



Revista Colombiana de Anestesiología

Colombian Journal of Anesthesiology

www.revcolanest.com.co



Reflexión

La ketamina mejora la supervivencia en ratas con quemaduras severas vía la expresión de la proteína de choque térmico 70, ¿cerca o lejos de la perspectiva clínica?

Zulma Dueñas*

Profesora Asociada, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, DC, Colombia

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 17 de junio de 2013

Aceptado el 17 de septiembre de 2013

On-line el 22 de octubre de 2013

Palabras clave:

Ketamina

Quemaduras

Proteínas de choque térmico

Analgesia

Sobrevivencia

R E S U M E N

El presente comentario o escrito de reflexión tiene por objetivo señalar, en el artículo de investigación titulado «Ketamine improves survival in severe burn injury in rats via the expression of heat shock protein 70», algunos aspectos que, sin pretender demeritar el trabajo de los investigadores, pudieran ser tenidos en cuenta a futuro, en aras de implementar posteriormente diseños experimentales que puedan contribuir de la mejor forma a fortalecer el vínculo entre la investigación biomédica básica y la clínica. Esta reflexión es de carácter netamente constructivo, procurando motivar en cada uno de quienes de una u otra manera mantienen un vínculo con la investigación, el desarrollo de un mejor análisis y propuesta de diseño experimental que permita proyectar resultados obtenidos en modelos animales, hacia una aplicabilidad clínica, manteniendo un número reducido de sujetos de trabajo, sin con ello quitarle validez a un estudio y buscando aprovechar de la mejor manera el ente de experimentación y el vínculo de la investigación básica con la clínica. En efecto, las pautas éticas emitidas por el Council for International Organizations of Medical Sciences, en su aparte referido a la experimentación con animales, instan en que la validez de un estudio permite mantener al mínimo el número de animales a utilizarse en un experimento. El artículo sobre el cual se hace esta reflexión fue publicado por Zhang Meng-yuan y colaboradores y se concluye que la terapia con ketamina mejora la supervivencia en heridas con quemaduras severas vía la expresión de proteínas de choque térmico en miocardio y cerebro.

© 2013 Sociedad Colombiana de Anestesiología y Reanimación. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Ketamine improves survival in severe burn injury in rats via the expression of heat shock protein 70, far or close to the clinical perspective?

A B S T R A C T

The purpose of this reflection or commentary is not to demerit the efforts of the researchers, but rather to highlight some aspects that should be taken into account in the future for implementing experimental designs that may potentially contribute to strengthen the links

Keywords:

Ketamine

Burns

* Autora para correspondencia: Carrera 45 n.º 44-21, Etapa II, Torre 5, apto. 803, Bogotá, D.C., Colombia.

Correos electrónicos: zjduenasg@unal.edu.co, zujadugo@gmail.com

Heat-Shock Proteins
Analgesia
Survivorship

between basic biomedical and clinical research, referring to the research article entitled Ketamine improves survival in severe burn injury in rats via the Expression of Heat Shock Protein 70. This is a purely constructive reflection aimed at encouraging those who are one way or other involved in research, to develop a more comprehensive analysis and a proposal for an experimental design that enables the extrapolation of the results from animal models to a clinical application, with a limited number of subjects but preserving the validity of the trial, in addition to making the best possible use of the experimental subjects and of there lationship between basic and clinical research. In fact, the ethical guidelines issued by the Council for International Organizations of Medical Sciences, in its chapter on animal experiments emphasize that the validity of a trial allows for using the minimum number of animals in an experiment. The article that makes reference to this matter was published by Zhang Meng-yuan et al., and concludes that Ketamine therapy improves the survival of patients with severe burn injuries via the expression of heat shock proteins in the heart and the brain.

© 2013 Sociedad Colombiana de Anestesiología y Reanimación. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

La ketamina es un anestésico disociativo no barbitúrico que induce sedación rápida y profunda, anestesia y analgesia y tiene un amplio rango de usos y efectos en humanos. La utilización de la ketamina como anestésico se inició a mediados de la década de los sesenta¹, no obstante, en la actualidad la ketamina tiene una gran variedad de usos. Dentro de las otras aplicaciones frecuentes de la ketamina está como tratamiento para la depresión^{2,3}, dada su alta afinidad como antagonista del receptor ionotrópico N-metil D-aspartato (NMDA); en pacientes depresivos se evidencia mejora de los síntomas inclusive un día después del tratamiento con ketamina^{4,5}. Otra de la aplicaciones de la ketamina es en el tratamiento del asma; se ha propuesto que la ketamina puede liberar el broncoespasmo en niños con asma que no responden al tratamiento tradicional⁶, si bien los autores concluyen que para probar que la ketamina es eficaz en el tratamiento del asma aguda en niños es necesario implementar ensayos aleatorios con suficiente poder estadístico y una buena metodología, así como explorar diferentes dosis de ketamina y su papel en los niños que necesitan ventilación por asma aguda grave. Dentro de las posibles aplicaciones del uso de la ketamina, otros estudios la proponen como agente reductor de mortalidad y reductor del dolor en modelos animales y en humanos, cuando los sujetos han sufrido quemaduras de tercer grado⁷⁻¹⁰, propuesta que varios autores validan debido a las propiedades que tiene la ketamina como antiinflamatorio y a sus efectos sobre la inducción de la expresión de las proteínas de respuesta al choque térmico (HSP). En efecto, en el artículo sobre el cual se hace esta reflexión se concluye que la terapia con ketamina mejora la sobrevivencia en heridas con quemaduras severas vía la expresión de proteínas de choque térmico en miocardio y cerebro¹¹, conclusión que debe ser tomada con bastante precaución, teniendo en cuenta aspectos que se detallarán más adelante.

Las HSP son una familia de moléculas chaperonas cuya expresión si bien es ubicua y altamente conservada en la escala evolutiva¹⁰. La expresión de las HSP está regulada por diversos eventos estresores, principalmente los que implican choque térmico; así las HSP contribuyen a proteger las células de este y otros tipos de estrés como el proteotóxico¹⁰. Basándose en sus funciones, las HSP generalmente se clasifican

en 6 familias: 1) HSP20 o sHSP, proteínas; 2) HSP40 o clase J; 3) HSP60 o GroEL/ES; 4) HSP70; 5) HSP90, y 6) HSP100¹². El mal funcionamiento de estas proteínas puede contribuir a diversos trastornos a lo largo de la vida, como el Parkinson, las enfermedades cardiovasculares y el Alzheimer, entre otras. Estas proteínas también se han asociado con longevidad; la inducción de HSP en el envejecimiento potencialmente podría mantener la longevidad por re-plegamiento de las proteínas dañadas que se acumulan durante la senectud y que son tóxicas para las células. En modelos como el *Caenorhabditis elegans* se ha observado que la sobreexpresión de HSP aumenta la vida útil porque disminuye la proteotoxicidad¹³. Así, la disminución de HSP en el envejecimiento se asocia con la interrupción de la homeostasis celular que causa enfermedades como el cáncer, la senescencia celular y la neurodegeneración. En general, los niveles de HSP disminuyen con la edad en la mayoría de los órganos, incluyendo las neuronas. El envejecimiento también causa atenuación o alteración de muchas vías de señalización, así como la expresión de factores de transcripción como los factores de choque de calor (HSF)¹³.

La función más estudiada de las proteínas de choque térmico está relacionada con su participación como chaperonas moleculares para la prevención de interacciones no deseadas entre polipéptidos no plegados durante su síntesis o transporte, previniendo de agregaciones irreversibles entre las proteínas, evitando mal plegamientos o desnaturalización^{14,15}. Sin embargo, existen evidencias que relacionan estas proteínas con diversos eventos celulares que incluyen su participación en respuesta inmune¹⁶; las HSP de fuentes intracelulares o extracelulares pueden actuar como inmunomoduladores y pueden aliviar los síntomas de enfermedades inflamatorias. También se ha visto que hay sobreexpresión de HSP en varios tipos de cáncer y que son necesarias para la progresión del tumor, hecho que las convierte en dianas terapéuticas¹⁷. Finalmente, se han reportado efectos citoprotectores de las proteínas de choque térmico en lesiones ocasionadas por quemaduras¹⁸⁻¹⁹, y teniendo en cuenta los reportes sobre el efecto de la ketamina en la inducción de proteínas de choque térmico, particularmente HSP70, es justamente esta relación la que fundamenta el trabajo publicado en el artículo sobre el cual se hace la siguiente reflexión¹¹.

En el estudio publicado por Zhang Meng-yuan, Wang Gong-ming, Li Fang-lin, Dong Ling, Xu Yan-bing, Chiang Joseph-S, titulado: «Ketamine improves survival in severe burn injury in rats via the expression of heat shock protein 70»¹¹, los autores diseñan un experimento para demostrar que la ketamina mejora la supervivencia de sujetos con quemaduras de tercer grado, vía el incremento de la expresión de la proteína de choque térmico hsp70. El artículo genera conocimiento importante, pero aún falta complementar con otros experimentos, con el fin de fundar las bases suficientes y válidas para continuar con la aplicación clínica, sugerida por los investigadores.

Pese a que los autores utilizan una dosis de 40 mg/kg de ketamina inyectada 15 min después de la lesión, no queda claro cuál fue la razón de utilizar esta dosis ni ese tiempo, teniendo en cuenta que en otros artículos se ha reportado la utilización de dosis diferentes y tiempos distintos²⁰⁻²³. Los investigadores Carr y Farbman²⁰, por ejemplo, administran 9 mg/kg y logran evidenciar un incremento de esta proteína (hsp70) en la mucosa olfatoria, mientras que Xiao et al.²¹ demuestran el efecto de la ketamina sobre el choque séptico inyectando 80 mg/kg 20 min antes y 40 mg/kg una hora después de la alteración. Otro estudio reportado por Liao et al.²² señala que, en ratas adultas, dosis de ketamina que van desde 20 mg/kg hasta 120 mg/kg incrementan la expresión de hsp70 en las neuronas del hipocampo, estudio en el cual señalan que este efecto es menos notorio en ratas jóvenes. Con base en estos antecedentes, los autores hubieran podido discutir la razón la escogencia de la dosis, pero sigue en cuestión la decisión del tiempo de inyección. Si bien es cierto en los modelos animales se busca desarrollar y estudiar posibles formas de tratamiento, inyectar la ketamina 15 min después de la lesión tiene mínima aplicabilidad; evidentemente, en promedio, un sujeto quemado no logra tener asistencia médica en un tiempo tan corto, y probablemente, tal como lo discuten los autores con base en lo demostrado por Gurfinkel et al.²³, tampoco se vería efecto si la ketamina fuera inyectada una hora después. En este sentido, y con base en la literatura, los autores debieron considerar un tiempo promedio que permitiera proyectar una aplicabilidad del tratamiento de tal forma que inclusive el número de sujetos utilizados hubiera podido reducirse; en efecto, el análisis a las 3 h no hubiese sido necesario, como se observa en las imágenes de los western blots de las figuras 2 y 3, y por el contrario, congruente con los lineamientos de CIOMS, hubiera sido posible reducir la cantidad de sujetos, manteniendo la validez de los resultados²⁴. Si se hubiese planeado de forma un poco más aplicada, intervalos de 20, 30 y 40 minutos, habrían aportado información acerca del efecto de la inducción por ketamina de HSP70 bajo estas condiciones, que podrían acercarse al margen de tiempo de llegada de un individuo con quemaduras a un centro de asistencia. Acorde con la conclusión a la que llegan los autores, bajo las condiciones del experimento la inyección de ketamina mejora la supervivencia en sujetos con quemaduras de tercer grado, efecto que pudiera estar mediado por la acción de la hsp70, expresión que fue evaluada en miocardio y tejido cerebral. Empero, se requieren muchos más experimentos antes de proponer una aproximación terapéutica y su probable uso en la clínica. De hecho, la evaluación de la respuesta en el área lesionada y el registro comportamental de los individuos, los efectos sobre la

salivación, entre otros muchos análisis que se pudieran realizar, contribuirían significativamente a lo ya reportado. Más aún, la comparación de las respuestas obtenidas a partir de la realización de todos los experimentos con sujetos de corta edad aportaría conocimiento relevante para todos los ámbitos, dado que en efecto el porcentaje de hospitalizados por quemaduras es mucho mayor en niños con relación a los adultos. Es importante recordar que las respuestas de un individuo en desarrollo, de un joven y de un adulto, ante una intervención, difieren notablemente. Finalmente, cabe enfatizar que tanto la investigación biomédica básica como la utilización de modelos animales son fundamentales para la generación de conocimiento; sin embargo, el futuro de la ciencia biomédica está en la investigación traslacional, de tal forma que mantener en perspectiva de aplicabilidad clínica las investigaciones básicas fortalecería el vínculo de la investigación básica con la clínica.

Un claro ejemplo de la prudencia en la discusión de los resultados y la aplicabilidad de los mismos es el artículo publicado por los investigadores Jat y Chawla⁶, quienes en la conclusión, aclarando las limitaciones de su estudio, hacen énfasis en que para probar que la ketamina es un tratamiento eficaz para el asma aguda en niños son necesarios estudios a futuro en los que se exploren diferentes dosis, estudios aleatorizados y estudios con suficiente poder estadístico. Ese es un claro ejemplo de la necesidad de autocrítica en el trabajo que se publica, donde se reconozcan las limitaciones y las debilidades del estudio, antes de proyectar una aplicabilidad clínica. En este mismo sentido, otro ejemplo de reconocimiento de las limitaciones de un artículo es el trabajo publicado por Norambuena et al.⁸, donde el objetivo del artículo era comparar la eficacia del midazolam oral y la ketamina con midazolam oral, acetaminofén y codeína en el suministro de sedación y analgesia para procedimientos de atención de heridas en niños con quemaduras. En este reporte los autores concluyen que la combinación de midazolam oral y ketamina proporciona mejor analgesia que la combinación de midazolam, acetaminofén y codeína para procedimientos dolorosos en niños quemados. Sin embargo, claramente explican que una de las limitaciones de su estudio es el escaso número de pacientes, y sugieren aumentar el número de pacientes antes de proponerlo como protocolo en la práctica clínica. Otra muestra del cuidado con el que se deben sacar las conclusiones de un estudio está en la conclusión a la que llegan McGuinness et al.²⁵ en una revisión sistemática que realizan sobre la ketamina como un agente analgésico en adultos lesionados por quemaduras, y en el cual los autores reconocen que aunque la ketamina intravenosa se utiliza con frecuencia en la práctica como un analgésico en heridas por quemaduras, sobre la base de los datos de dicha revisión sistemática consideran que no hay pruebas suficientes para hacer recomendaciones definitivas para su uso en clínica.

El reconocimiento de las limitaciones y la aplicabilidad o no de los resultados de un resultado experimental no solo confiere valor realista al trabajo desarrollado, sino que proporciona información válida para futuras propuestas. De ninguna manera la generación de conocimiento debe estar fundamentada en la aplicabilidad de los resultados en un contexto clínico, por eso sin duda alguna en la mayoría de los casos no se proyectan los resultados obtenidos de un trabajo experimental

con su inmediata aplicabilidad. Sin duda ese sería un éxito total, pero no siempre es posible lograrlo.

Como ya se mencionó, la investigación traslacional busca fortalecer los vínculos entre la investigación biomédica básica con la investigación clínica, fundamentalmente para poder diseñar experimentos cuyos resultados pudieran dar aplicabilidad clínica. La mejor manera de lograr este vínculo es sin duda discutir entre investigadores básicos y clínicos la mejor estrategia para fortalecer el diseño experimental, identificar la metodología óptima y generar resultados con significación y poder estadístico que permitan dar el siguiente paso para después formalizar un protocolo de resolución clínica.

Efectivamente, estudios como el reportado por Zhang et al. contribuyen a la generación de conocimiento y tienen resultados promisorios, pero muy seguramente con un mejor diseño y un reconocimiento de fortalezas y debilidades se obtendrían resultados que probablemente podrían ser tomados en cuenta para una posible aplicabilidad.

Financiación

Recursos de los autores.

Conflicto de intereses

La autora declara no tener ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS

- Domino EF, Chodoff P, Corssen G. Pharmacologic effects of CI-581, a new dissociative anesthetic in man. *Clin Pharmacol Ther.* 1965;6:279-90.
- Howland RH. Ketamin for the treatment of depression. *J Psychosoc Nurs Ment Health Serv.* 2013;51:11-4.
- Murrough JW. Ketamine as a novel antidepressant: From synapse to behavior. *Clin Pharmacol Ther.* 2012;91:303-9.
- Zarate CA Jr, Mathews D, Ibrahim L, Chaves JF, Marquardt C, Ukoh I, et al. A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Arch Gen Psychiatry.* 2006;63:856-64.
- Murrough JW, Perez AM, Pillemer S, Stern J, Parides MK, Aghajanian R, et al. Rapid and longer-term antidepressant effects of repeated ketamine infusions in treatment-resistant major depression. *Biol Psychiatry.* 2013;74:250-6. DOI:10.1016/j.biopsych.2012.11.022.
- Jat KR, Chawla D. Ketamine for management of acute exacerbations of asthma in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2012;11:1-20.
- Neder Meyer T, Lázaro da Silva A. Ketamine reduces mortality of severely burnt rats, when compared to midazolam plus fentanyl. *Burns.* 2004;30:425-30.
- Norambuena C, Yañez J, Flores V, Puentes P, Carrasco P, Villena R. Oral ketamine and midazolam for pediatric burn patients: A prospective, randomized, double-blind study. *J Pediatr Surg.* 2013;48:629-34.
- Kundra P, Velayudhan S, Krishnamachari S, Gupta SL. Oral ketamine and dexmedetomidine in adults' burns wound dressing—A randomized double blind cross over study. *Burns.* 2013;39:1150-6, 3.
- Reich DL, Silvey G. Ketamine: An update on the first twenty-five years of clinical experience. *Can J Anaesth.* 1989;36:186-97.
- Meng-yuan Z, Gong-ming W, Fang-lin L, Ling D, Yan-bing X, Joseph-S C. La ketamina mejora la sobrevida en lesión por quemadura severa en ratas, a través de la expresión de la proteína de choque 70. *Rev Colomb Anestesiología.* 2013;41:82-7.
- Murshid A, Eguchi T, Calderwood SK. Stress proteins in aging and life span. *Int J Hyperthermia.* 2013;29:442-7.
- Feng PM, Chen W, Lin H, Chou KC. iHSP-PseRAAAC: Identifying the heat shock protein families using pseudo reduced amino acid alphabet composition. *Anal Biochem.* 2013;442:118-25.
- Vidal Magalhães W, Gouveia Nogueira MF, Kaneko TM. Heat shock proteins (HSP): Dermatological implications F perspectives. *Eur J Dermatol.* 2012;22:8-13.
- Richter K, Haslbeck M, Buchner J. The heat shock response: Life on the verge of death. *Mol Cell.* 2010;40:253-66.
- Van Noort JM, Bsibsi M, Nacken P, Gerritsen WH, Amor S. The link between small heat shock proteins and the immune system. *Int J Biochem Cell Biol.* 2012;44:1670-9.
- Murphy ME. The HSP70 family and cancer. *Carcinogenesis.* 2013;34:1181-8.
- White DJ, Carlson D, Ordway GA, Horton JW. Protective role of heat stress in burn trauma. *Crit Care Med.* 2004;32:1338-45.
- Rodeberg DA, Meyer JG, Babcock GF. Heat shock response: Presence and effects in burn patient neutrophils. *J Leukoc Biol.* 1999;66:773-80.
- Carr VM, Farbman AL. Effect of ketamine on stress protein immunoreactivities in rat olfactory mucosa. *J Psychosoc Nurs Ment Health Serv Neuro Report.* 1993;5:197-200.
- Xiao H, Xu HW, Liu H, Zhang L. Effect of ketamine on endotoxin-induced septic shock in rats and its mechanism. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* 2007;19:303-5.
- Liao R, Wang QY, Zhang L, Xiao H. Expression of HSP70 induced by ketamine in the hippocampus of rat at different ages. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2004;35:492-5.
- Gurfinkel R, Czeiger D, Douvdevani A, Shapira Y, Artru AA, Sufaro Y, et al. Ketamine improves survival in burn injury followed by sepsis in rats. *Anesth Analg.* 2006;103:396-402.
- Howard-Jones NA. CIOMS ethical code for animal experimentation. *WHO Chronicle.* 1985;39:51-6.
- McGuinness SK, Wasiak J, Cleland H, Symons J, Hogan L, Hucker T, et al. A systematic review of ketamine as an analgesic agent in adult burn injuries. *Pain Med.* 2011;12:1551-8.