

# EFECTO DE LA INTERFERENCIA DEL microRNA mir27a-5p SOBRE LA RESPUESTA INFLAMATORIA INDUCIDA POR LA VENTILACIÓN MECÁNICA EN UN MODELO EXPERIMENTAL *EX VIVO* DE DAÑO ALVEOLAR DIFUSO



B. De Olaiz Navarro, A.J. Ferruelo Alonso, R. Herrero Hernández, L. Prados, A.E. Ballén Barragan, J.L. Bravo Bravo, J.A Lorente Balanza

Hospital Universitario de Getafe. Universidad Europea de Madrid. CIBER de Enfermedades Respiratorias



## INTRODUCCIÓN

- El síndrome del distrés respiratorio agudo (SDRA) está asociado a una elevada mortalidad y su diagnóstico se suele realizar de forma tardía. Su correlato histológico es el Daño Alveolar Difuso (DAD).
- La ventilación mecánica, es un factor de riesgo.
- No existe un biomarcador para poder realizar diagnóstico precoz.
- En estudios previos hemos demostrado que la expresión de miRNA 27a-5p (miR) está asociada a DAD en un modelo experimental *in vivo* y en pacientes, pudiéndose modular en células alveolares humanas *in vitro*.

## OBJETIVOS

- Valorar si es posible modular la expresión del miR en un modelo de daño pulmonar inducido por ventilación mecánica, ventilado y perfundido *ex vivo*.
- Determinar el efecto de la interferencia del miR sobre la respuesta inflamatoria y el daño tisular pulmonar en este modelo.

## miRNA

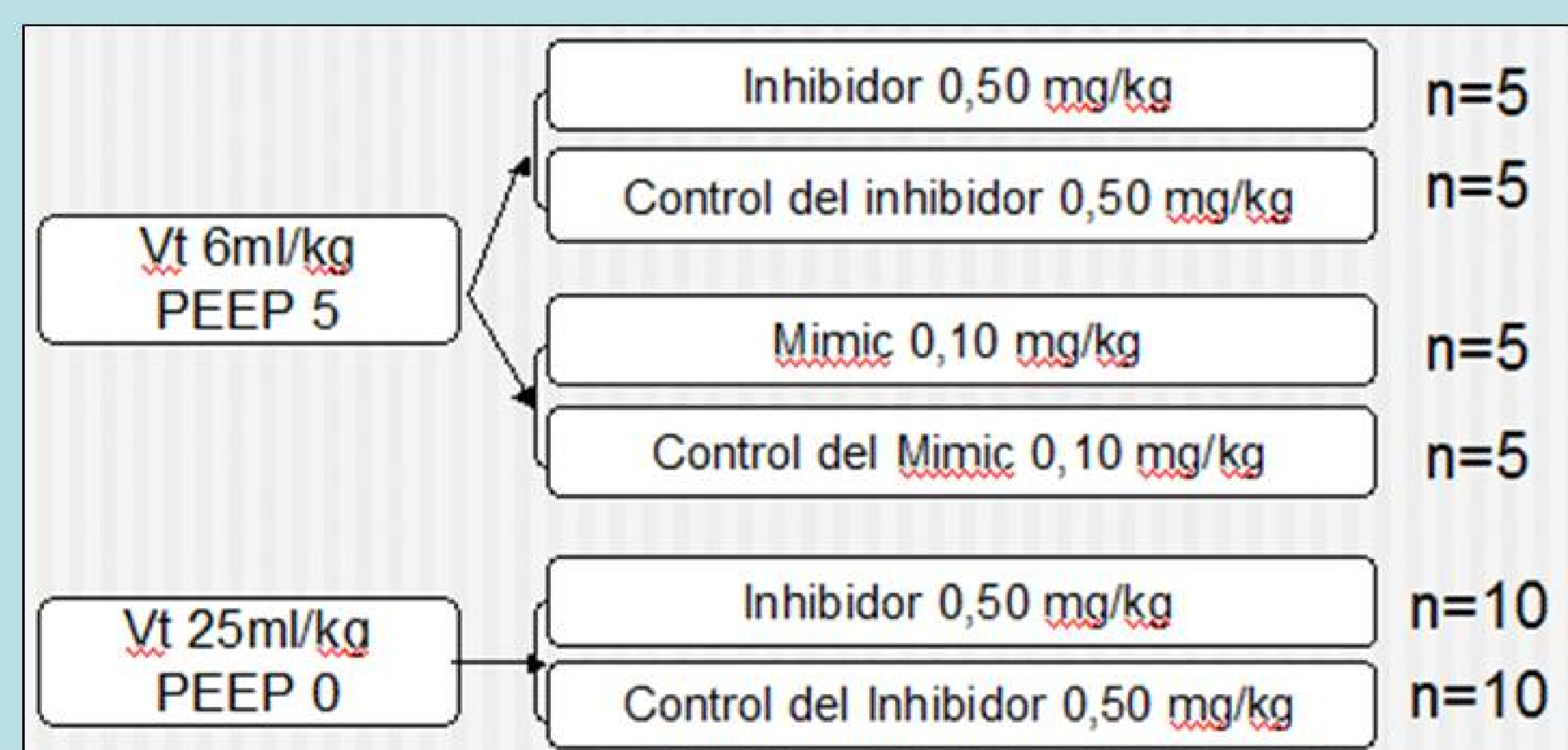
- Moléculas cortas (19-24 nucleótidos) de RNA no codificante
- Regulan la expresión génica de numerosas dianas importantes en la función celular
- Marcadores de riesgo de padecer enfermedades y predecir respuesta a tratamientos

## MATERIAL Y MÉTODOS

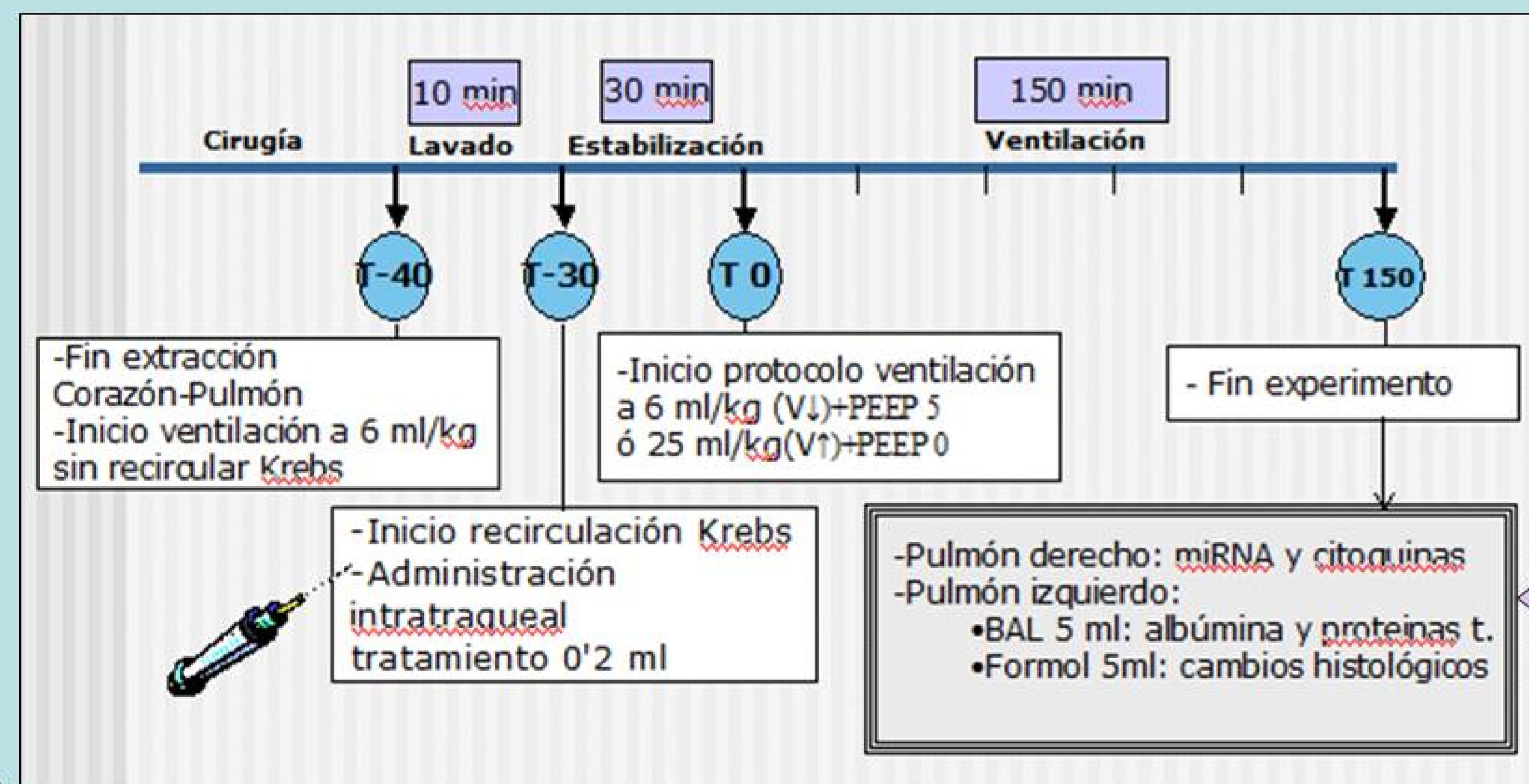
### Grupos experimentales



40 ratas adultas (macho, Sprague-Dawley de 325-375 g) anestesiadas y sacrificadas mediante exanguinación

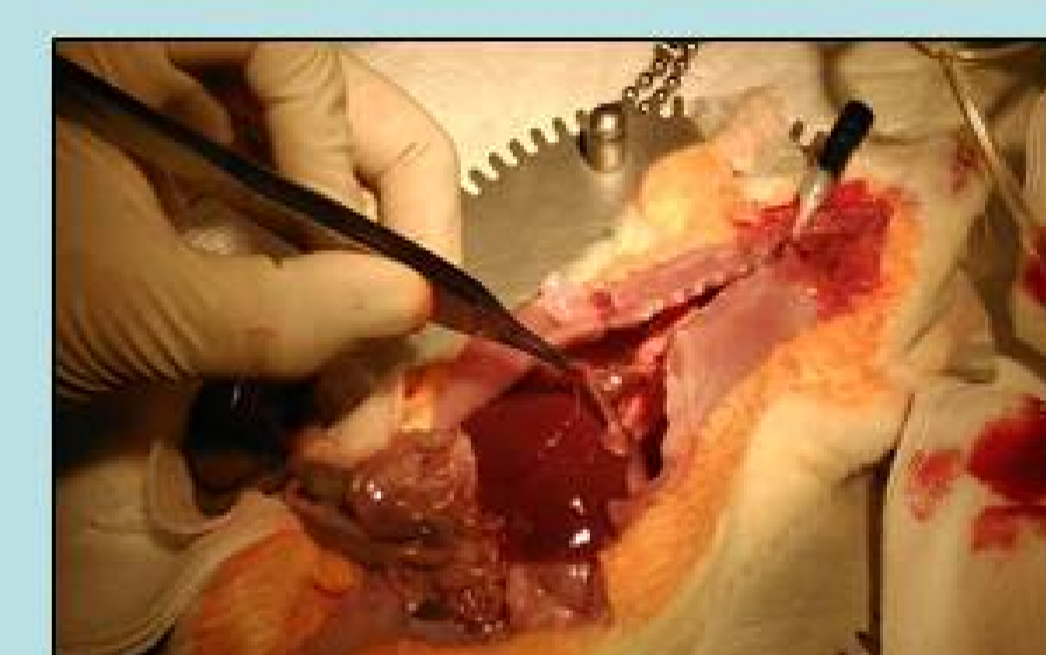


### Procedimiento



### Modelo experimental *ex vivo*

- ✓ Anestesia y analgesia intraperitoneal:
  - Ketamina (90mg/kg) +Diazepam (5mg/kg)
  - Fentanilo (0.01mg)
- ✓ Canular carótida y heparinizar (500UI/100g)
- ✓ Traqueostomía y exanguinar
- ✓ Laparotomía y Esternotomía media
- ✓ Disección en bloque a. Pulmonar-aorta
- ✓ Canular arteria pulmonar y aurícula izquierda
- ✓ Inicio perfusión-ventilación
- ✓ Extracción bloque corazón-pulmón
- ✓ Perfusión con solución Krebs modificada con 4% albúmina y burbujeada con carbógeno (5%CO2 y 20%O2)



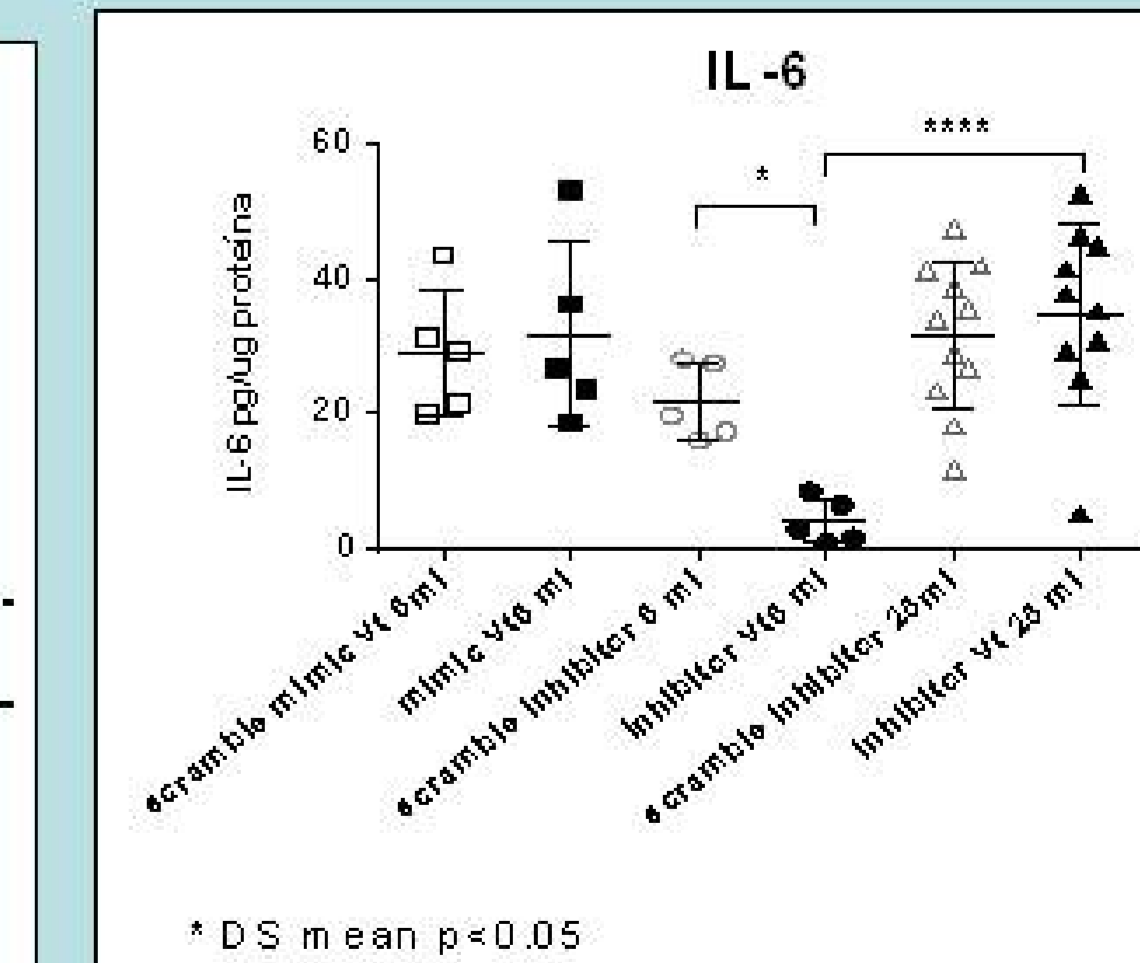
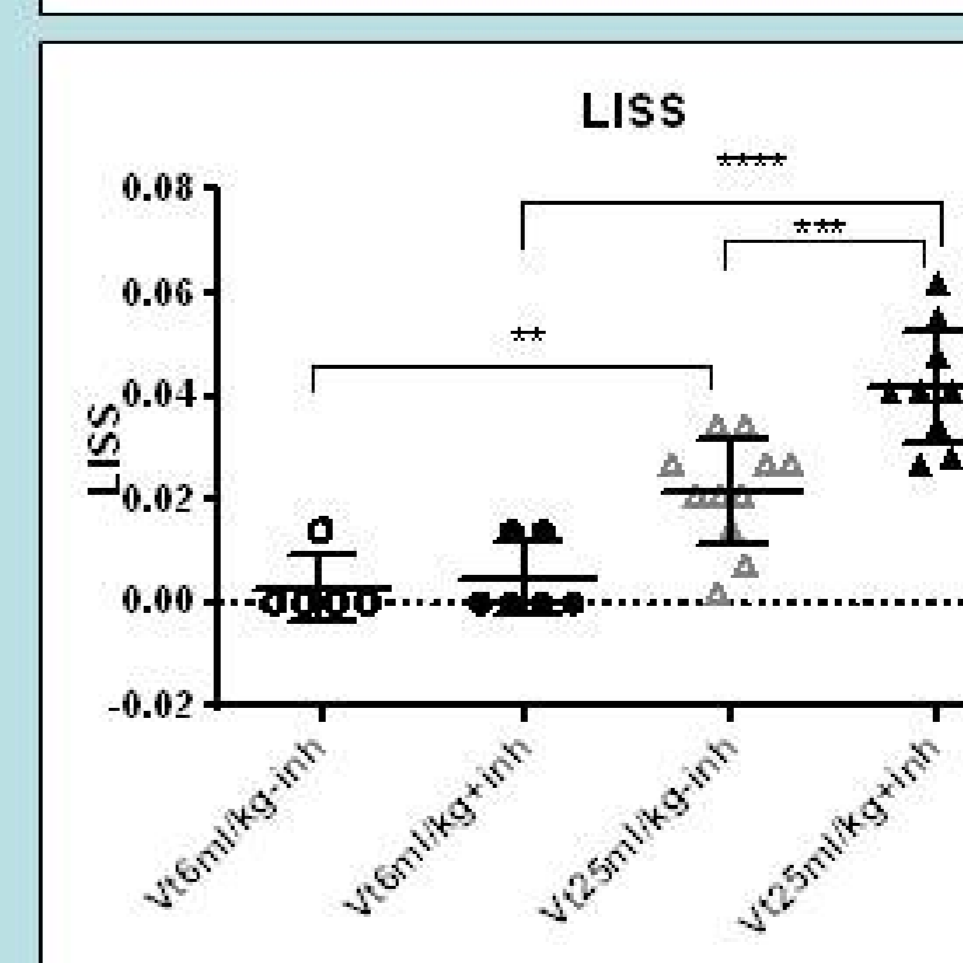
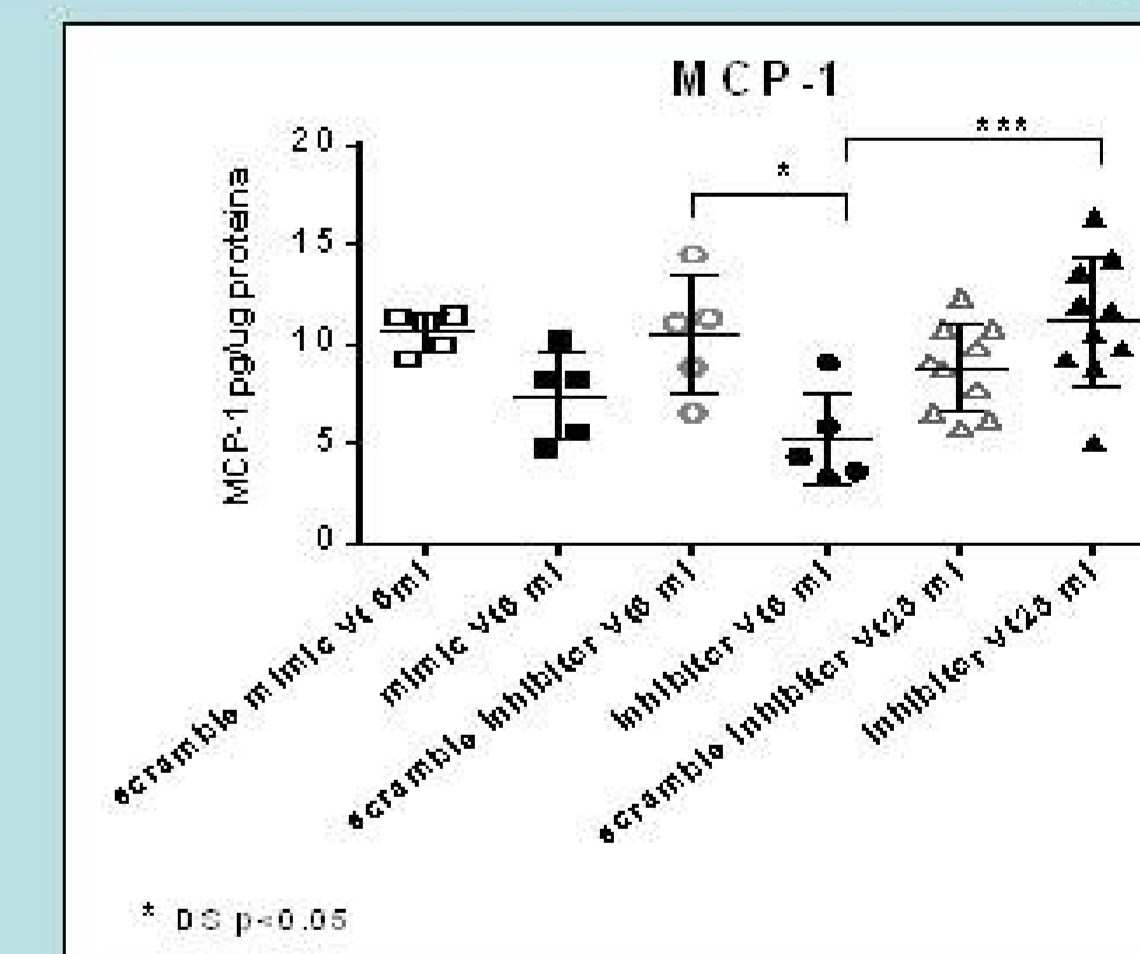
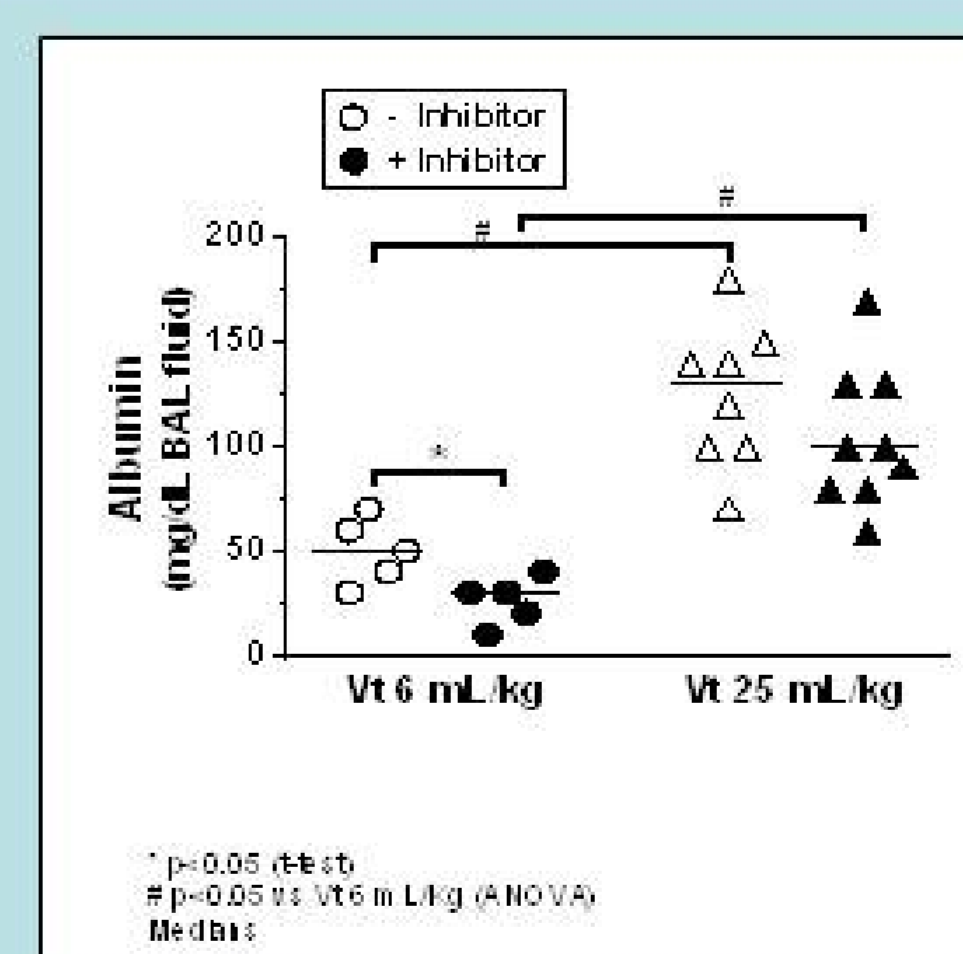
### DETERMINACIONES

- Pulmón derecho (-80°):
  - miRNA27a5p (rt-PCR)
  - Citoquinas -IL-6, CXCL1, MCP1- (ELISA)
- Pulmón izquierdo:
  - BAL (-80°): albúmina y proteínas totales
  - Cambios histológicos (LISS)

## RESULTADOS

- La expresión del miR disminuye tras la administración de su inhibidor en ventilación con VB (Vt 6ml/kg) ó VA (Vt 25 ml/kg).
- La ventilación con VA causa una elevación de la concentración de albúmina en BAL, y en menor medida, de proteínas totales (incremento de permeabilidad), junto con daño histológico, compatible con DAD.
- La administración de inhibidor del miR atenúa el incremento de albúmina en el grupo con VB y disminuye significativamente las citoquinas MCP1 e IL6 en el pulmón.
- Por el contrario, la inhibición del miR en el VA tiende a elevar las tres citoquinas (no de forma significativa) y aumenta el daño histológico.

LISS: Lung Injury Scoring System



## CONCLUSIONES

- Es posible modular la expresión del miRNA 27a5p en un modelo de DAD *ex vivo*.
- Para poder valorar el efecto sobre la respuesta inflamatoria que produce la interferencia mediante inhibidor del miR, es preciso tener en cuenta la magnitud del daño pulmonar inducido por el modelo.

