 α , se observó que los ratones normales, es decir con HIF-1 α activo, tenían niveles más altos de IL-6, TNF- α , IL-1 α e IL-12 y presentaban más hipotensión y menor sobrevida en comparación con aquellas ratas sin HIF-1 α en sus macrófagos⁴⁰.

El HIF-1 α regula también en forma negativa la función de linfocitos CD4+ y CD8+⁴¹. La inhibición de HIF-1 α se asocia a un mayor reclutamiento de linfocitos T a zonas inflamadas que presentan baja concentración de oxígeno⁴². De esta manera se ha propuesto la inhibición selectiva de HIF-1 α en macrófagos y linfocitos T como una posible alternativa terapéutica en sepsis.

En nuestro laboratorio hemos observado que no sólo los LPS inducen al HIF-1 α a través de su receptor TLR-4, sino que también lo hacen los agonistas que estimulan al TLR-2 (receptor de bacterias gram [+]) y al TLR-3 (receptor de agentes intracelulares [p. ej., virus]). Observamos también que la inducción de HIF-1 α por parte del TNF- α se asocia a una disminución del consumo de oxígeno celular en hepatocitos y a mayores niveles de VEGF en el sobrenadante. La inhibición del HIF-1 α en su unión al ADN previene la disminución en el consumo de oxígeno celular (datos no publicados).

En resumen, aunque aún la evidencia acerca del rol del HIF-1 α en la sepsis es escasa, la evidencia reciente parece señalar que el HIF-1 α participa en la respuesta celular inflamatoria durante la sepsis. Los estudios realizados en células del sistema inmunitario muestran que contribuye a aumentar la respuesta proinflamatoria y a disminuir la actividad de linfocitos T, por lo que su inhibición podría ser beneficiosa en estas células³⁷. Sin embargo, el impacto del HIF-1 α en otros tejidos que participan en la disfunción multiorgánica durante la sepsis no está aún estudiado.

Bibliografía

1. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 2001;29:1303–10.
2. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, et al. Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study. *Crit Care Med.* 2006;34:344–53.
3. Elbers PW, Ince C. Mechanisms of critical illness-classifying microcirculatory flow abnormalities in distributive shock. *Crit Care.* 2006;10:221.
4. Krown KA, Page MT, Nguyen C, Zechner D, Gutiérrez V, Comstock KL, et al. Tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis in cardiac myocytes. Involvement of the sphingolipid signaling cascade in cardiac cell death. *J Clin Invest.* 1996;98:2854–2865.
5. Abraham E. Neutrophils and acute lung injury. *Crit Care Med.* 2003;31:S195–9.
6. Gattinoni L, Brazzi L, Pelosi P, Latini R, Tognoni G, Pesenti A, et al. SvO₂ Collaborative Group. Atrial of goal-oriented hemodynamic therapy in critically ill patients. *N Engl J Med.* 1995;333:1025–1032.
7. Hayes MA, Timmins AC, Yau EH, Palazzo M, Hinds CJ, Watson D. Elevation of systemic oxygen delivery in the treatment of critically ill patients. *N Engl J Med.* 1994;330:1717–22.
8. Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP, Matuschak GM, et al. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med.* 1999;27:1230–51.
9. Kantrow SP, Taylor DE, Carraway MS, Piantadosi CA. Oxidative metabolism in rat hepatocytes and mitochondria during sepsis. *Arch Biochem Biophys.* 1997;345:278–88.
10. VanderMeer TJ, Wang H, Fink MP. Endotoxemia causes ileal mucosal acidosis in the absence of mucosal hypoxia in a normodynamic porcine model of septic shock. *Crit Care Med.* 1995;23:1217–26.
11. Brealey D, Brand M, Hargreaves I, Heales S, Land J, Smolenski R, et al. Association between mitochondrial dysfunction and severity and outcome of septic shock. *Lancet.* 2002;360:219–223.
12. Porta F, Takala J, Weikert C, Bracht H, Kolarova A, Lauterburg BH, et al. Effects of prolonged endotoxemia on liver, skeletal muscle and kidney mitochondrial function. *Crit Care.* 2006;10:R118.
13. Crouser ED, Julian MW, Huff JE, Struck J, Cook CH. Carbamoyl phosphate synthase-1: A marker of mitochondrial damage and depletion in the liver during sepsis. *Crit Care Med.* 2006;34:2439–2446.
14. Brealey D, Karyampudi S, Jacques TS, Novelli M, Stidwill R, Taylor V, et al. Mitochondrial dysfunction in a long-term rodent model of sepsis and organ failure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2004;286:R491–7.
15. Crouser ED, Julián MW, Blaho DV, Pfeiffer DR. Endotoxin-induced mitochondrial damage correlates with impaired respiratory activity. *Crit Care Med.* 2002;30:276–84.
16. Kozlov A, Staniek K, Haindl S, Piskernik C, Ohlinger W, Gille L, et al. Different effects of endotoxic shock on the respiratory function of liver and heart mitochondria in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006;290:543–9.
17. Rosser DM, Stidwill RP, Jacobson D, Singer M. Oxygen tension in the bladder epithelium rises in both high and low cardiac output endotoxemic sepsis. *J Appl Physiol.* 1995;79:1878–82.
18. Unno N, Wang H, Menconi MJ, Tytgat SH, Larkin V, Smith M, et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase ameliorates endotoxin-induced gut mucosal barrier dysfunction in rats. *Gastroenterology.* 1997;113:1246–57.
19. Zingarelli B, Day BJ, Crapo JD, Salzman AL, Szabo C. The potential role of peroxynitrite in the vascular contractile and cellular energetic failure in endotoxic shock. *Br J Pharmacol.* 1997;120:259–67.
20. Vary TC. Increased pyruvate dehydrogenase kinase activity in response to sepsis. *Am J Physiol.* 1991;260:E669–74.
21. Vary TC, Siegel JH, Nakatani T, Sato T, Aoyama H. Effect of sepsis on activity of pyruvate dehydrogenase complex in skeletal muscle and liver. *Am J Physiol.* 1986;250:E634–40.
22. Alamdari N, Constantin-Teodosiu D, Murton AJ, Gardiner SM, Bennett T, Layfield R, et al. Temporal changes in the involvement of pyruvate dehydrogenase complex in muscle lactate accumulation during lipopolysaccharide infusion in rats. *J Physiol.* 2008;586:1767–75.
23. Radi R, Cassina A, Hodara R. Nitric oxide and peroxynitrite interactions with mitochondria. *Biol Chem.* 2002;383:401–9.
24. Radi R, Rodríguez M, Castro L, Telleri R. Inhibition of mitochondrial electron transport by peroxynitrite. *Arch Biochem Biophys.* 1994;308:89–95.
25. Bateman RM, Tokunaga C, Kareco T, Dorscheid DR, Walley KR. Myocardial hypoxia-inducible HIF-1 α , VEGF, and GLUT1 gene expression is associated with microvascular and ICAM-1

- heterogeneity during endotoxemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;293:H448–56.
26. Szabo C. Poly (ADP-ribose) polymerase activation and circulatory shock. *Novartis Found Symp.* 2007;280:92–103 discussion 03-7, 60-4.
 27. Goldfarb RD, Marton A, Szabo E, Virag L, Salzman AL, Glock D, et al. Protective effect of a novel, potent inhibitor of poly (adenosine 5'-diphosphate-ribose) synthetase in a porcine model of severe bacterial sepsis. *Crit Care Med.* 2002;30:974–80.
 28. Semenza GL. Oxygen-dependent regulation of mitochondrial respiration by hypoxia-inducible factor 1. *Biochem J.* 2007;405:1–9.
 29. Ivan M, Kondo K, Yang H, Kim W, Valiando J, Ohh M, et al. HIF1alpha targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: Implications for O₂ sensing. *Science.* 2001;292:464–8.
 30. Lando D, Peet DJ, Whelan DA, Gorman JJ, Whitelaw ML. Asparagine hydroxylation of the HIF transactivation domain a hypoxic switch. *Science.* 2002;295:858–61.
 31. Mansfield KD, Guzy RD, Pan Y, Young RM, Cash TP, Schumacker PT, et al. Mitochondrial dysfunction resulting from loss of cytochrome c impairs cellular oxygen sensing and hypoxic HIF-1alpha activation. *Cell Metab.* 2005;1:393–9.
 32. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J, Dellamonica P, Gouin F, Lepoutre A, et al. French ICU Group for Severe Sepsis. Incidence, risk factors, and outcome of severe sepsis and septic shock in adults. A multicenter prospective study in intensive care units. *JAMA.* 1995;274:968–74.
 33. Schumacker PT. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Crit Care Med.* 2005;33:S423–5.
 34. Cramer T, Yamanishi Y, Clausen BE, Forster I, Pawlinski R, Mackman N, et al. HIF-1alpha is essential for myeloid cell-mediated inflammation. *Cell.* 2003;112:645–57.
 35. Kim JW, Tchernyshyov I, Semenza GL, Dang CV. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: A metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metab.* 2006;3:177–85.
 36. Fukuda R, Zhang H, Kim JW, Shimoda L, Dang CV, Semenza GL. HIF-1 regulates cytochrome oxidase subunits to optimize efficiency of respiration in hypoxic cells. *Cell.* 2007;129:111–22.
 37. Blouin CC, Page EL, Soucy GM, Richard DE. Hypoxic gene activation by lipopolysaccharide in macrophages: Implication of hypoxia-inducible factor 1alpha. *Blood.* 2004;103:1124–30.
 38. Frede S, Stockmann C, Freitag P, Fandrey J. Bacterial lipopolysaccharide induces HIF-1 activation in human monocytes via p44/42 MAPK and NF-kappaB. *Biochem J.* 2006;396:517–527.
 39. Kim HY, Kim YH, Nam BH, Kong HJ, Kim HH, Kim YJ, et al. HIF-1alpha expression in response to lipopolysaccharide mediates induction of hepatic inflammatory cytokine TNF alpha. *Exp Cell Res.* 2007;313:1866–76.
 40. Peyssonnaud C, Cejudo-Martín P, Doedens A, Zinkernagel AS, Johnson RS, Nizet V. Cutting edge: Essential role of hypoxia inducible factor-1alpha in development of lipopolysaccharide-induced sepsis. *J Immunol.* 2007;178:7516–19.
 41. Lukashev D, Klebanov B, Kojima H, Grinberg A, Ohta A, Berenfeld L, et al. Cutting edge: Hypoxia-inducible factor 1alpha and its activation-inducible short isoform I.1 negatively regulate functions of CD4+ and CD8+ T lymphocytes. *J Immunol.* 2006;177:4962–5.
 42. Thiel M, Caldwell CC, Kreth S, Kuboki S, Chen P, Smith P, et al. Targeted deletion of HIF-1alpha gene in T cells prevents their inhibition in hypoxic inflamed tissues and improves septic mice survival. *PLoS One.* 2007;2:e853.