

# Óxido nítrico inhalado en el síndrome de distrés respiratorio experimental del adulto

Irene Rovira Canudas

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

UNIVERSIDAD DE BARCELONA  
DIVISIÓ DE CIENCIAS DE LA SALUD  
FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Cirugía y Especialidades Quirúrgicas

***OXIDO NITRICO INHALADO EN EL  
SINDROME DE DISTRES  
RESPIRATORIO EXPERIMENTAL  
DEL ADULTO***

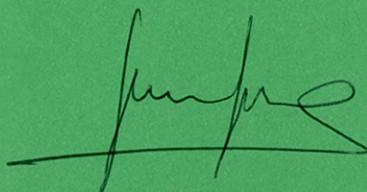
Trabajo realizado para optar al Grado de Doctor en Medicina y  
Cirugía por:

**IRENE ROVIRA CANUDAS**

Directora: **Prof. Carmen Gomar Sancho**  
Departamento de Cirugía y Especialidades  
Quirúrgicas. Facultad de Medicina.  
Universidad de Barcelona.

Co-Director: **Prof. Warren M. Zapol**  
Anaesthesia Department, Massachusetts  
General Hospital. Harvard Medical School

*Barcelona, mayo 1994*





UNIVERSITAT DE BARCELONA

Casanova, 143  
08036 Barcelona

Divisió de Ciències de la Salut

Facultat de Medicina

Departament de Cirurgia i  
Especialitats Quirúrgiques

**Carmen Gomar Sancho, Profesora Titular de Anestesiología y Reanimación del Departamento de Cirugía y Especialidades Quirúrgicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona,**

**Certifica: que el trabajo titulado " Oxido Nítrico Inhalado en el Síndrome de Distrés Respiratorio Experimental del Adulto" ha sido realizado, bajo mi dirección, por Dña. Irene Rovira Canudas para optar al Grado de Doctor en Medicina y Cirugía.**

Para que así conste firmo el siguiente certificado en Barcelona, a veintinueve de Abril de mil novecientos noventa y cuatro.





Anesthetist-in-Chief  
Massachusetts General Hospital  
Boston, Massachusetts 02114 U.S.A.  
(617) 726-3030  
FAX (617) 726-3032



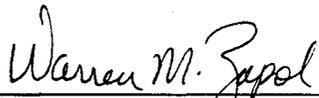
WARREN M. ZAPOL, M.D.  
Reginald Jenney Professor  
of Anaesthesia

4-19-94

C E R T I F I C A T I O N

I, Dr. Warren M. Zapol, Reginald Jenney Professor of Anaesthesia, Harvard Medical School and Massachusetts General Hospital, Boston, MA, hereby certify to the following:

The experimental work of the doctoral thesis presented by Dr. Irene Rovira Canudas, of Barcelona, Spain, entitled "Inhaled Nitric Oxide in an Experimental Model of Adult Respiratory Distress Syndrome" was performed in my research laboratory, under my direction at Massachusetts General Hospital.

  
\_\_\_\_\_  
Warren M. Zapol, M.D.



*" A man can do wat he wants, but not want what he wants "*

*Arthur Schopenhauer, 1860*

*"Seventy-one percent of the 82 Nobel prizes for Physiology or Medicine awarded between 1901 and 1982 were given for research that depended on studies with animals"*

*Leader RW and Stark D. The importance of animals in biomedical research. Persp Biol Med 1987;30:470-85.*

*A la meva família*



El trabajo de investigación, tema de esta Tesis, ha estado financiado por las siguientes becas: Permiso Retribuido para Ampliación de Estudios al Extranjero del Hospital Clínic de Barcelona, National Heart, Lung, and Blood Institute Grant (HL-42397) y American Heart Association Grant.



## ***AGRADECIMIENTOS***



Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que me han ayudado en la elaboración de esta tesis:

A la directora de la Tesis **Carmen Gomar**, Profesora Titular de Anestesiología y Reanimación de la Universidad de Barcelona, por el entusiasmo y dedicación que ha puesto en la dirección de esta tesis.

Al profesor **Warren M. Zapol**, Jenny Professor of Anaesthesia de la Harvard Medical School, Codirector de esta Tesis y director del Trabajo de Investigación, por acogerme calurosamente en su laboratorio y proporcionarme toda clase de facilidades para la realización de este trabajo y sobre todo por despertar en mi la pasión por la investigación básica .

Al profesor **Miguel Angel Nalda**, Jefe del Departamento de Anestesiología y Reanimación del Hospital Clínic de Barcelona, por sus consejos y constante interés durante la elaboración de esta tesis.

Al profesor **Robert Rodríguez-Roisin** y en especial al profesor **Antoni Torres**, del Servicio de Neumología del Hospital Clínic de Barcelona, porque con su apoyo hicieron posible mi estancia en el Laboratorio donde se realizó esta tesis.

A los *fellows* del Anaesthesia Research Laboratory del Massachusetts General Hospital de Boston donde se realizó la parte experimental de esta tesis: en especial al **Dr. Tong Yan Chen**, por todas sus enseñanzas, dedicación y ayuda durante mis inicios en el laboratorio, a la **Dra. Marianne Winkler**, por su ayuda durante la realización de la parte experimental, al **Dr. Akito Shiramuschi** y a la **Dra. Noriko Kawai**, por su inestimable ayuda en las técnicas de radioinmunoensayo, al **Dr. Patrick Dupuy** por sus interesantes discusiones sobre el tema de esta tesis y a la **Dra. Khiunh-Han Kim**, por su amistad y apoyo.



Al Dr. **Jesse D. Roberts**, del Departamento de Anestesiología del Massachusetts General Hospital de Boston, por su amistad y ayuda en la corrección del trabajo experimental y al Dr. **Kenneth D. Bloch**, del Departamento de Cardiología del Massachusetts General Hospital de Boston, por poner a mi disposición su laboratorio de biología molecular.

A **Elizabeth Greene** y a **Melahat Kavosi**, Técnicas de Laboratorio, por su ayuda técnica durante la realización de los experimentos.

A **Kevin Staneck**, Ingeniero del Anesthesia Research Laboratory del Massachusetts General Hospital, por toda su ayuda en el siempre difícil mundo de la informática y a **Ralph D'Agostino**, Bioestadístico del Departamento de Anesthesia del Massachusetts General Hospital, por su ayuda en el manejo estadístico de los datos.

A **Missy Flynn**, Secretaria del Prof. Warren M. Zapol, por su orientación y ayuda en todo.

A todos los médicos **Adjuntos** y **Residentes** del Departamento de Anestesiología y Reanimación del Hospital Clínic de Barcelona, por tener siempre su amistad y apoyo en todo momento.

Al **Comité de Investigación** del Hospital Clínic de Barcelona, que al concederme una Beca para Ampliación de Estudios al Extranjero ha hecho posible la elaboración de esta tesis.

Finalmente a toda **mi familia** por su cariño y apoyo, y en especial a mi hermana **Nati** por su ayuda en la edición de parte de los gráficos de esta tesis.



## ***ABREVIATURAS***

SDRA	Síndrome de distrés respiratorio del adulto
FiO <sub>2</sub>	Fracción inspiratoria de oxígeno
Q <sub>s</sub> /Q <sub>T</sub>	Shunt intrapulmonar
Q <sub>VA</sub> /Q <sub>T</sub>	Mezcla venosa
V <sub>D</sub> /V <sub>T</sub>	Espacio muerto
NHLBI	National Heart, Lung and Blood Institute
O <sub>2</sub>	Oxígeno
CO <sub>2</sub>	Anhídrido carbónico
LIS	<i>Lung injury score</i>
DA-aPO <sub>2</sub>	Gradiente alveolo-arterial de oxígeno
PAO <sub>2</sub>	Presión alveolar de oxígeno
PB	Presión barométrica
P <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	Presión de vapor de agua
CcO <sub>2</sub>	Contenido capilar de oxígeno
CaO <sub>2</sub>	Contenido arterial de oxígeno
CvO <sub>2</sub>	Contenido venoso de oxígeno
Hb	Hemoglobina
SatOHb	Saturación de oxígeno de la hemoglobina
PaO <sub>2</sub>	Presión parcial de oxígeno arterial
PaCO <sub>2</sub>	Presión parcial de anhídrido carbónico
PvO <sub>2</sub>	Presión parcial de oxígeno venoso
PvCO <sub>2</sub>	Presión parcial de anhídrido carbónico venoso
pHa	pH arterial
pHv	pH venoso
CO <sub>3</sub> Ha	Bicarbonato arterial
CO <sub>3</sub> Hv	Bicarbonato venoso
EBa	Exceso de base arterial
EBv	Exceso de base venoso
DO <sub>2</sub>	Transporte de oxígeno
VO <sub>2</sub>	Consumo de oxígeno

EO <sub>2</sub>	Extracción de oxígeno
CPAP	Presión positiva continua en la vía aérea
IPPV	Ventilación con presión positiva intermitente
CMV	Ventilación mandatoria controlada
SIMV	Ventilación sincrónica mandatoria intermitente
PEEP	Presión positiva espiratoria final
IRV	Ventilación con relación invertida
VC-IRV	Ventilación con relación invertida controlada por volumen
PC-IRV	Ventilación con relación invertida controlada por presión
APRV	Ventilación por liberación de presión de vía aérea
HFJV	Ventilación jet alta frecuencia
DLV	Ventilación a pulmones separados
ECMO	Oxigenación por membrana extracorpórea
LFPPV-ECCRO <sub>2</sub>	Ventilación con presión positiva a baja frecuencia y extracción extracorpórea de anhídrido carbónico
IVOX	Oxigenador intravascular
LPS	Lipopolisacárido
TNF	Factor de necrosis tumoral
VIP	Péptido intestinal vasoactivo
PAF	Factor activador de plaquetas
NO	Oxido nítrico
NO <sub>2</sub>	Dióxido de nitrógeno
N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	Tetróxido de nitrógeno
EDRF	Factor de relajación derivado del endotelio
GMPC	Guanosin monofosfato cíclico
AMPC	Adenosin monofosfato cíclico
GTP	Guanosin trifosfato
SOD	Superóxido dismutasa
FDE	Fosfodiesterasa
NADPH	Fosfato dinucleótido de adenina nicotinamida
NOS	Oxido nítrico sintetasa
ATP	Adenosin trifosfato

O <sub>2</sub> Hb	Oxihemoglobina
MetaHb	Metahemoglobina
hν	Energia
OSHA	<i>Occupational Safety and Health Administration</i>
°C	Grados centígrados
PAS	Presión arterial sistémica
PAP	Presión arteria pulmonar
PVC	Presión venosa central
PAI	Presión auricula izquierda
PCP	Presión capilar pulmonar
GC	Gasto cardíaco
FC	Frecuencia cardíaca
SC	Superficie corporal
RVS	Resistencias vasculares sistémicas
RVP	Resistencias vasculares pulmonares
IC	Indice cardíaco
ITSVI	Indice de trabajo sistólico ventrículo izquierdo
ITSVD	Indice de trabajo sistólico ventrículo derecho
ISV	Indice de volumen sistólico
IBMX	Isobutil-1-metil-xantina
I	Iodo
EDTA	Acido etilandiaminotetracético
ppm	Partes por millón
ppb	Partes por billón
Pimax	Presión inspiratoria máxima
LNAME	N <sup>G</sup> nitro-L-arginina metil ester
Ach	Acetilcolina
L-arg	L-arginina
GC	Guanil ciclasa
HTP	Hipertensión pulmonar

# ***INDICE***

<b>1.</b>	<b>JUSTIFICACION DEL ESTUDIO</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>INTRODUCCION</b>	<b>7</b>
<b>2.1.</b>	<b>EPIDEMIOLOGIA DEL SINDROME DE DISTRES RESPIRATORIO DEL ADULTO (SDRA)</b>	
2.1.1	Definición del SDRA	9
2.1.2	Diagnóstico del SDRA	11
2.1.3	Clasificación del SDRA	13
2.1.4	Etiología y factores de riesgo del SDRA	16
2.1.5	Pronóstico del SDRA	19
2.1.6	Mecánica pulmonar en el SDRA	20
2.1.7	Circulación pulmonar en el SDRA	21
2.1.8	Intercambio de gases en el SDRA	23
2.1.9	Terapéutica del SDRA	28
	2.1.9.1 Soporte ventilatorio	28
	2.1.9.2 Soporte hemodinámico	34
	2.1.9.3 Tratamiento farmacológico específico	37
<b>2.2</b>	<b>MODELOS EXPERIMENTALES DE SINDROME DE DISTRES RESPIRATORIO DEL ADULTO</b>	<b>43</b>
2.2.1	Características del modelo de lavado pulmonar	44
<b>2.3</b>	<b>OXIDO NITRICO</b>	<b>49</b>
2.3.1	Características fisico-químicas del óxido nítrico	49
2.3.2	Farmacología del óxido nítrico	50
2.3.3	Acciones fisiológicas del óxido nítrico	58
	2.3.3.1 Sistema vascular	58
	2.3.3.2 Sistema inmunológico	61
	2.3.3.3 Sistema nervioso	61
	2.3.3.4 Otras células y tejidos	61

	<u>Página</u>
2.3.4 Mecanismos fisiopatológicos del óxido nítrico	62
2.3.4.1 Déficit en la síntesis endógena de óxido nítrico	62
2.3.4.2 Exceso en la síntesis endógena de óxido nítrico	63
2.3.5 Óxido nítrico inhalado	64
2.3.5.1 Estudios experimentales	67
2.3.5.2 Estudios clínicos	67
2.3.5.3 Toxicidad del óxido nítrico inhalado	68
2.3.5.4 Recomendaciones para la inhalación de óxido nítrico	71
<b>3. HIPOTESIS Y OBJETIVOS</b>	<b>75</b>
3.1 Hipótesis	77
3.2 Objetivos	78
<b>4. MATERIAL Y METODO</b>	<b>79</b>
4.1 Diseño del estudio	81
4.2 Criterios de selección de los animales	82
4.3 Preparación e instrumentación de los animales	84
4.3.1 Anestesia	84
4.3.2 Instrumentación	85
4.4 Fármacos utilizados	88
4.5 Variables incluídas en el estudio	89
4.5.1 Mediciones hemodinámicas	89
4.5.2 Análisis de los gases sanguíneos	91
4.5.3 Parámetros calculados	93
4.5.3.1 Determinación del GMPc	93
4.5.3.2 Determinación de la Hb y recuento de leucocitos	94

	<u>Página</u>
5.2.2 Efectos de la inhalación de óxido nítrico	138
5.2.2.1 Efectos hemodinámicos	138
5.2.2.2 Efectos sobre el intercambio de gases	138
5.2.3 Efectos de la infusión de N <sup>G</sup> -nitro-L-arginina	139
5.2.3.1 Efectos hemodinámicos	139
5.2.3.2 Efectos sobre el intercambio de gases	140
5.2.4 Efectos de la inhalación de óxido nítrico tras la infusión de N <sup>G</sup> -nitro-l-arginina	140
5.2.4.1 Efectos hemodinámicos	140
5.2.4.2 Efectos sobre el intercambio de gases	141
5.2.5 Efectos de la administración de L-arginina	141
5.2.5.1 Efectos hemodinámicos	141
5.2.5.2 Efectos sobre el intercambio de gases	142
5.2.6 Efecto de los cambios del gasto cardíaco	142
5.2.6.1 Relación presión transpulmonar-flujo	142
5.2.6.2 Relación mezcla venosa-flujo	143
5.2.6.3 Relación resistencias vasculares pulmonares- flujo	144
5.2.6.4 Relación presión parcial de O <sub>2</sub> venosa mixta- flujo	145
5.2.6.5 Relaciones consumo, extracción y transporte de O <sub>2</sub>	145
 <b>5. DISCUSION</b>	 223
 <b>6. CONCLUSIONES</b>	 277
 <b>7. BIBLIOGRAFIA</b>	 281

## ***1. JUSTIFICACION DEL ESTUDIO***



El síndrome de distrés respiratorio del adulto (SDRA) es una enfermedad grave y con gran incidencia en las unidades de atención al paciente crítico. Sus causas etiológicas son múltiples pero todas producen una alteración estructural y funcional pulmonar cuya principal manifestación es una hipoxemia severa.

El SDRA sigue teniendo una elevada morbilidad y mortalidad a pesar de los avances en su conocimiento y tratamiento; por lo tanto está justificada toda investigación que contribuya a un mejor entendimiento de su fisiopatología y/o represente un nuevo avance terapéutico.

Cualquiera que sea el origen del SDRA existe siempre un aumento de la permeabilidad vascular y una alteración de la vasoreactividad que induce una respuesta de vasoconstricción del lecho vascular pulmonar y la consiguiente hipertensión pulmonar. A consecuencia de ello, se produce una maldistribución de la perfusión con respecto a la ventilación, un aumento del cortocircuito intrapulmonar derecha-izquierda y un empeoramiento de la oxigenación.

Corregir la hipoxemia ha sido siempre el objetivo fundamental del tratamiento del SDRA. Con las nuevas técnicas de soporte ventilatorio actualmente es raro que estos pacientes fallezcan por hipoxia, sin embargo su morbi-mortalidad está todavía aumentada a consecuencia de los efectos de la hipoxia en otros órganos, de la toxicidad por altas concentraciones inspiratorias de oxígeno y por la persistencia de elevadas

presiones en la vía aérea durante la ventilación mecánica y de hipertensión pulmonar que mantienen y perpetúan la lesión pulmonar inicial.

La utilización de vasodilatadores para el tratamiento del SDRA con el objetivo de disminuir el grado de hipertensión pulmonar no se ha extendido en la práctica clínica, debido a que dichos vasodilatadores por vía sistémica si bien disminuyen la presión pulmonar, producen también hipotensión sistémica con la consiguiente disminución de la perfusión y aporte de oxígeno a los tejidos. Además, aumentan el cortocircuito intrapulmonar al bloquear la vasoconstricción pulmonar hipóxica en todas las zonas pulmonares y por lo tanto aumentan aún más la hipoxemia. Incluso un fármaco como la prostaglandina, considerado como el vasodilatador pulmonar más selectivo, produce cierto grado hipotensión sistémica y además también aumenta el cortocircuito pulmonar derecha-izquierda y por lo tanto agrava la hipoxemia en el SDRA (Radermacher y cols., 1990a).

En 1987, Palmer y cols. e Ignarro y cols. descubrieron, ambos por separado, que el óxido nítrico (NO) era el factor de relajación derivado del endotelio (EDRF) descrito por Furchgot y Zawinski en 1980. El NO era pues un potente vasodilatador del músculo liso vascular.

El NO es una molécula gaseosa y como todo gas puede ser inhalado; esto hizo que el equipo del Dr. Zapol del Hospital General de Massachusetts en Boston se planteara la

hipótesis de que el gas NO por vía inhalatoria produciría una vasodilatación del músculo liso vascular pulmonar y que dicha acción sería selectiva sobre la circulación pulmonar.

El Dr. Frostell, *fellow* en el Laboratorio del Dr. Zapol, demostró en que la inhalación de NO producía una vasodilatación pulmonar selectiva en la oveja adulta, cuya vasoconstricción pulmonar había sido inducida por la infusión de análogos del tromboxano o por hipoxia (Fostell y cols., 1991). Posteriormente la Dra. Fratacci, *fellow* también en dicho Laboratorio, comprobó que la inhalación de NO revertía la hipertensión pulmonar inducida en la reacción heparina-protamina, de manera selectiva (Fratacci y cols., 1991).

Mi incorporación como *fellow* en el mismo Laboratorio entre 1991 y 1992, me permitió seguir con las investigaciones del gas NO por vía inhalatoria sobre la circulación pulmonar. El trabajo experimental que desarrollé durante mi estancia en dicho Laboratorio se presenta en esta tesis y se basa en: **El estudio de la inhalación de NO en un modelo experimental de síndrome de distrés respiratorio del adulto.**

El modelo experimental de SDRA desarrollado para el estudio ha sido un modelo de lesión pulmonar aguda inducida por inactivación del surfactante pulmonar mediante lavados con una sustancia detergente. Dicho modelo, aunque modificado, ya había sido propuesto como modelo experimental de SDRA (Lachman y cols., 1980). El animal de experimentación ha sido la oveja adulta, animal habitualmente utilizado en el

Laboratorio para la investigación sobre la circulación pulmonar tanto por sus características de comportamiento como de reactividad vascular pulmonar y cuya respuesta positiva a la inhalación de NO ya era conocida.

Cuando se plantearon las hipótesis de este estudio la utilización del NO inhalado estaba aún en fase experimental. Se había estudiado en situaciones experimentales de hipertensión pulmonar por análogos del tromboxano o por respirar una mezcla hipóxica de gases (condiciones no reproducibles en la clínica humana) y también en la hipertensión pulmonar secundaria a la reacción heparina-protamina (situación poco frecuente en la práctica clínica). De ahí la importancia de estudiar su efecto en situaciones experimentales con una gran incidencia clínica, como es el SDRA.

Este estudio pretende evaluar los efectos del NO inhalado, primer vasodilatador pulmonar selectivo, en un modelo experimental de SDRA. Si el resultado de este estudio experimental era el esperado, la inhalación de NO podría ser introducida como nueva terapia para mejorar la oxigenación e hipertensión pulmonar en pacientes afectados de SDRA.

Mientras duraba la preparación de esta tesis, ya apareció publicado que la inhalación de NO por pacientes afectados de SDRA grave mejora el intercambio de gases y la hipertensión pulmonar (Rossaint y cols., 1993).

## ***2. INTRODUCCIÓN***



## **2.1. EPIDEMIOLOGIA DEL SINDROME DE DISTRES RESPIRATORIO DEL ADULTO**

### **2.1.1. DEFINICION DEL SINDROME DE DISTRES RESPIRATORIO DEL ADULTO**

El síndrome de insuficiencia respiratoria aguda asociada a shock traumático o sepsis es conocido desde hace casi 5 décadas (Buford y Burbank 1945), (Moon 1948). Desde entonces han sido utilizados varios términos para definir el mismo síndrome. Durante la Segunda Guerra Mundial se adoptó el término de "*pulmón húmedo*" para explicar el cuadro clínico de insuficiencia respiratoria aguda que presentaban los soldados con traumatismo no torácico y grandes pérdidas hemáticas. Durante la guerra de Vietnam el pulmón húmedo se denominó "*pulmón de Da Nang*" o "*pulmón de shock*". Otras denominaciones incluyen términos patológicos descriptivos como "*atelectasia congestiva*" o "*lesión alveolar difusa*", términos patogénicos como "*edema pulmonar por permeabilidad*" o situaciones clínicas en las que se produce como "*pulmón de bomba*", "*pulmón del respirador*", o "*insuficiencia pulmonar post-traumática*".

La primera descripción del síndrome de insuficiencia respiratoria aguda fue publicada en la revista Lancet por Ashbaugh y cols. en 1967. Estos autores comunicaron las características clínicas, fisiológicas y radiológicas de 12 pacientes, que en el curso de distintas enfermedades, desarrollaron insuficiencia respiratoria aguda. El síndrome se

caracterizaba por: hipoxemia refractaria al tratamiento con oxígeno, disminución de la distensibilidad pulmonar o *compliance* y presencia de infiltrados pulmonares difusos a la radiografía de torax. El estudio anatomopatológico pulmonar de los siete pacientes que fallecieron reveló la presencia de atelectasias, congestión vascular, edema pulmonar severo y membranas hialinas.

Algunos años más tarde Petty y Ashbaugh (1971) propusieron el término de síndrome de distrés respiratorio del adulto (SDRA) debido a que este cuadro de insuficiencia respiratoria en los adultos era muy parecido al síndrome de distrés respiratorio del recién nacido por déficit en la producción y/o función del surfactante pulmonar.

El SDRA representa un concepto fisiopatológico en el cual la alteración pulmonar es debida a lesión pulmonar aguda difusa, directa o indirecta. Se caracteriza histológicamente por daño difuso de la membrana alvéolo-capilar con la consiguiente exudación al intersticio y al espacio alveolar de agua, solutos y varios elementos celulares. El daño alveolar aparece difuso en las imágenes radiográficas, pero la tomografía computadorizada revela que no es homogéneo, sino que hay zonas con densidad normal interpuestas con zonas dañadas. Fisiopatológicamente esto resulta en unos pulmones poco distensibles e hipoxemia arterial como resultado de un aumento de la mezcla venosa. El síndrome ocurre a las 24-72 horas después de una (o varias) condiciones asociadas o causantes. Cualquiera que sea la causa asociada o causante, la lesión pulmonar se reconoce clínicamente por taquipnea, hipoxemia progresiva a pesar

el aumentar los niveles inspiratorios de oxígeno y condensaciones difusas en la radiografía de tórax (McCaffree, 1991).

### **2.1.2. DIAGNOSTICO DEL SINDROME DE DISTRES RESPIRATORIO DEL ADULTO**

No se dispone de un test o marcador específico para el diagnóstico del SDRA, por lo que éste se realiza en el marco de un síndrome clínico.

En la tabla 1 se muestran los criterios clínicos, radiológicos, fisiológicos y anatomopatológicos del SDRA adaptados de la primera descripción del síndrome por Petty y Ashbaugh (1971) y (Petty y Fowler, 1982). Desde entonces se han realizado mínimos cambios a esta primera definición (Murray, 1977; Petty, 1985; Rinaldo, 1986).

Otros criterios frecuentemente utilizados para el diagnóstico de SDRA (Bone, 1991) son: una alteración severa de la oxigenación ( $\text{PaO}_2 < 50$  mmHg, respirando aire ambiente);  $\text{PaO}_2 \leq 50$  mmHg con una  $\text{FiO}_2 > 40\%$  y una PEEP  $> 5$  cmH<sub>2</sub>O; aparición de nuevos y cambiantes infiltrados en la radiografía de tórax más una presión capilar pulmonar  $< 18$  mmHg más no justificación para estos hallazgos más la presencia de una enfermedad en la cual el SDRA ha sido descrito.

**Tabla 1. Criterios diagnósticos del síndrome de distrés respiratorio del adulto.**

1. Historia clínica de un cuadro agudo desencadenante:
  - Pulmonar (aspiración, contusión)
  - No pulmonar (shock, politrauma)
2. Exclusión de:
  - Enfermedad pulmonar crónica
  - Insuficiencia ventricular izquierda
3. Síntomas clínicos de insuficiencia respiratoria aguda:
  - Dísnea y taquipnea
4. Sígnos radiológicos pulmonares:
  - Infiltrados difusos bilaterales (intersticiales al inicio y alveolares más tarde)
5. Sígnos fisiológicos:
  - $\text{PaO}_2 < 50 \text{ mmHg}$  con  $\text{FiO}_2 > 0,6$
  - *Compliance* pulmonar  $< 50 \text{ ml/cm H}_2\text{O}$  (entre 20 y 30)
  - Aumento del cortocircuito pulmonar ( $Q_s/Q_T$ )
  - Aumento de la ventilación del espacio muerto ( $V_D/V_T$ )
6. Hallazgos anatomopatológicos:
  - Edema, hemorragia intraalveolar
  - Atelectasias congestivas
  - Membranas hialinas y fibrosis

Los investigadores del *Specialized Center of Research of the Lung Division of the National Heart, Lung and Blood Institute (NHLBI)* realizan el diagnóstico de SDRA en base a los criterios de la tabla 2 (Hyers 1991).

**Tabla 2. Definición del SDRA según el NHLBI Lung Division.**

- Infiltrados pulmonares bilaterales difusos de < 7 días de duración
- $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  < 150 sin PEEP  
< 200 con PEEP
- Presión enclavada arteria pulmonar < 18 mmHg

Aunque se ha avanzado mucho en el conocimiento de la patogenia del SDRA, tras más de 20 años de su descripción todavía no existe una definición universalmente aceptada y sus criterios diagnósticos siguen siendo controvertidos.

### **2.1.3. CLASIFICACION DEL SINDROME DE DISTRES RESPIRATORIO DEL ADULTO**

Murray y cols. en 1988 propusieron una definición ampliada o clasificación del SDRA según una graduación de la lesión pulmonar y de la gravedad del distrés respiratorio. Estos autores desarrollaron el denominado "*lung injury score*" (LIS) o grado de lesión pulmonar, basado en el grado de afectación radiológica, el grado de hipoxemia medido por el cociente  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ , el grado de PEEP necesaria y el grado de *compliance* respiratoria (tabla 3). Esta clasificación o escala de graduación tiene como característica que mide el grado de oxigenación mediante el cociente  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  y que no incluye el valor de la presión capilar pulmonar.

Según la clasificación de Murray sólo es catalogada como SDRA la insuficiencia respiratoria severa cuya lesión pulmonar alcanza una graduación superior a 2,5. Además Murray clasifica la lesión pulmonar en tres fases según: el estado, la gravedad y la causa subyacente (tabla 4).

**Tabla 3. Clasificación del grado de lesión pulmonar en el SDRA: componentes y valores del *lung injury score*.**

<b>1. Radiografía de tórax</b>		
No consolidación alveolar		0
Consolidación alveolar de 1 cuadrante		1
Consolidación alveolar de 2 cuadrantes		2
Consolidación alveolar de 3 cuadrantes		3
Consolidación alveolar de 4 cuadrantes		4
<b>2. Hipoxemia</b>		
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	≥ 300	0
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	225-299	1
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	175-224	2
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	100-174	3
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	< 100	4
<b>3. Presión Espiratoria Final</b>		
PEEP	≤ 5 cmH <sub>2</sub> O	0
PEEP	6-8 cmH <sub>2</sub> O	1
PEEP	9-11 cmH <sub>2</sub> O	2
PEEP	14-14 cmH <sub>2</sub> O	3
PEEP	≥ 15 cmH <sub>2</sub> O	4
<b>4. Compliance pulmonar</b>		
Compliance	≥ 80 ml/cmH <sub>2</sub> O	0
Compliance	60-79 ml/cmH <sub>2</sub> O	1
Compliance	40-59 ml/cmH <sub>2</sub> O	2
Compliance	20-39 ml/cmH <sub>2</sub> O	3
Compliance	≤ 19 ml/cmH <sub>2</sub> O	4

	<u>Puntuación</u>
No lesión pulmonar	0
Lesión pulmonar moderada-leve	0,1-2,5
Lesión pulmonar severa (SDRA)	> 2,5

Puntuación final (suma de los valores dividido por el número de componentes utilizados)

<b>Tabla 4. Clasificación en tres fases de la lesión pulmonar.</b>	
Fase 1	Aguda o crónica, según la evolución
Fase 2	Moderada-leve o severa (SDRA), según el LIS
Fase 3	Causada por: aspiración embolismo drogas inhalación gas tóxico agentes infecciosos
	Asociada a: sepsis politransfusiones pancreatitis aguda coagulación vascular diseminada

#### **2.1.4. ETIOLOGIA Y FACTORES DE RIESGO DEL SINDROME DE DISTRES RESPIRATORIO DEL ADULTO**

Existe una amplia variedad de causas o factores que pueden dar lugar a un SDRA. Entre las causas más frecuentes cabe destacar, causas extrapulmonares: shock, sepsis, traumatismo no torácico, sobredosis farmacológica, pancreatitis aguda, uremia, eclampsia, lesiones del sistema nervioso central, embolismo pulmonar, quemaduras graves y politransfusiones; causas pulmonares: broncoaspiración, contusión pulmonar, infección pulmonar, irradiación, gases tóxicos y ahogamiento (Artigas, 1991).

Alrededor de un 75% de los casos de SDRA están causados por broncoaspiración gástrica, politraumatismo o sepsis. La sepsis por sí sola es responsable de la mitad de los casos (Hyers, 1991). Sin embargo son muchas y diversas las causas o situaciones

clínicas que pueden desarrollar un SDRA (tabla 5). Aunque no todos los pacientes que presentan alguno de los factores de riesgo va a desarrollar el cuadro clínico.

La incidencia de SDRA es muy variable, entre un 7% y un 38% según las series estudiadas. La incidencia aumenta hasta un 59% con la presencia de más de un factor de riesgo. Los factores de mayor riesgo de desarrollar un SDRA son la sepsis y la aspiración de contenido gástrico. Cerca de un 80% de los casos de SDRA se pueden predecir (Artigas, 1991).

Cualquiera que sea la causa desencadenante, el SDRA tiende a considerarse actualmente como una enfermedad sistémica y no como una enfermedad pulmonar aislada. Sería la primera manifestación de una enfermedad inflamatoria con acumulación de neutrófilos en el pulmón y la liberación de toda una cascada de mediadores, como expresión de una lesión endotelial generalizada con extravasación y edema y el inicio de un fallo sistémico multiorgánico (Lamy y cols., 1990).

El papel de los neutrófilos en el SDRA fue demostrado por Repine y Beehler (1991). En el SDRA hay un reclutamiento pulmonar de neutrófilos. Los neutrófilos pueden lesionar al endotelio pulmonar al liberar radicales de oxígeno y elastasa. Sin embargo se considera que son varios los factores potenciales (tabla 6) que pueden contribuir al desarrollo del SDRA (Repine, 1992).

**Tabla 5. Causas de SDRA.**

**1. Indirectas**

Sepsis  
Shock  
Politraumatismo  
Embolismo graso  
Politransfusión  
Pancreatitis aguda  
Tuberculosis miliar  
Quemaduras extensas  
Sobredosis de: heroína, metadona, AAS, tricíclicos, propoxifeno  
Hipersensibilidad a: colchicina, ampicilina, medios de contraste  
Reacciones transfusionales  
Púrpura trombótica trombocitopénica  
Leucemias mieloproliferativas  
Tóxicos (paraquat)  
Hipertensión intracraneal  
Circulación extracorpórea y hemodiálisis  
Síndrome de shock tóxico  
Embolismo aéreo  
Eclampsia, embolismo líquido amniótico

**2. Directas**

Aspiración contenido gástrico  
Contusión pulmonar bilateral  
Neumonías difusas: adenovirus, citomegalovirus  
micoplasma , pneumocistis  
legionella, streptococcus  
Ahogamiento  
Toxicidad por oxígeno  
Radiaciones  
Edema de altitud  
Inhalación de: humo, NO<sub>2</sub>, Cl<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>

Adaptada de Hansen-Flaschen y Fishman, (1988).

**Tabla 6. Factores potenciadores o mediadores del SDRA.**

Complemento
Radicales de oxígeno
Proteasas (elastasa)
Endotoxinas
Ecosanoides (tromboxanos, prostaglandinas, leucotrienos)
Factor activador de plaquetas
Citoquinas (factor de necrosis tumoral, interleukinas, endotelina)
Factores de crecimiento
Kallicreinas (cininas)
Fragmento D

#### **2.1.5. PRONOSTICO DEL SINDROME DE DISTRES RESPIRATORIO DEL ADULTO**

El SDRA es una enfermedad compleja y con una patogénesis multifactorial; todo ello hace que sea difícil el avance en su terapia y que el pronóstico de los pacientes que desarrollan un SDRA siga siendo muy grave.

La mortalidad del SDRA en 1967, cuando fue descrito por Asbaugh y cols., era superior al 50%. Actualmente a pesar de los avances en el conocimiento de su patogenia y medidas de soporte y tratamiento, la mortalidad global no ha disminuido y oscila entre un 41% y un 74% (Artigas, 1988).

Según el estudio de Montgomery y cols. (1985) la mortalidad del SDRA fue de un 68% y según el de Fowler y cols. (1985) fue de 65%. En un estudio de Bone y cols. (1989),

la mortalidad fue de un 50%. La mortalidad del SDRA según el estudio Colaborativo Europeo fue de un 59%, sin embargo el SDRA asociado a peritonitis difusa o pancreatitis aguda severa alcanza una mortalidad de un 86% y un 100% respectivamente (Artigas, 1988).

#### **2.1.6. MECANICA PULMONAR EN EL SINDROME DE DISTRES RESPIRATORIO DEL ADULTO**

En el SDRA son constantes las alteraciones en las propiedades mecánicas pulmonares y forman parte de los criterios diagnósticos del mismo.

Los pulmones de pacientes con SDRA presentan una disminución de *compliance* pulmonar total, una disminución del gas alveolar y un aumento del peso (Pesenti y cols., 1990).

El aumento de la permeabilidad del endotelio vascular pulmonar en el SDRA provoca un incremento del agua extravascular y un trastorno en la mecánica pulmonar: disminución progresiva de la distensibilidad y de los volúmenes pulmonares (Benito y Mancebo, 1991).

Wright y Bernard (1989) demostraron que los pacientes con SDRA presentaban también un aumento de la resistencia al flujo de la vía aérea, contribuyendo pues la

broncoconstricción en gran parte a la alteración en la mecánica pulmonar característica del SDRA.

### **2.1.7. CIRCULACION PULMONAR EN EL SINDROME DE DISTRES RESPIRATORIO DEL ADULTO**

La circulación pulmonar ha sido descrita como una cascada vascular o "resistor" de Starling (Mintzer, 1983) donde la pendiente de la relación presión/flujo representa la resistencia pulmonar incremental o cambio de presión por unidad de flujo, y la interpolación a flujo cero estima la presión de cierre de los vasos pulmonares. El estudio de la presión pulmonar y las resistencias vasculares pulmonares en función del flujo (gasto cardíaco) permite evaluar mejor el estado funcional de la circulación pulmonar y diferenciar entre efectos pasivos (flujo-dependientes) y activos.

La circulación pulmonar está siempre alterada en los pacientes con SDRA. Los cambios tanto funcionales como estructurales del lecho vascular pulmonar producen grados variables de hipertensión pulmonar.

La disminución de los volúmenes pulmonares junto con la lesión endotelial, el aumento de la presión intersticial por edema, la vasoconstricción activa por hipoxia y los microtromboembolismos vasculares están entre las posibles causas del aumento en las

resistencias vasculares pulmonares y de la hipertensión pulmonar observada en los pacientes con insuficiencia respiratoria severa (Zapol y Snyder, 1977).

Los pacientes con SDRA moderado presentan una hipertensión pulmonar moderada, mientras que los pacientes con un SDRA más grave presentan un mayor aumento en la presión pulmonar. Al inicio del síndrome existe un reclutamiento vascular ya que aumentos en el gasto cardíaco producen mínimos aumentos en la presión pulmonar.

La principal causa de hipertensión pulmonar se cree debida a un aumento en la resistencias vasculares pulmonares secundario a la vasoconstricción pulmonar hipóxica (VPH) (Zapol y cols., 1985). La vasoconstricción pulmonar hipóxica es un mecanismo que intenta evitar la hipoxia al desviar el flujo sanguíneo pulmonar desde los alveólos que estan mal ventilados hacia los bien ventilados (Fishman, 1976) y asi disminuir el cortocircuito pulmonar. Otros mecanismos, además de la VPH, que contribuyen al aumento de las resistencias vasculares pulmonares son: un aumento de presión de la vía aérea y vasoconstrictores pulmonares locales (tromboxanos, leucotrienos, etc.).

Si la hipertensión pulmonar es severa puede producir una sobrecarga de trabajo del ventrículo derecho y una disfunción ventricular (Rajagopalan y cols., 1982; , Shuterland y cols., 1981; Foex, 1991). La disfunción ventricular derecha contribuye a la reducción la precarga izquierda, disminución del gasto cardíaco, del transporte de oxígeno y empeora aún más la oxigenación tisular (Foex, 1991). Además la elevada presión

pulmonar, junto con el aumento de la permeabilidad vascular produce un incremento del edema pulmonar.

### **2.1.8. INTERCAMBIO DE GASES EN EL SINDROME DE DISTRES RESPIRATORIO DEL ADULTO**

En el SDRA se produce una alteración del intercambio de gases a nivel pulmonar que da lugar a hipoxemia o disminución de la presión parcial de oxígeno arterial ( $PaO_2$ ). La hipoxemia severa forma parte de los criterios diagnósticos del SDRA.

La medición de la  $PaO_2$  es una forma de evaluar el grado de hipoxemia. Sin embargo la  $PaO_2$  depende de varios factores pulmonares (fracción inspirada de  $O_2$ , ventilación alveolar) y extrapulmonares (gasto cardíaco, hemoglobina, equilibrio ácido-base), por lo que se han desarrollado unos índices para intentar reflejar de una forma más precisa la gravedad de la alteración del intercambio gaseoso pulmonar (Reyes, 1991).

Uno de ellos es el gradiente alveolo-arterial de  $O_2$  ( $A-aPO_2$ ), según la fórmula:

$$A-aPO_2 = PAO_2 - PaO_2$$

donde  $PAO_2$  es la presión parcial de  $O_2$  alveolar y  $PaO_2$  es la presión parcial de  $O_2$  arterial. La  $PAO_2$  se calcula mediante la ecuación del gas alveolar:

$$PAO_2 = FiO_2(PB - P_{H_2O}) - PaCO_2/R$$

este índice tiene en cuenta la fracción de O<sub>2</sub> inspirada (FiO<sub>2</sub>), la presión barométrica (PB) y de vapor de agua (P<sub>H<sub>2</sub>O</sub>) y la dilución sufrida por el O<sub>2</sub> en el alveólo debido al CO<sub>2</sub> y por lo tanto es independiente de la ventilación alveolar. Sin embargo el gradiente aumenta progresivamente al aumentar la FiO<sub>2</sub> aún cuando el cortocircuito pulmonar no varíe.

Otros índices son el cociente PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> (Bone y cols., 1989a) y el cociente PaO<sub>2</sub>/PAO<sub>2</sub> (Gilbert y cols., 1979).

Una manera más precisa de evaluar la alteración del intercambio de gases se basa en la medición del cortocircuito pulmonar o *shunt*. El concepto de *shunt* viene determinado por el modelo tricompartmental de Riley y Cournand que considera el pulmón formado por un compartimento ideal, en el que la ventilación y la perfusión están en una relación óptima para el intercambio de gases, un segundo compartimento formado por áreas del pulmón que no están ventiladas pero si perfundidas (*shunt*) y un tercer compartimento que incluye las zonas del pulmón que se encuentran ventiladas pero no perfundidas (espacio muerto). La eficacia del intercambio gaseoso viene determinada por la proporción de cada uno de estos compartimentos (Reyes, 1991). Un aumento tanto del shunt como del espacio muerto resultará en una alteración de las condiciones para el intercambio pulmonar de gases.

La forma tradicional de medir el *shunt* es por el método del O<sub>2</sub> a través de los contenidos de O<sub>2</sub> en sangre arterial y venosa mixta y calculando el contenido de O<sub>2</sub> en sangre capilar respirando una FiO<sub>2</sub> de 1, según la fórmula descrita por Bergreen (1942):

$$\dot{Q}_s/\dot{Q}_T = 100(CcO_2 - CaO_2)/(CcO_2 - CvO_2)$$

donde  $\dot{Q}_s/\dot{Q}_T$  es el porcentaje de *shunt*, y CcO<sub>2</sub>, CaO<sub>2</sub> y CvO<sub>2</sub> son los contenidos de O<sub>2</sub> capilar, arterial y venoso respectivamente. Los contenidos de O<sub>2</sub> arterial, venoso y capilar pueden calcularse a partir de la PO<sub>2</sub> arterial, venosa mixta y capilar según la fórmula:

$$CxO_2 = Hb \times SatOHb \times 1,34 + P_x O_2 \times 0,003.$$

en la que CxO<sub>2</sub> es el contenido de O<sub>2</sub> en ml/dl, SatOHb la saturación de la oxihemoglobina en porcentaje, 1,34 la capacidad de transporte de O<sub>2</sub> en ml/g Hb saturada, P<sub>x</sub>O<sub>2</sub> la presión parcial de O<sub>2</sub> en la sangre considerada y 0,003 el coeficiente de solubilidad del O<sub>2</sub> en plasma en ml/dl.mmHg.

El método del O<sub>2</sub> mide también como *shunt* el espacio muerto sobre todo con FiO<sub>2</sub> bajas por lo que entonces se denomina mezcla venosa ( $\dot{Q}_{VA}/\dot{Q}_T$ ).

El *shunt* verdadero se mide de manera más precisa mediante la técnica de eliminación de gases inertes múltiples diseñada por Wagner y cols. (1974); sin embargo se trata de una metodología de compleja utilización y muy costosa. Además existe buena correlación entre las dos técnicas (Reyes, 1991).

De los cuatro mecanismos básicos por los que se puede alterar el intercambio de gases: hipoventilación, alteraciones de la difusión, *shunt* y alteraciones de la ventilación-perfusión, el *shunt* es la principal causa de hipoxemia en el SDRA (Dantzker y cols., 1980; Ralph y cols., 1985; Reyes y cols., 1988). El cortocircuito derecha-izquierda (*shunt*) pulmonar representa el porcentaje del gasto cardíaco del corazón derecho que pasa por zonas alveolares que no están ventiladas y oscila entre 15-68% en los estudios citados. También se pueden encontrar que un pequeño porcentaje de la perfusión vaya a zonas poco ventiladas y el espacio muerto es muy variable (14-59%). La PaCO<sub>2</sub> sólo aumenta cuando el *shunt* es muy grande. Parece poco probable que trastornos de la difusión contribuyan a aumentar el *shunt* (Reyes, 1991).

En presencia de lesión pulmonar aguda, tanto en modelos experimentales (Smith y cols., 1974; Lynch y cols., 1979; Breen y cols., 1985; Wagner y cols., 1991) como en humanos (Dantzker y cols., 1980; Zapol y cols., 1985), un aumento del gasto cardíaco produce un aumento del *shunt* intrapulmonar. Al aumentar el gasto cardíaco aumenta la presión pulmonar y probablemente se produce un reclutamiento de vasos pulmonares en zonas del pulmón escasamente ventiladas. Cuando el gasto cardíaco y la presión de arteria pulmonar disminuyen, los vasos que perfunden zonas no ventiladas pueden alcanzar su presión crítica de cierre y dejar de contribuir al *shunt*. Además al aumentar el gasto cardíaco también aumenta la PvO<sub>2</sub> y dicho aumento puede hacer disminuir la vasoconstricción pulmonar hipóxica y por lo tanto aumentar el *shunt* como ha sido propuesto por algunos autores (Smith y cols., 1974; Payen y cols., 1985).

En el SDRA se produce también una alteración en el intercambio gaseoso periférico.

El aporte de O<sub>2</sub> (DO<sub>2</sub>) a los tejidos depende del GC y del CaO<sub>2</sub>, según la ecuación:

$$DO_2 = GC \times CaO_2$$

La parte del DO<sub>2</sub> utilizado por los tejidos es el consumo de O<sub>2</sub> ( $\dot{V}O_2$ ) y se puede calcular como la diferencia arterio-venosa de contenidos de O<sub>2</sub> multiplicado por el GC:

$$\dot{V}O_2 = (CaO_2 - CvO_2) \times GC$$

El % del CaO<sub>2</sub> que se consume corresponde al coeficiente de extracción de O<sub>2</sub> (EO<sub>2</sub>) según:

$$EO_2 = (CaO_2 - CvO_2) / CaO_2$$

En situaciones normales el DO<sub>2</sub> es muy superior al  $\dot{V}O_2$ , pudiendo el DO<sub>2</sub> disminuir mucho sin que varíe  $\dot{V}O_2$ , al aumentar el EO<sub>2</sub>. Sin embargo en pacientes con SDRA el  $\dot{V}O_2$  se hace dependiente del DO<sub>2</sub>, siendo por tanto estos pacientes incapaces de aumentar su EO<sub>2</sub> (Reyes, 1991). Sin embargo este punto está aún en discusión; mientras la mayoría de autores demuestran que en el SDRA el  $\dot{V}O_2$  es dependiente del DO<sub>2</sub> (Danek y cols., 1980; Mohsenifar y cols., 1983; Danzker, 1990; Lorente y cols., 1991; Appel and Shoemaker, 1992), algunos autores (Archie, 1981; Ronco y cols., 1991;) encuentran que en estos pacientes el  $\dot{V}O_2$  es independiente de cambios en el DO<sub>2</sub>.

### **2.1.9. TERAPEUTICA DEL SINDROME DE DISTRES RESPIRATORIO DEL ADULTO**

La terapéutica del SDRA es todavía hoy en día empírica y de soporte. Su principal objetivo radica en mantener un aporte de oxígeno adecuado a todos los tejidos, para ello es esencial normalizar la mecánica pulmonar, disminuir el grado de hipertensión pulmonar, disminuir el *shunt* y aumentar la PaO<sub>2</sub>, aparte de tratar y/o prevenir la causa (o causas) desencadenante o subyacente, así como las complicaciones.

#### **2.1.9.1. Soporte ventilatorio en el síndrome de distrés respiratorio del adulto.**

El soporte respiratorio va dirigido a disminuir la hipoxemia. Si la insuficiencia respiratoria no es muy severa se puede conseguir una oxigenación adecuada aumentando la concentración de O<sub>2</sub> mientras el paciente mantiene aún la ventilación espontánea y con aplicación de una **presión positiva continua en la vía aérea** o *continuous positive airway pressure (CPAP)* de unos 5-10 cmH<sub>2</sub>O. La CPAP re-expande los alvéolos colapsados aumentando la capacidad residual funcional y la *compliance*, el trabajo respiratorio disminuye y el intercambio de gases mejora (Macnaughton y Evans, 1992).

Si con ello el paciente no mantiene una oxigenación adecuada va a precisar de intubación endotraqueal para: asegurar la vía aérea en caso de alteraciones del nivel de consciencia, asegurar un aporte de O<sub>2</sub> adecuado, administrar presión positiva espiratoria final cuando se requiera una FiO<sub>2</sub> superior al 50% y para aplicar ventilación mecánica cuando: la frecuencia respiratoria sea superior a 35-40 respiraciones por minuto, la

PCO<sub>2</sub> arterial sea superior a 45 mmHg, la ventilación minuto sea superior a 12-15 litros y se necesite sedación farmacológica (Bernard y Bradley, 1986).

Todos los pacientes catalogados de SDRA según la clasificación de Murray van a precisar de intubación y ventilación mecánica.

La **ventilación con presión positiva intermitente** o *intermitent positive pressure ventilation (IPPV)* fue utilizada por primera vez para el tratamiento de la poliomielitis y el tétanos (Lassen, 1953); posteriormente se utilizó en casos de insuficiencia respiratoria postoperatoria (Björk y Engström, 1955), traumatismo torácico (Avery y cols., 1956) y otras enfermedades torácicas agudas (Norlander y cols., 1961). En el recién nacido se utilizó para tratar el síndrome de distrés respiratorio y el tétanos neonatal (Donald, 1954; Benson y cols., 1958; Smythe y Bull, 1959).

Las técnicas de ventilación mecánica convencional emplean tanto **ventilación mandatoria controlada** o *controled mandatory ventilation (CMV)* como **ventilación sincrónica mandatoria intermitente** o *sinchronic intermitent mandatory ventilation (SIMV)*. La SIMV permite al paciente intercalar respiraciones espontáneas entre la ventilación controlada prefijada, con ello se reduce la presión positiva intratorácica, se produce menos alteración hemodinámica y se mejora el transporte de O<sub>2</sub>. Sin embargo en el SDRA grave con gran taquipnea y aumento del trabajo y del consumo de O<sub>2</sub> por

los músculos respiratorios, es mejor la sedación farmacológica y aplicar CMV. La SIMV se utiliza como modo ventilatorio en la fase de destete del ventilador.

En 1964, Bühlmann y cols. observaron que la ventilación mecánica con aplicación de **presión positiva espiratoria final** o *positive end-expiratory pressure (PEEP)* aumentaba la saturación venosa mixta de O<sub>2</sub>. La PEEP previene el colapso alveolar al final de la espiración y por lo tanto aumenta la capacidad residual funcional, mejora la *compliance* pulmonar y reduce el *shunt* intrapulmonar (Suter y cols., 1975; Weisman y cols., 1982). Sin embargo la PEEP aumenta la presión intratorácica, disminuye el retorno venoso, el gasto cardíaco y el transporte de O<sub>2</sub> (Luce, 1984).

Las técnicas de ventilación convencional proporcionan grandes volúmenes corrientes (10-15 ml/Kg) para reclutar la mayor cantidad posible de alvéolos colapsados, pero debido a la baja distensibilidad de los pulmones con SDRA resulta en una elevada presión inspiratoria en la vía aérea y riesgo de barotrauma. Además la ventilación convencional expone al pulmón a elevadas presiones pico en la vía aérea lo que puede aumentar aún más la lesión pulmonar (Hickling, 1990a). Por ello la manipulación del volumen corriente, la frecuencia respiratoria y el tiempo inspiratorio permite mantener la presión inspiratoria lo más baja posible.

Las nuevas técnicas de ventilación mecánica intentan mantener una presión en la vía aérea lo suficientemente elevada para reclutar a la mayoría de alveolos inestables y

mejorar el intercambio de gases pero evitando los picos de presión inspiratoria.

La **ventilación con relación invertida** o *inverse ratio ventilation (IRV)* alarga la fase inspiratoria aumentando la relación inspiración-espriación entre 1:1 y 4:1. Puede ser **controlada por volumen (VC-IRV)**, en la cual se administra un volumen corriente prefijado independientemente de la presión pico de insuflación, o **controlada por presión (PC-IRV)**, en la que se administra el volumen corriente a una presión inspiratoria prefijada. La VC-IRV, aunque mejora la oxigenación, puede dar lugar a atrapamiento aéreo, aumento de los volúmenes pulmonares con picos de presión inspiratoria todavía altos y reducción del gasto cardíaco. Tharrat y cols., (1988) demostraron que la PC-IRV mejoraba la oxigenación cuando la ventilación convencional fallaba, reduciendo el pico de presión inspiratoria y sin empeorar la función cardíaca.

Otra técnica ventilatoria utilizada en pacientes con insuficiencia respiratoria es la **ventilación por liberación de presión de vía aérea** o *airway pressure release ventilation (APRV)* (Downs y Stock, 1987), que consta de un circuito de CPAP con una válvula espiratoria que se abre periódicamente y permite una espiración pasiva.

La **ventilación jet alta frecuencia** o *high frequency jet ventilation (HFJV)* suministra pequeños volúmenes corrientes a una frecuencia entre 60-600 por minuto con un tiempo inspiratorio prefijado. La presión pico de la vía aérea es muy baja (Carlson y cols., 1983; Keogh y cols., 1990).

La **hipercapnia permisiva** es una ventilación controlada con reducción del volumen corriente para prevenir elevadas presiones pico de la vía aérea, aunque aumente le  $\text{PCO}_2$  arterial. Se han utilizado volúmenes corrientes tan bajos como 5 ml/kg para mantener la presión de la vía aérea por debajo de 35  $\text{cmH}_2\text{O}$ . La hipercapnia parece ser bien tolerada y la oxigenación mejora (Hickling, 1990b).

La **ventilación a pulmones separados** o *differential lung ventilation (DLV)* a través de un tubo endotraqueal de doble luz puede proporcionar mejor oxigenación que la ventilación convencional en pacientes con SDRA que presentan asimetría en cuanto a la distribución de la lesión pulmonar entre los dos pulmones (Carlson y cols., 1978).

La **oxigenación por membrana extracorpórea** o *extracorporeal membrane oxygenation (ECMO)* se realiza a través de una membrana intercambiadora de  $\text{O}_2$  a nivel extracorpóreo. En 1965, Clowes demostró que la sangre podía ser saturada con  $\text{O}_2$  con una membrana muy delgada que separaba la fase líquida de la gaseosa. En 1970, Kolobow y cols. publicaron un estudio experimental en que la ECMO era capaz de mantener un intercambio de oxígeno adecuado durante una semana y Hill y cols. (1972) utilizaron por primera vez la ECMO en una paciente politraumática afectada de SDRA durante 72 horas. Entre 1974 y 1977 en el National Heart and Lung Institute se realizó un estudio multicéntrico en pacientes con SDRA comparando la ECMO con la ventilación convencional y no observaron diferencias en cuanto a la supervivencia (Zapol y cols., 1979).

Gattinoni y cols. (1986) estudiaron técnicas combinadas de **ventilación con presión positiva a baja frecuencia y extracción extracorpórea de CO<sub>2</sub>** o *low frequency possitive pressure ventilation-Extracorporeal CO<sub>2</sub>removal (LFPPV-ECCO<sub>2</sub>R)* aplicando volúmenes corrientes muy bajos y a una frecuencia muy baja con presiones de vía muy bajas para preservar al pulmón enfermo. La oxigenación se consigue básicamente a través del pulmón inmóvil "oxigenación apnéica" y el CO<sub>2</sub> es extraído a través de una membrana artificial extracorpórea por *by pass* veno-venoso.

Estas técnicas de oxigenación extracorpórea presentan sin embargo muchas complicaciones sobre todo hemorrágicas debido a la necesidad de heparinizar al paciente. Aunque se han desarrollado técnicas en que la molécula de heparina está covalentemente unida a la superficie sintética del circuito extracorpóreo (Larm y cols., 1983) y esta técnica ha sido utilizada con éxito clínicamente con mínima o nula heparinización sistémica (Bindslev y cols., 1987), la ECMO es utilizada actualmente en pocos centros.

Una nueva técnica de oxigenación es el **oxigenador intravascular o intravenous oxygenator (IVOX)** (Mortensen y Berry, 1989; Cox, 1991 y High y cols, 1992). Se trata de un cilindro con 600 a 1000 fibras huecas de polipropileno cubiertas con silicona que se introduce en el interior de la vena cava inferior a través de la vena femoral. El intercambio de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> se produce en estas fibras por difusión según el gradiente de presiones parciales de los mismos.

### **2.1.9.2. Soporte hemodinámico en el síndrome de distrés respiratorio del adulto**

En el SDRA existe siempre una alteración hemodinámica por la lesión endotelial difusa propia del síndrome. Además la mayoría de medidas de soporte ventilatorio producen un deterioro del gasto cardíaco y del transporte de O<sub>2</sub> a los tejidos. Por lo que estos pacientes precisan casi siempre de soporte hemodinámico.

#### **2.1.9.2.1. Fluidoterapia**

El aumento de la permeabilidad y de la presión capilar pulmonar presente en el SDRA producen edema y aumento de agua extravascular pulmonar. El paso de líquido de un lado a otro de la membrana alveolo-capilar depende fundamentalmente de la presión hidrostática el capilar pulmonar y de la presión coloidosmótica plasmática, según la ecuación de Starling (Grant, 1991).

Una reducción de la presión microvascular pulmonar y un aumento del gradiente osmótico transvascular disminuirían teóricamente la extravasación de líquidos y el edema pulmonar. Un **balance negativo de líquidos** reduce la presión microvascular. La administración de **albúmina u otros coloides** aumentan la presión oncótica, aunque se ha demostrado que con alteraciones de la permeabilidad la albúmina puede pasar al espacio intersticial y tener un efecto adverso (Artigas y Castella, 1991). En el SDRA la fluidoterapia se ajusta para conseguir presiones capilares lo más bajas posibles sin comprometer la perfusión tisular con perfusiones cristaloides.

Los diuréticos reducen también la presión microvascular pulmonar. La **furosemida** reduce el agua y el *shunt* pulmonar, sin modificar la presión capilar o la presión coloidosmótica y este efecto es debido según Ali y Wood (1984) a que la furosemida puede modificar la reactividad pulmonar y producir una redistribución del flujo pulmonar lejos de las zonas edematosas. Costello y cols. (1987) encontraron que una terapia agresiva con furosemida disminuía la presión capilar pulmonar así como la mortalidad en pacientes afectados de SDRA.

#### **2.1.9.2.2. Fármacos inotrópicos**

En la mayoría de pacientes con SDRA el gasto cardíaco está disminuido por las bajas presiones de llenado secundario a la restricción de líquidos, PEEP elevada o aumento de las resistencias vasculares pulmonares. Existe además cierto grado de disfunción miocárdica. Todo ello hace que sean necesario administrar fármacos inotrópicos para mantener el transporte de O<sub>2</sub> (Macnaughton and Evans, 1992).

Los inotrópicos como la **dopamina** y la **dobutamina** aumentan el gasto cardíaco pero agravan poco el shunt intrapulmonar. La dopamina aumenta la presión capilar pulmonar, mientras que la dobutamina la disminuye por lo que sería el fármaco de elección en pacientes con SDRA normotensos (Molloy y cols., 1986).

#### **2.1.9.2.3. Vasodilatadores**

El uso de fármacos vasodilatadores en el SDRA tiene como objetivo disminuir el grado

de hipertensión pulmonar presente en la mayoría de casos.

El efecto de los vasodilatadores en el SDRA ha sido estudiado por varios autores, tanto a nivel experimental: como es el caso del **isoproterenol** (Foy y cols., 1979), **nitroprusiato sódico** (Prewitt y cols., 1981; Ghigone y cols., 1983), **minoxidil** (Bishop y cols., 1985), como a nivel clínico: **nitroprusiato sódico** (Prewitt y cols., 1980; Weigelt y cols., 1982; Zapol y cols., 1985), **isoproterenol** (Zapol y cols., 1985), **hidralacina** (Melot y cols., 1987) y **prostaglandina E<sub>1</sub>** (Shomaker y Appel 1986; Bone y cols., 1989b).

Dichos estudios han demostrado que los vasodilatadores en el SDRA producen un efecto beneficioso al disminuir la presión capilar pulmonar, las resistencias vasculares pulmonares y sistémicas y aumentar el gasto cardíaco. Pero la mayoría de ellos producen un aumento del shunt intrapulmonar al aumentar del gasto cardíaco o al inhibir la vasoconstricción pulmonar hipóxica y favorecer la perfusión de zonas no ventiladas. Además todos producen vasodilatación arterial sistémica y por tanto una disminución de la presión arterial.

La prostaglandina E<sub>1</sub> inhibe la agregación plaquetaria, la activación de macrófagos, la quimiotaxis de neutrófilos y la liberación de enzimas lisosómicos (McCaffree, 1991). Además reduce la presión pulmonar y las resistencias vasculares pulmonares mientras que aumenta el gasto cardíaco y el transporte y consumo de oxígeno (Shoemaker and

Appel, 1986). Sin embargo en estudios multicéntricos (Bone y cols., 1989b) no se ha demostrado que disminuyera la mortalidad en el SDRA.

### **2.1.9.3. Tratamiento farmacológico específico en el síndrome de distrés respiratorio del adulto**

A pesar de los avances en el soporte ventilatorio y hemodinámico los pacientes con SDRA siguen presentando una elevada mortalidad. Es por ello que se han ensayado diversos fármacos destinados específicamente a combatir los diferentes mediadores o potenciadores de la lesión pulmonar en el SDRA.

#### **2.1.9.3.1. Antibióticos**

La sepsis se asocia frecuentemente con el SDRA. Puede ser la causa o bien aparecer como complicación del mismo. La sepsis asociada a SDRA tiene generalmente un origen pulmonar y la causa de muerte en estos pacientes es el síndrome séptico y no la insuficiencia respiratoria (Montgomery y cols., 1985).

La antibioticoterapia tiene un papel fundamental en el tratamiento del SDRA, tanto por vía parenteral según el antibiograma, para el tratamiento específico del proceso infeccioso, como por vía tópica (descontaminación selectiva del tubo digestivo) para la profilaxis de la infección pulmonar nosocomial (Vandenbroucke-Grauls, 1991).

### **2.1.9.3.2. Corticoides**

Los corticoides han sido utilizados para la prevención y el tratamiento del SDRA por sus propiedades antiinflamatorias. Sin embargo tras múltiples estudios sus resultados son controvertidos.

Hace casi dos décadas Sladen (1976) utilizó la metilprednisolona para el tratamiento del pulmón de shock. Algunos estudios experimentales (Brigham y cols., 1981) y clínicos (Flick y Murray, 1984) han demostrado el efecto beneficioso de la metilprednisolona. En otros estudios los corticoides no han sido efectivos ni en el tratamiento (Bernard y cols., 1987) ni en la prevención (Bone y cols., 1987) del SDRA en pacientes sépticos.

Los corticoides son por otra parte depresores del sistema inmune. El riesgo de inmunosupresión e infección secundaria y estos resultados ambivalentes hace que su uso en el SDRA no este estandarizado.

### **2.1.9.3.3. Surfactante**

Se ha demostrado que en el SDRA se produce también un déficit y/o alteración del surfactante pulmonar (Hallman y cols., 1982) al igual que en el distrés respiratorio del recién nacido (Avery y Mead, 1959), aunque en esta última entidad el déficit de surfactante es el mecanismo básico.

El tratamiento con surfactante pulmonar está demostrado que es útil en el distrés del recién nacido (Jobe e Ikegami, 1987), sin embargo en la forma del adulto a pesar de varios estudios (Robertson B, 1980; Lachman, 1987; Enhorning, 1989; Nosaka y cols., 1990; Weg y cols., 1991) no está suficientemente evaluada su eficacia. Nuevos ensayos clínicos y experimentales estan actualmente en desarrollo (Lewis y Jobe, 1993).

#### ***2.1.9.3.4. Antiinflamatorios no esteroideos***

Los fármacos que interfieren con la síntesis del ácido araquidónico han sido utilizados como posible terapia específica en el SDRA.

Los inhibidores de la ciclo-oxigenasa como el **ibuprofen**, la **indometacina** y el **meclofanato** han sido los más estudiados. A nivel experimental estos fármacos reducen la hipertensión pulmonar y la extravasación de células y líquidos (Weidner, 1979). A nivel clínico, Bernard y cols. (1988) demostraron en un ensayo clínico en pacientes sépticos, que el ibuprofen mejoraba la presión arterial, disminuía la frecuencia cardíaca, la ventilación minuto y la presión pico de vía aérea pero sin mejorar la oxigenación.

De los derivados del ácido araquidónico, el tromboxano A<sub>2</sub> es considerado como el mediador más importante en la lesión pulmonar. Los **inhibidores selectivos de la síntesis de tromboxano** han sido efectivos a nivel experimental para reducir la hipertensión pulmonar, así como también los **inhibidores de la síntesis de leucotrienos**. También los **antagonistas del factor activador de las plaquetas** o *platelet activator*

*factor* (PAF) pueden tener un papel importante en la modulación de la lesión pulmonar (Said y Foda, 1989).

#### **2.1.9.3.5. Antioxidantes**

Los radicales libres de oxígeno han sido considerados entre los causantes de lesión pulmonar aguda. Por ello los antioxidantes y los *scavengers* de radicales de oxígeno se han ensayado en la terapéutica del SDRA. Entre estas sustancias se incluyen enzimas como la **superóxido dismutasa** y la **catalasa** y sustancias no enzimáticas como la **desferroxiamina**, las **vitaminas C y E** o la **N-acetilcisteína** (McCaffree, 1991).

Bernard y cols. (1989) en un ensayo clínico con n-acetilcisteína, encontraron un aumento del glutatión en globulos rojos, así como un aumento del gasto cardíaco, del transporte y del consumo de oxígeno.

#### **2.1.9.3.6. Anticuerpos monoclonales**

La inmunoterapia frente al lipo-polisacarido (LPS) o endotoxina de bacterias gram negativas puede tener un papel en el tratamiento de la sépsis que casi siempre acompaña o complica al SDRA.

Los **anticuerpos monoclonales contra la endotoxina o LPS** reducen la mortalidad en pacientes con bacteriemia por gram-negativos (Zeigler y cols., 1991). Sin embargo su uso clínico todavía está por definir.

También se ha estudiado el uso de anticuerpos monoclonales anti-factor de necrosis tumoral o *tumor necrosis factor (TNF)* así como de anticuerpos monoclonales anti-receptor de la interleukina-1 (Lowry y Moldawer, 1992).

#### **2.1.9.3.7. Miscelánea**

En un afán de encontrar una terapéutica eficaz se han ensayado otros fármacos que por diferentes mecanismos podrían ser útiles en el SDRA.

La **almitrina** ha sido utilizada en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica como estimulante respiratorio. En pacientes con SDRA, aunque produce un aumento de la presión arterial pulmonar y del gasto cardíaco, mejora significativamente la oxigenación (Reyes y cols., 1987). Mediante la técnica de gases inertes múltiples se ha demostrado que la almitrina produce una redistribución del flujo arterial pulmonar de zonas no ventiladas hacia zonas con una relación ventilación-perfusión normal, al potenciar la vasoconstricción pulmonar hipóxica (Reyes y cols., 1988).

La **ketanserina** es un antagonista de la serotonina con efectos vasodilatadores. En pacientes con SDRA disminuye la presión arterial pulmonar sin disminuir el gasto cardíaco ni las resistencias vasculares sistémica pero no tiene efecto sobre la oxigenación (Radermacher y cols., 1988).

El **verapamil**, bloqueante de los canales de calcio, a nivel experimental atenúa la hipertensión pulmonar inducida por endotoxina (Parker y cols., 1988).

La **deplección de neutrófilos** reduce a nivel experimental la lesión pulmonar por endotoxina (Hinson y cols., 1983; Modig y Samuelson 1987) pero no en pacientes con SDRA (Ognibene y cols., 1986).

La **pentoxifilina**, fármaco clasificado como una metilxantina, ha sido utilizado como vasodilatador periférico para la claudicación intermitente, tiene importantes efectos antiinflamatorios y atenúa la lesión pulmonar en el SDRA experimental (Ishizaka y cols., 1988).

La **adenosina** y el **peptido intestinal vasoactivo** o *vasoactive intestinal peptide (VIP)* también podrían tener un papel protector de la lesión pulmonar y por lo tanto en la prevención y/o tratamiento del SDRA (Said y Foda, 1989).

## **2.2. MODELOS EXPERIMENTALES DEL SINDROME DE DISTRESS RESPIRATORIO DEL ADULTO**

La investigación sobre el SDRA está dirigida al mejor entendimiento de su patogénesis, pero fundamentalmente a su profilaxis y tratamiento. La investigación clínica en este campo es difícil tanto por la dificultad en predecir que pacientes desarrollaran el cuadro clínico como por la condición de extrema gravedad de los pacientes afectados.

Todo ello ha provocado que la investigación en el SDRA se realice fundamentalmente en modelos experimentales. Sin embargo es difícil encontrar un modelo animal que simule todas las características del SDRA en el hombre. Los modelos animales de lesión pulmonar aguda presentan varias características del SDRA, sin embargo ninguno de ellos puede imitar totalmente al SDRA en humanos. Además la existencia de una diferencia de respuesta entre las especies hace difícil extrapolar los resultados al hombre. No obstante, grandes avances terapéuticos en el campo de las enfermedades respiratorias y de la medicina en general se han basado en la experimentación animal.

Se han desarrollado multitud de modelos de SDRA en diferentes especies animales con el propósito de encontrar el modelo que mejor imitara al SDRA en el hombre y de poder ensayar diferentes maniobras terapéuticas.

El cuadro clínico de SDRA en el hombre es una insuficiencia pulmonar como resultado final de diferentes enfermedades. Así también a nivel experimental se puede reproducir con diferentes agentes. La mayoría de modelos animales son producidos por la inyección endovenosa de diferentes sustancias (bacterias u endotoxinas, ácidos) que provocan lesión pulmonar indirecta. Otros modelos son reproducidos por una lesión pulmonar directa (lavados pulmonares, oxígeno a altas concentraciones, ácido clorhídrico). Unos y otros desarrollan un cuadro de insuficiencia respiratoria cuya característica común es la hipoxemia severa.

En la tabla 7 aparecen diferentes modelos experimentales de SDRA utilizados hasta la fecha en las diversas especies animales, con los agentes causantes de la lesión pulmonar y los autores que los han estudiado.

### **2.2.1 CARACTERÍSTICAS DEL MODELO DE LAVADO PULMONAR**

Los modelos animales de lavado pulmonar se producen mediante la instilación, normalmente de suero fisiológico, en los pulmones seguido de la evacuación del mismo y producen una lesión pulmonar directa.

Rüfer (1967) observó que los lavados bronquio-alveolares repetidos en pulmones aislados de rata producían déficit de surfactante. Fujiwara (1968) demostró que en pulmones postmortem una gran cantidad de fosfolípidos alveolares podían ser eliminados mediante lavados de los espacios aéreos.

*Introducción*

<b>Tabla 7. Otros tipos de lesión pulmonar o extrapulmonar utilizados como modelos experimentales del SDRA</b>		
<b>Animal</b>	<b>Tipo lesión</b>	<b>Autores</b>
oveja	LPS de E.Coli i.v.	Demling y cols.(1985) Wheeler y cols.(1990)
cerdo	Pseudomona i.v.	Harvey y cols.(1987)
oveja	Enterococo i.v.	Barke y cols.(1990)
rata	Virus Sendai e.t.	Van Daal y cols.(1991)
rata	LPS de E.Coli + PAF	Rabinovici y cols.(1993)
perro	ácido oléico i.v.	Boiteau y cols.(1986) Leeman y cols.(1988)
oveja	ácido oléico i.v.	Julien y cols.(1986), Zelter y cols.(1990)
conejo	ácido clorhídrico e.t.	Strohmaier y cols.(1990) Kobayashi y cols (1990)
ratón	O <sub>2</sub> al 100%	Gross y cols.(1981)
conejo	O <sub>2</sub> al 100%	Matalón y cols.(1987)
ratón	irradiación	Gross (1980)
rata	pancreatitis	Guide y cols.(1988)
perro	metil uretano s.c.	Ryan y cols.(1978) Liau y cols.(1987)
conejo rata	metil uretano s.c.	Lewis y cols.(1991), Harris y cols.(1989)
oveja	trombina i.v.	Perlman y cols.(1987)
oveja	médula ósea i.v.	Barie y cols.(1981)
perro	cloruro de etilo i.v.	Sprague y cols.(1986)
rata	isquemia-reperfusión	Schemeling y cols.(1989) Coty y cols.(1990)
rata	vagotomía bilateral	Goldenberg y cols.(1967) Berry y cols.(1986)
oveja perro	phorbol myristate e.v.	Loyd y cols.(1983) Allison y cols.(1986)
cobaya	suero antipulmón	Lachman y cols.(1987)
cobaya	xantin-oxidasa e.t.	Saugstad y cols.(1984)
ratón	ac. antisurfactante	Suzuki y cols.(1988)
ratón	desferoxamina	Adamson y cols.(1993)

PAF (factor activador de plaquetas) LPS (lipolisacarido) e.t.(endotraqueal)

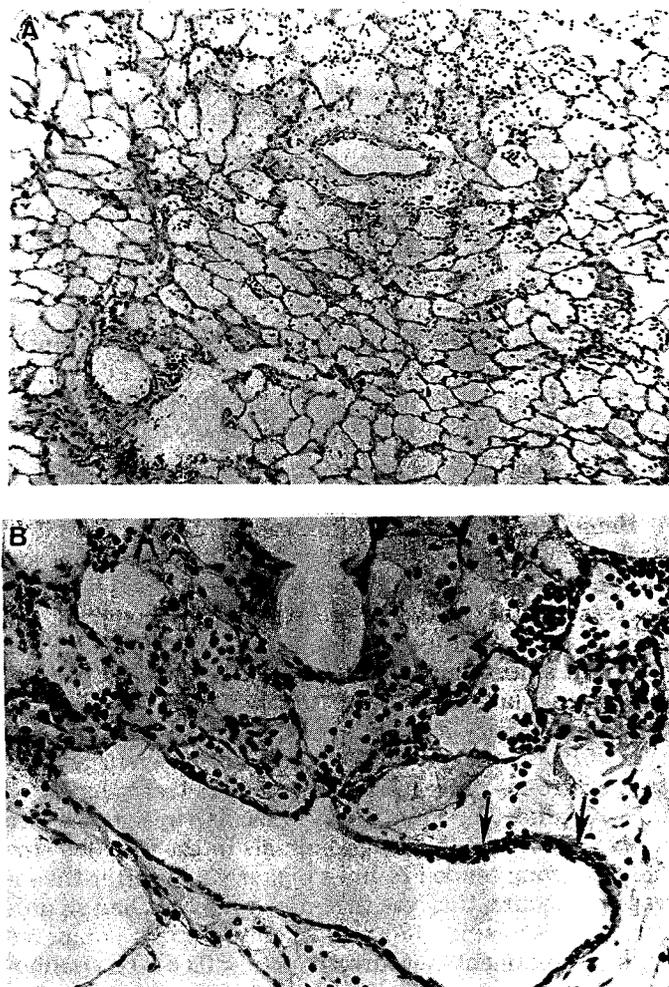
Los lavados bilaterales *in vivo* estimulaban aparentemente la síntesis de nuevo surfactante según Henderson y Hackett (1978).

Lachmann (1980) describió un modelo experimental de déficit de surfactante *in vivo* mediante lavados pulmonares bilaterales y propuso a esta técnica como modelo de síndrome de distrés respiratorio, en particular de la forma del adulto. El modelo podía ser utilizado para la evaluación de medicamentos, técnicas de ventilación etc. Este autor demostró que mediante lavados pulmonares bilaterales repetidos con suero fisiológico en el cobaya adulto se producía una situación similar al síndrome de distrés respiratorio del adulto: hipoxemia severa, disminución de la *compliance* y alteraciones de la difusión del CO<sub>2</sub>. La microscopía óptica demostró la formación de atelectasias, descamación del epitelio bronquial y bronquiolar y membranas hialinas. La microscopía electrónica reveló la presencia de necrosis y descamación de la membrana de los neumocitos y áreas de edema intersticial en las paredes alveolares y bronquiolares. Un cuadro similar fué también reproducido en el conejo por el mismo autor (Lachmann, 1982).

En el conejo adulto otros autores han demostrado que el lavado pulmonar producía además de una alteración en el intercambio de gases, un cuadro de hipertensión arterial pulmonar mantenida, edema alveolar (Hamilton y cols., 1983; Kawano y cols., 1987; Burger y cols., 1991) y formación de membranas hialinas (Hamilton y cols., 1983).

Este modelo experimental de lesión pulmonar aguda mediante lavados pulmonares ha sido reproducido también en el perro (Nieman y cols. 1981); en el cerdo (Kuckelt y cols., 1981) y también en la oveja (Lewis y cols., 1993b). En la figura 1 se muestran unas imágenes microscópicas del pulmón de oveja tras el lavado pulmonar (Lewis y cols., 1993b).

La mayoría de estos modelos se han utilizado para estudiar los efectos del tratamiento con surfactante pulmonar (Berggren y cols., 1986; Robertson, 1991; Lewis y Jobe, 1993a). Otros autores han estudiado en este modelo diferentes técnicas de ventilación mecánica (Lachman y cols., 1982; Hamilton y cols., 1983; Kobayashi y cols., 1984; Mang y cols., 1992). Burger y cols. (1990) estudiaron la acción de fármacos como la indometacina, en este modelo.



**Figura 1.** Imágenes microscópicas de pulmón de oveja tras ser sometido a lavado pulmonar. A: edema intersticial y alveolar e infiltración de neutrófilos (hematoxilina-eosina, 166 aumentos). B: marginación de neutrófilos hacia el endotelio capilar (flechas) y migración de neutrófilos al espacio alveolo-intersticial (hematoxilina-eosina, 416 aumentos). Tomado de Lewis y cols., *J Appl Physiol* 1993b).

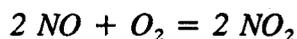
### 2.3. OXIDO NITRICO

#### 2.3.1 CARACTERISTICAS FISICO-QUIMICAS DEL OXIDO NITRICO

El óxido nítrico o *nitric oxide* (NO) es el monóxido de nitrógeno, uno de los óxidos del nitrógeno, junto con el dióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>), tetróxido de nitrógeno (N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) y protóxido de nitrógeno (N<sub>2</sub>O), este último con propiedades anestésicas.

El NO es una molécula sin carga, con un electrón no apareado por lo que se considera como radical libre y comprende varias formas redox: catión nitrosonio (NO<sup>+</sup>), óxido nítrico (NO<sup>·</sup>) y anión nitrosilo (NO<sup>-</sup>) (Stamler 1992).

El NO es un gas incoloro, con una densidad de 1,04 relativa a la del aire y un punto de ebullición de -151,6 °C. Es difícilmente soluble en agua o alcalinos, con los que tampoco reacciona a temperatura y presión ambiental. Se combina rápidamente con el oxígeno para formar un gas rojo-marrón el NO<sub>2</sub> y luego NO<sup>2-</sup> y NO<sup>3-</sup> según las siguientes reacciones:



Tiene un peso molecular de 30, es una molécula inestable con un tiempo de vida media muy corto (3-5 segundos), muy lipofílica, lo que le confiere especial capacidad para atravesar membranas. Se inactiva con el oxígeno y con el anión superóxido (O<sup>2-</sup>) y se

estabiliza con la superóxido dismutasa (SOD). Se combina rápidamente con la hemoglobina para formar metahemoglobina.

### **2.3.2 FARMACOLOGIA DEL OXIDO NITRICO**

Furchgot y Zawadzki (1980) descubrieron que un anillo vascular previamente constreñido con fenilefrina sólo respondía a la acción vasodilatadora de la acetil-colina (Ach) si el endotelio estaba intacto. Estos autores dedujeron que debía de existir un factor (o factores) producido por el endotelio que hacía que el anillo vascular se relajara en respuesta a la Ach. Posteriormente acuñaron el término de *Endothelium-Derived Relaxing Factor* (EDRF) o factor relajante derivado del endotelio (Cherry y cols., 1982)

La vasodilatación endotelio-dependiente ha sido demostrada en varias preparaciones vasculares, incluyendo venas, arterias y capilares, y ocurre en respuesta a varias sustancias como Ach, nucleótidos de adenina, trombina, sustancia P, calcio ionóforo A23187 y bradicinina. Los estímulos como hipoxia, aumento de flujo, y estimulación eléctrica, también producen vasodilatación endotelio-dependiente en preparaciones vasculares *in vitro*. Otros agentes como, la nitroglicerina, el nitroprusiato sódico o los nitritos (nitrovasodilatadores), el factor natriurético atrial, los agonistas beta-adrenérgicos y la prostaciclina, inducen relajación vascular por mecanismos endotelio-independientes (Moncada y cols., 1991).

En 1987, Palmer y Moncada demostraron que células endoteliales en cultivo liberaban EDRF o factor de relajación derivado del endotelio y que compartía las mismas propiedades fisico-químicas con el NO. Estos autores sugirieron que el EDRF y el NO eran idénticos. También en el mismo año Ignarro (1987) demostró que el EDRF producido por anillos vasculares arteriales y venosos era NO.

El EDRF fue identificado como NO o un compuesto nitroso muy lábil que rápidamente liberaba NO. En la tabla 8 aparecen las características fisico-químicas y farmacológicas del EDRF-NO (Moncada y cols., 1988).

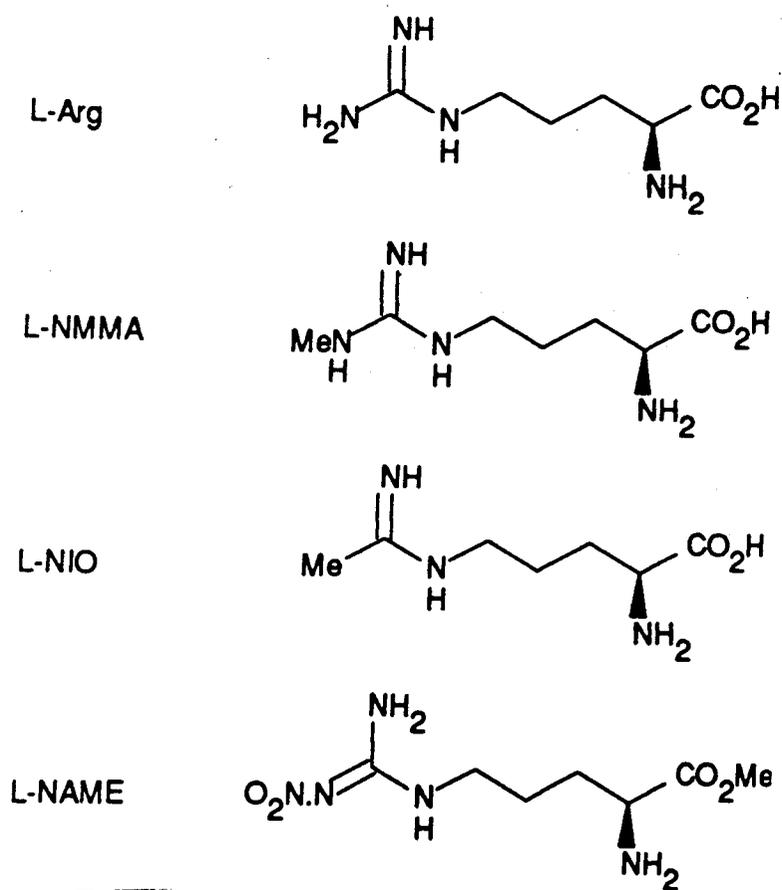
El NO es sintetizado en el endotelio vascular a partir del átomo(s) de nitrógeno guanidino terminal del aminoácido L-arginina (Palmer y cols., 1988; Sakuma y cols., 1988).

Palmer y Moncada (1989) demostraron que el endotelio vascular formaba NO y L-citrulina a partir de L-arginina mediante la acción de una enzima soluble, NADPH dependiente y que era inhibida por análogos de la L-arginina como el N<sup>G</sup>-monometil-L-arginina. Los análogos de la L-arginina son sustancias con una sustitución en el grupo amino del amino-ácido L-arginina e inhiben de manera dosis-dependiente, estereoespecífico para el enantiomero L y por un mecanismo competitivo a las enzimas NOS. La figura 2 muestra diferentes análogos de la L-arginina (Rees y cols., 1989, 1990; Moore y cols., 1990).

**Tabla 8. Propiedades físico-químicas y farmacológicas del factor de relajación derivado del endotelio (EDRF) y del óxido nítrico (NO).**

Propiedad	EDRF	NO
Producido por células endoteliales	+	+
Relaja al músculo liso	+	+
Inhibe la agregación plaquetaria	+	+
Induce disgregación plaquetaria	+	+
Inhibe la adhesión plaquetaria	+	+
Estabilidad (t 1/2, en sec)		
en cascada	3,6±0,1	4,1±0,2
en tubos de polipropileno	30,9±1,9	30,4±2,2
Receptor	GC	GC
Segundo mensajero	GMPc	GMPc
Inhibición por hemoglobina	+	+
Inhibición por sustancias reductoras	+	+
Potenciación por SOD, citocromo C e inhibidores de la FDE-GMPc	+	+
No inhibición por metahemoglobina o inhibidores de la FDE-AMPc	+	+
Reacción con O <sub>2</sub> y aniones superóxido	+	+
Unión a columnas de intercambio iónico	±	±

t 1/2=tiempo de vida media, GC=guanil ciclasa, GMPc= guanosin monofosfato cíclico, AMPc=adenosin monofosfato cíclico, FDE= fosfodiesterasa, SOD=superóxido dismutasa,



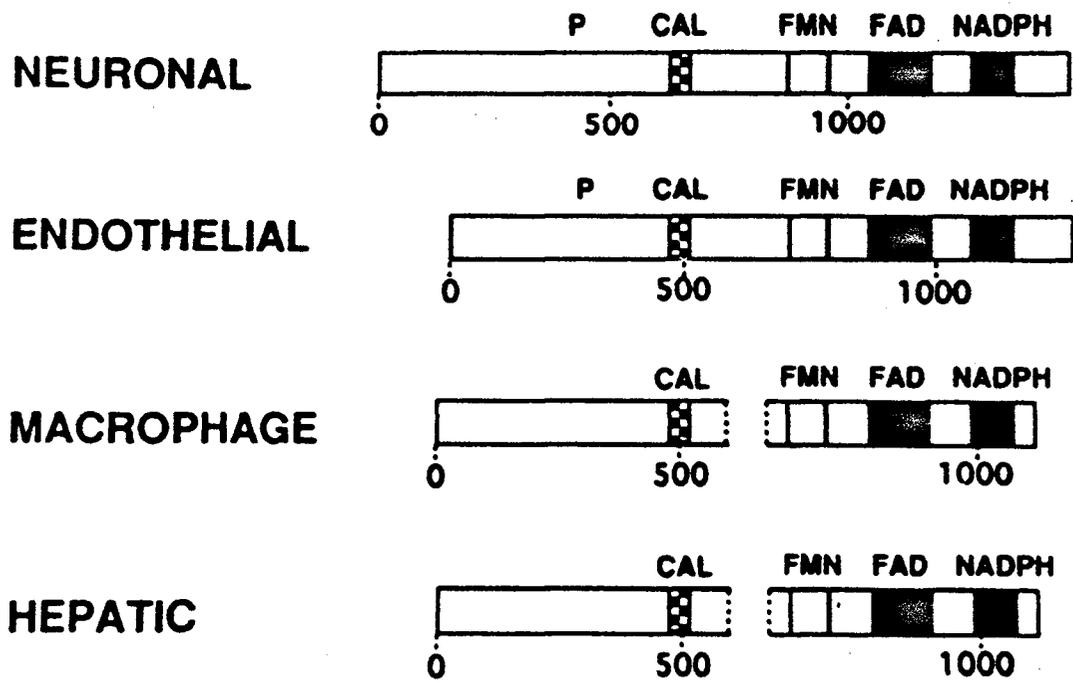
**Figura 2.** Fórmulas estructurales del aminoácido L-arginina (L-Arg) y de sus análogos: N<sup>G</sup>-monometil-L-arginina (L-NMMA), N-iminoetil-L-ornitina (L-NIO) y N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME). Tomado de Rees y cols., Br J Pharmacol 1990.

Posteriormente dicha enzima fue denominada óxido nítrico sintetasa (NOS) (Mayer y cols., 1989; Moncada y cols., 1991). Diferentes tipos de enzimas NOS han sido caracterizadas e identificadas en otras células (figura 3).

Dichas enzimas NOS sintetizan NO, a partir de la L-arginina, además de en el endotelio vascular en: el cerebro (Moncada 1989), fundamentalmente en el sistema nervioso central, cerebelo y en ciertos nervios periféricos; en el sistema inmunológico, macrófagos (Marletta, 1988) y neutrófilos (Schmidt, 1989); hepatocitos y células de Kupffer (Billiar 1989); en las plaquetas (Radomski, 1987) y en las glándulas suprarrenales (Palacios, 1989).

Han sido identificadas dos isoformas de NOS: una **NOS constitutiva**, particulada y citosólica,  $Ca^{+2}$ /calmodulin dependiente y una **NOS inducible**, citosólica,  $Ca^{+2}$ /calmodulin independiente. Las dos son di-oxigenasas, NADPH- dependientes y son inhibidas por análogos de la L-arginina. La primera isoforma se encuentra en el sistema nervioso, endotelio vascular y plaquetas, mientras que la segunda se halla en el sistema inmunológico y su expresión depende de estímulos como endotoxinas y/o interferon gamma (Moncada y cols., 1991).

La isoforma constitutiva se halla siempre presente en las células endotelial y nerviosa, pero es inactiva hasta que se produce un aumento del calcio intracelular, este se une a la calmodulina y el complejo calcio-calmodulina se une y activa a la NOS. La NOS



**Figura 3.** Representación esquemática de la estructura de las diferentes formas clonadas de la enzima óxido nítrico sintetasa con los lugares de enlace para el cofactor. CAL = lugar de enlace para la calmodulina; FMN = mononucleótido de flavina; FAD = adenina dinucleótido de flavina; NADPH = dinucleótido de adenina fosfato de nicotinamida reducida; P = lugar de fosforilización por la proteína-cinasa fosfato-dependiente. Los lugares de enlace para el hemo, arginina y tetrahidrobioproteína son todavía desconocidos. Tomado de Lowenstein y cols., *Ann Inter Med* 1994.

constitutiva sintetiza pequeñas cantidades de NO hasta que el calcio intracelular disminuye. Esta síntesis intermitente de pequeñas cantidades de NO produce desde transmisión de señales hasta la relajación mantenida de la fibra muscular lisa. Por el contrario, la isoforma inducible no se encuentra normalmente presente en los macrófagos y hepatocitos y solo aparece cuando estas células son activadas por citocinas específicas u endotoxinas. La NOS inducible una vez producida sintetiza continuamente grandes cantidades de NO. La producción continuada de grandes cantidades de NO sirve para destruir o inhibir a patógenos del organismo (Lowenstein y cols., 1994).

La tabla 9 muestra los receptores moleculares para el NO. El receptor mejor conocido es el hierro presente en ciertas proteínas como grupo hemo o como complejo hierro-sulfuro. El NO ejerce algunos de sus efectos al unirse con enzimas que contienen hierro activándolos o inhibiéndolos (Lowenstein y cols., 1994).

Arnold y cols. (1977) demostraron que el NO activa directamente a la enzima guanil ciclasa, quien transforma el guanosin monofosfato (GTP) en guanosin monofosfato 3':5'-cíclico (GMPc), en varias preparaciones de tejidos (pulmón, traquea, hígado, corazón, riñón, cerebro y cerebelo, músculo esquelético). La guanil ciclasa ha sido descrita virtualmente en todos los tipos de células y se han identificado dos isoenzimas (citosólica o soluble y particulada), Waldman y Murad (1987). Pero no fue hasta unos años más tarde en que se demostró que la relajación del músculo liso vascular producido por los nitrovasodilatadores (nitroglicerina, nitroprusiato sódico) y por los vasodilatadores endotelio-dependientes (acetilcolina, ATP, etc.) se asociaba a un

<b>Tabla 9. Receptores moleculares para el óxido nítrico.</b>		
<b>Molécula</b>	<b>Mecanismo</b>	<b>Receptor</b>
Proteínas	Unión al grupo hemo	Guanil ciclasa Hemoglobina NADPH-ubiquinona Oxidoreductasa Succinato-ubiquinona
	Unión al hierro-sulfuro	Cis-aconitasa Ribonucleotido reductasa
Acidos nucleicos	Deaminación	ADN
Radicales		Superóxido

ADP = adenosin difosfato; GAPDH = gliceroaldehido-3-fosfato dehidrogenasa; NADPH = adenina dinucleótido fosfato nicotinamida.

aumento del GMPc (Grueter y cols., 1981; Ignarro y cols, 1981,1984). Todos estos vasodilatadores actuan a través de la vía NO-guanil ciclasa-GMPc. El GMPc es el mediador de la vasodilatación o relajación del músculo liso y el NO es considerado como el *nitrovasodilatador* endógeno (Murad, 1986).

La enzima guanil ciclasa puede ser inhibida por sustancias como cisteína, azul de metileno, ferrocianida, hemoglobina, metahemoglobina, hidroquinonas. La degradación del GMPc a su vez se puede prevenir mediante por los inhibidores de la fosfodiesterasa específica para el GMPc. (Walmand y Murad, 1987).

En la figura 4 se describe la vía L-arginina-óxido nítrico-GMPc, mediadora de la vasodilatación vascular. El descubrimiento de esta vía, presente en la mayoría de células de los mamíferos incluido el hombre, y su manipulación farmacológica ha abierto una nueva era para la investigación.

Las investigaciones de los últimos años desde diversos campos de la medicina están demostrando la importancia biológica del NO. El NO es una molécula de una gran relevancia fisiológica, fisiopatológica y clínica.

### **2.3.3 ACCIONES FISIOLÓGICAS DEL ÓXIDO NÍTRICO**

Las funciones fisiológicas del NO han sido extensamente estudiadas en los sistemas cardio-vascular, inmunológico y nervioso.

#### **2.3.3.1. Sistema cardiovascular**

A nivel vascular el NO actúa como un potente vasodilatador (Moncada y cols., 1991). La síntesis basal endógena de NO por las células endoteliales vasculares es la responsable de mantener el sistema vascular en estado de vasodilatación y por lo tanto de regular la presión arterial (Rees y cols., 1989). Además la liberación de NO por las terminaciones nerviosas no adrenérgicas ni colinérgicas también podría contribuir a la regulación del flujo sanguíneo y de la presión arterial (Rand, 1992).

La administración de inhibidores de la síntesis endógena de NO aumenta el tono vascular y la presión arterial en todos los lechos vasculares. La acción de estos inhibidores es enteramente dependiente del endotelio y su acción vasoconstrictora se produce al inhibir el tono vasodilatador dependiente del NO endógeno.

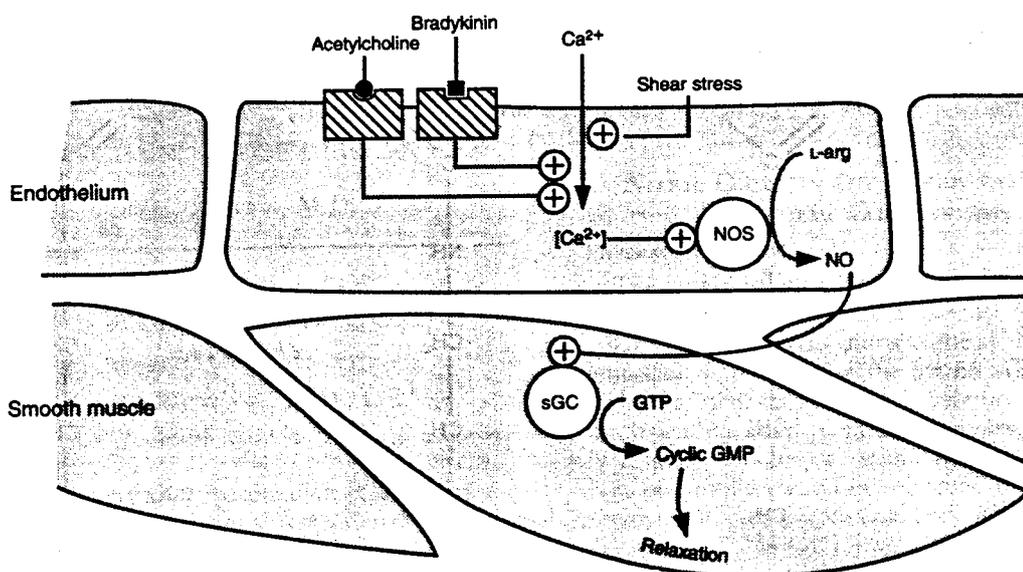


Figura 4 Vía L-arginina-óxido nítrico-GMP cíclico presente en el endotelio y músculo liso vascular. Los cambios de tensión o la activación de receptores endoteliales por la bradicinina o acetilcolina producen un influjo de calcio dentro de la célula endotelial. El aumento de calcio intracelular activa la forma constitutiva de la enzima óxido nítrico sintetasa ( $NOS$ ) la cual produce óxido nítrico ( $NO$ ) a partir del aminoácido L-arginina ( $L\text{-arg}$ ). El  $NO$  difunde hacia la célula muscular lisa vecina, donde estimula la forma soluble de la enzima guanil ciclasa ( $sGC$ ), produciendo un aumento de guanosín monofosfato cíclico ( $cGMP$ ) a partir de guanosín trifosfato ( $GTP$ ). Este aumento de  $cGMP$  en el músculo liso produce relajación del mismo. Tomado de Moncada y Higgs, *N Engl J Med* 1993.

A nivel **sistémico** la inhibición de la síntesis endógena de NO produce hipertensión arterial en diferentes especies animales (Rees y cols., 1989; Aisaka y cols., 1989) y también en el hombre (Woolfson y Poston, 1990). A nivel de la microcirculación la inhibición de la síntesis de NO aumenta la permeabilidad vascular (Kubes y Granger, 1992).

A nivel de la circulación **pulmonar** el NO también regula el tono vascular ya que se ha demostrado que su inhibición produce un aumento de las resistencias vasculares pulmonares e hipertensión pulmonar (Wiklund y cols., 1990). Estos autores sugieren además que el NO regula la vasoconstricción pulmonar hipóxica, la distribución ventilación/perfusión y por tanto la oxigenación arterial. Archer y cols. (1989) y Liu y cols. (1991) han demostrado que la inhibición de la síntesis de NO aumenta la vasoconstricción pulmonar hipóxica. El NO también sería el responsable del cambio de circulación fetal al nacer (Abman y cols., 1990).

La circulación **coronaria** también está regulada por la síntesis endógena de NO (Amezcuca y cols., 1989; Smith y cols., 1992; Lefroy y cols., 1993).

El NO a nivel vascular tiene además otras importantes acciones como la inhibición de la adhesión (Radomski y cols., 1987) y de la agregación plaquetaria (Radomski y cols., 1990). Kubes y cols. (1991) sugieren que el NO también modula la emigración y adhesión leucocitaria característica de la inflamación. El NO además también inhibe la proliferación de células musculares lisas (Garg y Hassid, 1989).

#### **2.3.3.2. Sistema inmunológico**

La producción de NO tiene un papel en la defensa no específica del organismo. El NO es el responsable de la citotoxicidad inducida por macrófagos (Hibbs y cols., 1988). Cuando los neutrófilos y macrófagos son estimulados por endotoxinas bacterianas producen grandes cantidades de NO que tiene efectos citotóxicos sobre las mismas.

#### **2.3.3.3. Sistema nervioso**

En el sistema nervioso central el NO actúa de neurotransmisor en varias vías neurológicas específicas (Garthwaite y cols., 1988; Bredt y cols., 1990). El NO es responsable de la neurotoxicidad inducida por glutamato (Snyder y Brendt, 1992). También actúa en el sistema nervioso periférico en la llamada neurotransmisión no colinérgica ni adrenérgica (Bult y cols., 1990). La vía L-arginina-NO también podría estar implicada en la transmisión de la información nociceptiva (Duarte y cols., 1990), y en el mantenimiento del estado de vigilia y en la memoria.

#### **2.3.3.4. Otras células y tejidos**

La vía L-arginina-NO también está presente en las glándulas suprarrenales, sin embargo su papel no está claro. Es posible que actúe regulando la síntesis y secreción de hormonas adrenales (Moncada y cols, 1991).

#### **2.3.4. MECANISMOS FISIOPATOLOGICOS DEL OXIDO NITRICO**

Las alteraciones en la producción endógena de óxido nítrico, tanto en déficit como en exceso, se consideran actualmente como el mecanismo fisiopatológico de varias enfermedades (Moncada y Higgs, 1993).

##### **2.3.4.1. Déficit de la síntesis endógena de óxido nítrico**

Un déficit en la síntesis endógena de NO contribuye a enfermedades como la **hipertensión arterial esencial** (Panza y cols., 1990), la **arteriosclerosis** (Forsterman, 1986) y la **enfermedad coronaria** (Forsterman, 1988).

En la **hipertensión pulmonar hipóxica** (Warren y cols., 1989, Adnot y cols., 1991), en la hipertensión de la **enfermedad pulmonar obstructiva crónica** (Dinh-Xuan y cols., 1991), en la **fibrosis quística** (Dinh-Xuan y cols., 1989) y en pacientes con **síndrome de Eisenmenger's** (Dinh-Xuan y cols., 1990) se ha demostrado una disminución en la producción de NO por el endotelio vascular pulmonar.

En la **insuficiencia renal crónica** una acumulación de inhibidores endógenos de la síntesis de NO y por lo tanto una disminución de NO podría contribuir a la hipertensión arterial y a la disminución de las defensas propias de estos pacientes (Wallace y cols., 1992).

En vasos umbilicales de pacientes con **hipertensión inducida por el embarazo** se ha demostrado una disminución en la producción de NO o factor relajante derivado del endotelio (Pinto y cols., 1991).

El **vasoespasmio cerebral posthemorragia subaracnoidea** se ha sugerido que podría ser debido a una inhibición del NO por la hemoglobina (Moncada y cols., 1991).

El NO es mediador de la erección peneana (Burnett y cols, 1992), por lo tanto la **impotencia** podría ser debida a una disminución de la síntesis de NO a nivel los vasos peneanos.

El NO reacciona con el anión superóxido y genera radicales hidroxilo responsables de la lesión celular post-reperfusión, por lo tanto se ha implicado al NO como mediador en los **síndromes post-reperfusión** (Matheis y cols., 1992).

#### **2.3.4.2. Exceso de la síntesis endógena de óxido nítrico**

Un exceso en la producción endogena de NO estimulada por endotoxinas y citocinas (interferon -gamma, factor de necrosis tumoral, interleucinas) se cree que es causa de la vasodilatación, la hipotensión y la hiporeactividad vascular características del **shock séptico** (Moncada y cols., 1991; Kilbourn y cols., 1990; Joulou-Schaeffer y cols., 1990; Thiemermann y Vane, 1990).

El estado circulatorio hiperdinámico característico de la **cirrosis hepática** y la **hipertensión portal crónica** puede ser debido también a una sobreproducción endógena de NO (Wallace y Moncada 1991; Pizqueta y cols., 1992).

En las reacciones de **rechazo de órganos** una sobreproducción endógena de NO podría actuar como citotóxico contra el injerto (Langrehr y cols., 1992).

El mecanismo fisiopatológico del **priapismo** podría explicarse también por una liberación continua de NO y por tanto vasodilatación continuada de los vasos peneanos (Burnett y cols., 1992).

### **2.3.5 OXIDO NITRICO INHALADO**

El NO es un gas en condiciones atmosféricas, se produce en los procesos de combustión y forma parte de la polución ambiental. Es precursor de la lluvia ácida, destructor de la capa de ozono y posible carcinógeno, por lo que hasta hace poco tiempo era considerada una molécula tóxica. Pero los descubrimientos de los últimos cinco años, han demostrado que ésta pequeña, simple y a veces tóxica molécula sea posiblemente uno de los más importantes mensajeros y/o reguladores de la fisiología animal (Culotta E y Koshland DE, 1992).

## *Introducción*

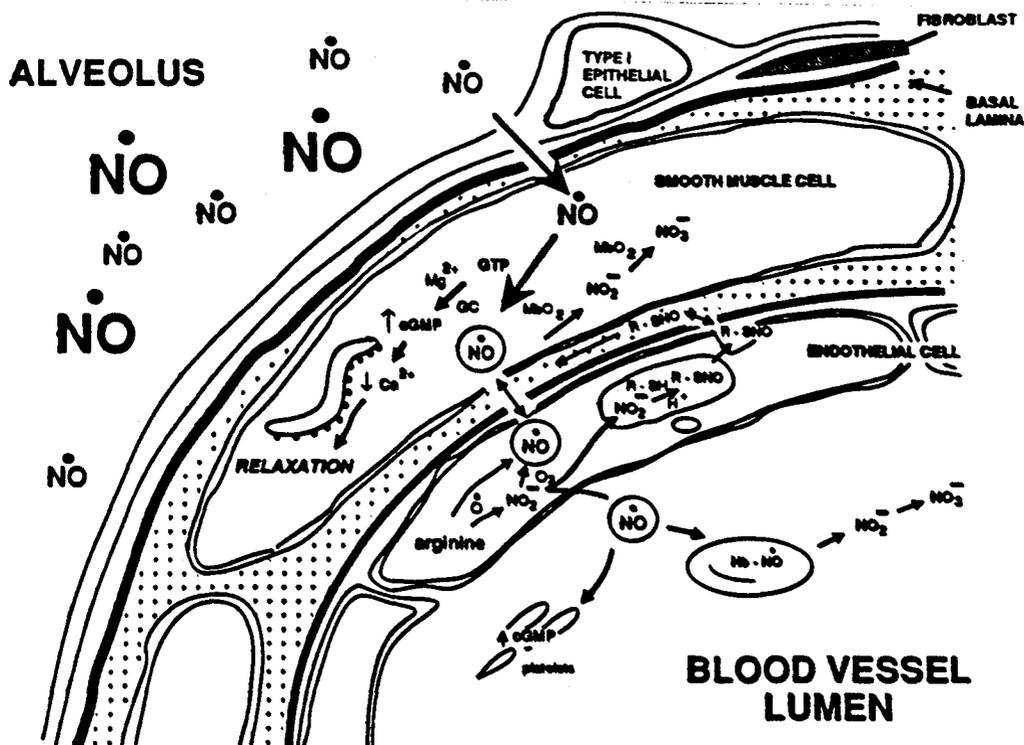
---

El NO es una molécula gaseosa y como gas puede ser almacenado y administrado por vía inhalatoria. La inhalación de NO gas se inició con la idea de por esta vía, el NO actuaría directamente a nivel de la parte extraluminal de los vasos pulmonares y su acción sería selectiva sobre los mismos.

El NO inhalado llega al alvéolo, atraviesa la barrera de la célula epitelial y entra en la célula muscular lisa donde estimula directamente a la enzima guanil ciclasa, transformando el GTP en GMPC y produciendo relajación de dicha célula. A su vez el NO difunde a través de la célula endotelial hacia la luz del vaso donde se combina con gran afinidad con la hemoglobina y desaparece su acción. En la figura 5 se representa un esquema del camino que sigue el NO cuando llega al alvéolo por vía inhalatoria y los mecanismos por los cuales produce vasodilatación pulmonar selectiva.

En 1990 Higebottam comunicó que la inhalación del factor de relajación derivado del endotelio (EDRF) u óxido nítrico (NO) por pacientes con hipertensión pulmonar primaria disminuía el grado de hipertensión. Frostell y cols. (1991) publicaron el primer trabajo experimental que demuestra que el NO inhalado actúa como vasodilatador pulmonar selectivo.

A partir de entonces varios estudios experimentales y clínicos han demostrado el efecto vasodilatador selectivo de la inhalación de NO en la hipertensión pulmonar de diversas etiologías.



**Figura 5.** Esquema del camino que sigue el óxido nítrico (NO) cuando llega al alvéolo por vía inhalatoria y mecanismo por el cual produce vasodilatación pulmonar selectiva. El NO pasa directamente desde el alvéolo a la célula muscular lisa y produce relajación de la misma; parte del NO atraviesa la célula endotelial y llega a la luz del vaso donde se combina rápidamente con la Hb o entra en las plaquetas evitándose así su paso a la circulación sistémica. GTP=guanostín trifosfato; cGMP=guanostín monofosfato cíclico; GC=guanil ciclasa; Hb=hemoglobina; Mb=mioglobina; SH=sulfidrilo. Tomado de Fratacci y cols., *Anesthesiology* 1991.

#### **2.3.5.1. Estudios experimentales**

A nivel experimental la inhalación de NO reduce la hipertensión pulmonar hipóxica en la oveja (Frostell y cols., 1991; Pison y cols., 1993) y en el perro (Channick y cols., 1992).

La vasoconstricción pulmonar inducida en la reacción heparina-protamina en la oveja adulta es inhibida por la inhalación de NO (Frattaci y cols., 1991).

En la oveja recién nacida la inhalación de NO disminuye la hipertensión pulmonar provocada por hipoxia y acidosis (Roberts y cols., 1992a).

En el cobaya (Dupuy y cols., 1992) y en el conejo (Högman y cols., 1993) la inhalación de NO produce broncodilatación tras la broncoconstricción inducida por metacolina.

La inhalación de NO atenua la hipertensión pulmonar tras la infusión endovenosa de endotoxinas en el cerdo (Berger y cols., 1993; Weitzberg y cols., 1993) y tras la instilación de endotoxinas a nivel pulmonar en el perro (Quezado y cols., 1993).

#### **2.3.5.2. Estudios clínicos**

A nivel clínico la inhalación de NO ha sido efectiva en pacientes con hipertensión pulmonar crónica (Pepke-Zaba y cols., 1991), al reducir la presión pulmonar.

En la hipertensión pulmonar persistente del recién nacido (Roberts y cols., 1992; Kinsella y cols., 1992), la inhalación de NO disminuye la hipertensión pulmonar y mejora la saturación de O<sub>2</sub>.

En el SDRA el NO inhalado reduce la presión pulmonar, disminuye el shunt intrapulmonar al aumentar el flujo pulmonar hacia los alveolos bien ventilados y no modifica el gasto cardíaco (Rossaint y cols., 1993; Bigatello y cols., 1992).

Blomqvist y cols. (1993) comunicaron un caso de neumonía severa en que la inhalación de NO mejoró la oxigenación y aceleró la resolución del cuadro.

La inhalación de NO revierte la vasoconstricción pulmonar hipóxica en voluntarios sanos (Frostell y cols., 1993a).

En las cardiopatías congénitas (Roberts y cols., 1993b) y en la hipertensión pulmonar tras cirugía cardíaca (Girard y cols., 1992, 1993; Rich y cols., 1993; Berner y cols., 1993; Selldén y cols., 1993; Wessel y cols., 1993), el NO por vía inhalatoria reduce la presión pulmonar sin producir vasodilatación sistémica.

#### **2.3.5.3 Toxicidad del NO inhalado**

El NO gas es tóxico cuando se inhala a grandes concentraciones (Clutton-Brock, 1967).

La toxicidad del NO por vía inhalatoria se produce por:

1) Su oxidación por el O<sub>2</sub>. En contacto con O<sub>2</sub> el NO se oxida a NO<sub>2</sub> según la reacción:



El NO<sub>2</sub> produce toxicidad pulmonar directa.

Estudios experimentales demuestran que la inhalación de NO a grandes dosis no produce lesión pulmonar. Ratas expuestas a 1000 partes por millón (ppm) de NO durante 30 minutos (Stavert y Lehnert, 1990) y conejos expuestos a 43 ppm durante 6 días (Hugod, 1979) no presentaron alteraciones pulmonares ni edema pulmonar. En cambio la exposición a concentraciones de NO<sub>2</sub> tan bajas como 2 ppm producen aumento del agua extravascular pulmonar en ratas (Evans y cols., 1972).

En humanos la inhalación de 30 ppm durante 15 minutos no produce alteraciones de la función respiratoria (von Nieding y cols., 1973).

La administración americana para la higiene y seguridad en el trabajo (*US Occupational Safety and Health Administration*) acepta como máximo una concentración en los ambientes de trabajo de 25 ppm de NO y 5 ppm de NO<sub>2</sub> (OSHA, 1988).

Otro mecanismo de la toxicidad del NO inhalado es por:

2) Su combinación con la hemoglobina. El NO se combina rápidamente con la oxihemoglobina y forma metahemoglobina según la reacción:



La estructura hemo de la hemoglobina tiene una afinidad por el NO unas 1500 veces más que para el monóxido de carbono (Gibson y Roughton, 1957), y se forma nitrosilo-hemoglobina (Oda y cols., 1975) siendo ésta oxidada a metahemoglobina en presencia de O<sub>2</sub>. La metahemoglobina es metabolizada a nitratos y parte del NO es reducido por la hemoglobin-reductasa de los hematíes (Kuma, 1981).

En animales de experimentación respirando 5-80 ppm de NO de 1-3 horas, los niveles de metahemoglobina aumentaron un promedio de 1,06% a 1,29% (Frostell y cols., 1991). En humanos (von Nieding y cols., 1979) la inhalación de 30 ppm de NO durante 15 minutos, los niveles de metahemoglobina aumentaron un 0,52% desde unos valores basales de 0,72%. Rossaint y cols. (1993) también midieron niveles de metahemoglobina bajos, inferiores a un 1,3%.

Según los estudios disponibles la toxicidad del NO por vía inhalatoria parece ser muy baja cuando este gas es inhalado a bajas concentraciones. Por ello a la luz de estos estudios preliminares en animales y en humanos, el NO inhalado puede ser una terapia

alternativa de la hipertensión pulmonar asociada a diferentes enfermedades cardiopulmonares.

En condiciones fisiológicas se produce una eliminación del NO endógeno, aunque a concentraciones del orden de partes por billón (ppb), a través de los pulmones. Así el NO ha sido medido en el aire espirado de animales y humanos a concentraciones de 5 a 20 ppb (Gustafsson y cols., 1991).

#### **2.3.5.4. Recomendaciones para la administración de NO por vía inhalatoria**

Para una administración segura del NO por vía inhalatoria es imprescindible su monitorización.

El NO, así como el NO<sub>2</sub> reaccionan químicamente en segundos con el ozono u átomos de O<sub>3</sub> produciendo emisión de luz, según las reacciones:



Esta propiedad permite la monitorización de estos gases mediante la técnica de quimioluminiscencia (Fontijn y cols., 1970). Por quimioluminiscencia se puede conocer tanto la concentración de NO que se está administrando como la concentración de NO<sub>2</sub> de la mezcla inspiratoria de gases.

Las concentraciones de NO y NO<sub>2</sub> también se pueden monitorizar mediante espectometría de masa, y por métodos electroquímicos.

En general la producción de NO<sub>2</sub> al mezclar el NO con el O<sub>2</sub> depende de la concentración inicial de NO, de la fracción inspiratoria de O<sub>2</sub> (FiO<sub>2</sub>) y del tiempo de contacto entre ambos. Varios autores (Foubert y cols., 1992; Buochet y cols., 1993; Laguenie y cols., 1993) han medido la formación de NO<sub>2</sub> a partir de NO+O<sub>2</sub> y todos concluyen que son necesarias concentraciones elevadas de NO y exposiciones muy prolongadas para obtener niveles superiores a los 5 ppm de NO<sub>2</sub>, considerados como seguros por la OSHA. Además si el flujo de gas fresco es elevado (10 l/min) el tiempo de contacto entre el NO y el O<sub>2</sub> es mínimo y la producción de NO<sub>2</sub> despreciable (Laguenie y cols., 1993) incluso con elevadas FiO<sub>2</sub>.

Sin embargo algunos autores (Foubert y cols, 1992; Frostell y cols., 1993a) recomiendan la incorporación de un canister de cal sodada en la rama inspiratoria del respirador para reabsorber el NO<sub>2</sub> formado en la mezcla de gases (de la misma manera que se reabsorbe el CO<sub>2</sub>), aunque se sabe poco sobre su eficacia clínica.

El NO debe ser almacenado en nitrógeno puro y mezclado con el O<sub>2</sub> justo antes de ser administrado, para disminuir el tiempo de contacto entre ambos.

## *Introducción*

---

Se debe ensayar la dosis mínima efectiva de NO en cada caso e intentar administrar la concentración más baja posible.

La concentración de metahemoglobina plasmática debe ser medida intermitentemente sobre todo en administraciones prolongadas.

Cumpliendo con todas estas recomendaciones la inhalación de NO a la luz de los estudios realizados hasta el momento se puede considerar exenta de riesgos.



### **3. HIPÓTESIS**



### **3.1. HIPÓTESIS**

Las hipótesis del presente estudio fueron formuladas a partir de que el óxido nítrico por vía inhalatoria tiene una acción limitada al lecho vascular pulmonar y al ser un producto natural endógeno se puede manipular su síntesis y dilucidar su mecanismo de acción.

Las hipótesis planteadas fueron que la inhalación de óxido nítrico, en un modelo experimental de SDRA adecuado, produciría una vasodilatación pulmonar selectiva y una mejoría de la oxigenación, sin producir ningún efecto vascular sistémico, siendo dichos efectos independientes del gasto cardiaco; además al aumentar la vasoconstricción pulmonar hipóxica con la inhibición de la síntesis endógena de óxido nítrico, se potenciarían sus efectos sobre el intercambio de gases; dichos efectos serían revertidos con la administración del precursor de la síntesis endógena de óxido nítrico; y por último, la inhalación de óxido nítrico aumentaría la formación de GMPC en el pulmón, segundo mensajero efector final de su acción.

Para probar estas hipótesis se han estudiado los efectos de la inhalación de óxido nítrico, de la infusión de N<sup>G</sup>-nitro L-arginina (LNAME), inhibidor de la enzima óxido nítrico sintetasa y de la administración de L-arginina, precursor natural del óxido nítrico endógeno, en ovejas anestesiadas y ventiladas mecánicamente, después de la inducción de una lesión pulmonar mediante lavados pulmonares, variando mecánicamente el gasto cardíaco y midiendo los niveles plasmáticos de GMPC.

### **3.2. OBJETIVOS**

- 1.- Investigar los efectos de la inhalación de óxido nítrico sobre la hemodinámica pulmonar y sistémica y sobre el intercambio de gases y *shunt* intrapulmonar en un modelo experimental de SDRA.
- 2.- Investigar si con la infusión de N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina metil ester, inhibidor de la síntesis endógena de óxido nítrico, se potencian los efectos de la inhalación de óxido nítrico sobre el intercambio de gases y *shunt* intrapulmonar.
- 3.- Demostrar que el efecto de la inhalación de óxido nítrico sobre la hemodinámica pulmonar y el intercambio de gases es independiente del gasto cardíaco.
- 4.- Comprobar el mecanismo de acción de la inhalación de óxido nítrico.

## ***4. MATERIAL Y MÉTODOS***



#### **4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO**

Se trata de un estudio experimental que consta de dos fases, una fase preliminar en la que se analizan las características del modelo experimental y las terapéuticas a estudiar y una fase experimental en la que se realiza el estudio experimental propiamente dicho.

El estudio experimental es un estudio prospectivo en el que se ensayan tres maniobras terapéuticas y en el que cada animal sirve como su propio control. Las diferentes terapias fueron administradas siempre en el mismo orden, no pudiendo ser randomizadas por sus características farmacodinámicas.

La realización de este estudio ha sido llevada a cabo en el Anesthesia Research Laboratory (Wellman Building Research) del Massachusetts General Hospital de Boston, USA.

#### **4.2 CRITERIOS DE SELECCION DE LOS ANIMALES**

Todos los diseños experimentales fueron aprobados por el Subcomité de Protección de Animales para la Investigación del Hospital General de Massachusetts.

Se proyectó estudiar a 30 ovejas adultas sanas de la raza Suffolk con un peso entre 30 y 35 Kg. Los animales para la investigación eran proporcionados al Laboratorio por la Granja Pearson (New Hampshire). Los animales llegaban al estabulario del Wellman Building Research el día anterior al estudio y se les mantenía con libre acceso al agua hasta el momento del experimento.

Las ovejas seleccionadas para el estudio debían cumplir los siguientes criterios de inclusión:

- \* Temperatura central no superior a 40,2 °C
- \* Recuento de leucocitos entre 3500 y 10000 células/mm<sup>3</sup>.
- \* Presión media de arteria pulmonar no superior a 20 mmHg.
- \* Mezcla venosa inferior o igual al 17%.

Estos criterios de inclusión fueron tomados de Halmagyi y Colebatch (1991) como normales para la oveja anestesiada en decúbito supino.

Tres ovejas no pudieron ser incluidas en el estudio al no cumplir todos los criterios de inclusión. Seis ovejas tuvieron que ser excluidas del estudio porque fallecieron antes de terminar el estudio: una por hemorragia durante la instrumentación, tres por neumotórax durante el lavado pulmonar y las otras dos por rotura de la vena cava inferior durante la insuflación del balón para disminuir el gasto cardíaco.

Se completó el estudio en un total de 21 ovejas.

### **4.3 PREPARACION E INSTRUMENTACION DE LOS ANIMALES**

#### **4.3.1 ANESTESIA**

Las ovejas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico a una dosis de 30 mg/kg inyectado por vía intravenosa por punción directa de la vena yugular interna izquierda.

A continuación se colocaban en decúbito supino en una mesa especialmente diseñada para animales grandes. Eran intubadas por vía orotraqueal con un tubo Rush n° 9 y ventiladas mecánicamente a una frecuencia de 15 respiraciones/min y 15 ml/kg de volumen corriente con un ventilador para animales grandes (Harvard Apparatus, Natick, MA) para conseguir un CO<sub>2</sub> espirado final entre 32-45 mmHg, medido mediante capnografía (Traverse Medical Monitors, model 2200, Saline, MI).

La fracción inspiratoria de oxígeno (FiO<sub>2</sub>) se mantuvo entre 0,85-0,90 monitorizada continuamente con un oxímetro (Hudson Ventronics Division, Temecula, CA).

Se aplicó una presión expiratoria final positiva (PEEP) de 5-7 cmH<sub>2</sub>O y suspiros manuales de 30 cmH<sub>2</sub>O cada hora.

La presión inspiratoria máxima de vías aéreas (P<sub>imax</sub>) fue monitorizada continuamente con un transductor diferencial de presión calibrado (Validyne, Northridge, CA).

El mantenimiento de la anestesia se hizo con una infusión continua de pentobarbital de 5 mg/kg/min y la relajación muscular con 0,1 mg/kg cada dos horas.

La temperatura corporal se mantuvo entre 37-39 °C con un calentador externo.

#### **4.3.2 INSTRUMENTACION**

Se colocó un catéter de termodilución 7F (Edwards Laboratory, Santa Ana, CA) en la arteria pulmonar a través de la vena yugular interna derecha con un introductor 8F (Cordis, Miami, FL) para medir presiones pulmonares, gasto cardíaco, temperatura central y obtener muestras de sangre venosa mixta.

La arteria femoral se canuló con un catéter de polivinilo (8mm DI) avanzando unos 20 cm en el interior de la aorta para monitorización continua de la presión arterial sistémica y para obtener muestras para análisis de gases arteriales.

Una catéter Foley 16F (con balón de 30cc) se introdujo en la vena cava inferior vía vena femoral derecha para control del retorno venoso y del gasto cardíaco.

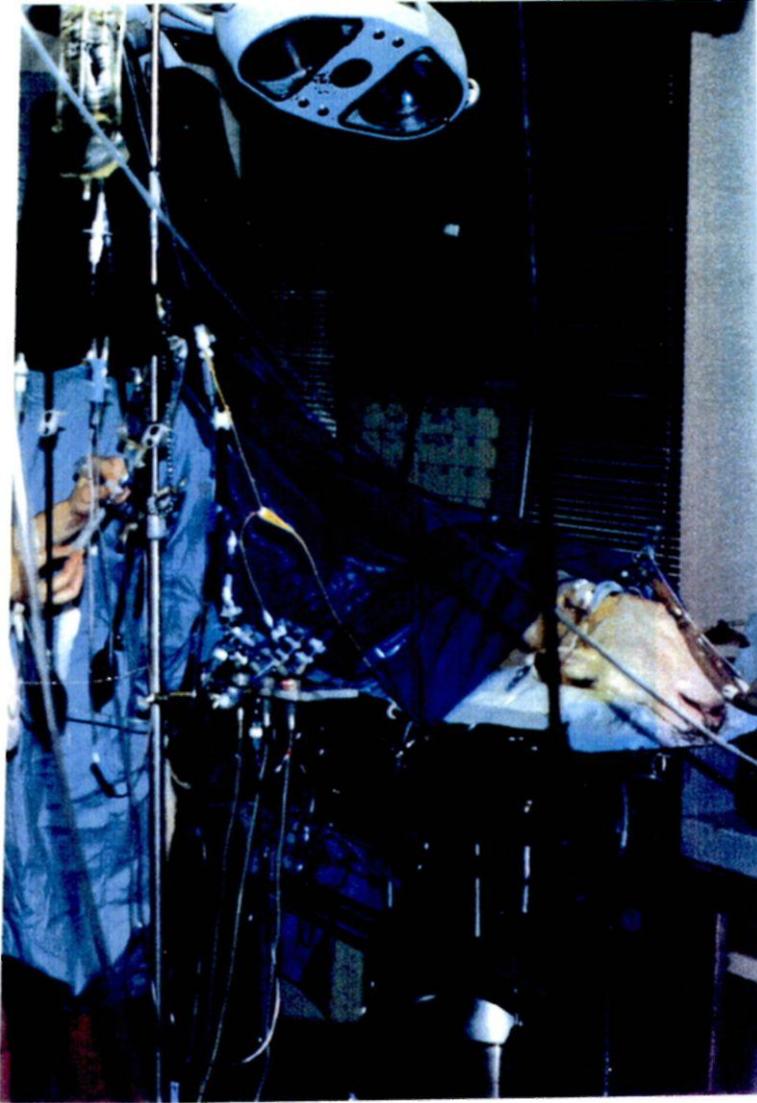
Se practicó una toracotomía izquierda en condiciones estériles a través del 5° espacio intercostal para la inserción de un catéter (Vygon, 20G) en aurícula izquierda.

Se practicó una fístula arterio-venosa entre la arteria carótida y la vena yugular interna izquierdas mediante un catéter de polietileno de un diámetro de 3,5 mm para la arteria y de 7 mm para la vena. Un clamp metálico permitía abrir o cerrar la fístula.

Para la colocación de un tubo endotraqueal de doble luz, para realizar los lavados pulmonares, se practicó una traqueostomía entre el 2º y 3º anillo traqueal.

Al finalizar la preparación quirúrgica se administraron 200 U/kg de heparina sódica y 100 U/kg adicionales cada 2 horas para prevenir la formación de coágulos.

La figura 6 muestra la preparación e instrumentación de uno de los animales para el estudio.



*Figura 6. Instrumentación y preparación de los animales.*

#### **4.4 FARMACOS UTILIZADOS**

Los fármacos utilizados en el estudio fueron:

- Pentobarbital sódico (Schein Inc., Port Washington, NY)
- Bromuro de pancuronio (Gensia Pharmaceuticals Inc., Irvine, CA)
- Heparina sódica (Elkins-Sinn Inc., Cherry Hill, NJ).
- N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina (CalBiochem, La Jolla, CA), disuelto justo antes de su administración en 20 ml de suero fisiológico al 0,9% y administrado mediante una bomba de infusión continua (Harvard Apparatus, Millis, MA) a 4 ml/min durante 5 min y a una dosis total de 30 mg/kg.
- L-arginina (Sigma Chemical, St. Louis, MO) a una dosis de 1 g/kg disuelta en 200 ml de suero fisiológico e infundido en 10 min.

## **4.5 VARIABLES INCLUIDAS EN EL ESTUDIO**

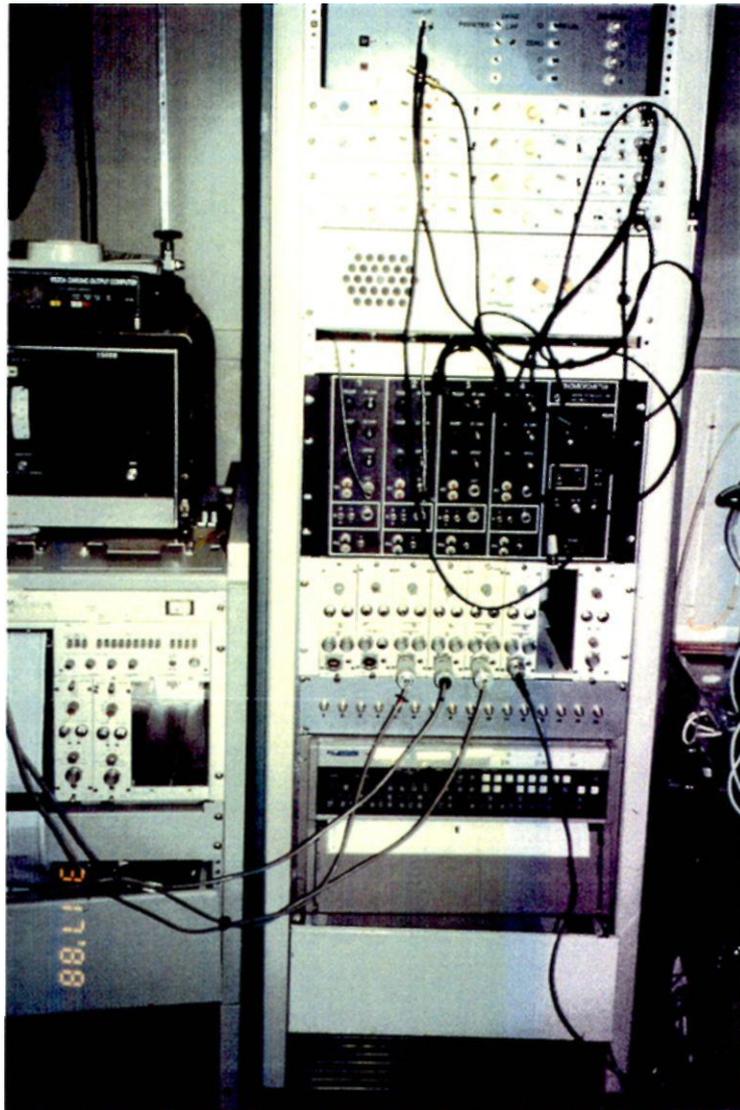
### **4.5.1 MEDICIONES HEMODINAMICAS**

Se midieron las siguientes presiones:

- Presión arterial sistémica (PAS)
- Presión de arteria pulmonar (PAP)
- Presión capilar pulmonar (PCP)
- Presión venosa central (PVC)
- Presión de aurícula izquierda (PAI)

Todas las presiones fueron monitorizadas mediante transductores de presión calibrados (Hewlett-Packard 1280C, Palo Alto, CA) siendo colocados a nivel medio torácico para la obtención del cero. Las presiones fueron continuamente registradas en un polígrafo de ocho canales (modelo 7700 Hewlett-Packard, Palo Alto, CA) (Figura 7). Todas las presiones se computaron como presiones medias al final de la espiración.

El *gasto cardíaco* (GC) se midió por termodilución (Computadora de Gasto Cardíaco modelo 9520A, American Edwards Laboratoires, Irvine, CA) mediante la inyección de 5 ml de suero Ringer a 0 °C por la salida proximal del catéter de arteria pulmonar y obteniéndose el promedio de tres determinaciones.



*Figura 7. Imagen del polígrafo de ocho canales Hewlett-Packard modelo 7700, utilizado para el registro de presiones durante el estudio.*

La *temperatura central* se midió a través del termistor del catéter de arteria pulmonar y se monitorizó continuamente en la computadora de GC.

La *frecuencia cardíaca* se obtuvo a partir del trazado bifásico de la presión arterial sistémica.

#### **4.5.2 MEDICIONES DE LOS GASES SANGUINEOS**

Para el análisis de los gases sanguíneos se obtuvieron muestras de 2 ml de sangre de aorta y de arteria pulmonar con jeringas de plástico previamente heparinizadas.

Las muestras una vez obtenidas se analizaron inmediatamente con un analizador de gases sanguíneos (Corning model 170).

Se midió el pH, la presión parcial de oxígeno en sangre arterial ( $PaO_2$ ), la presión parcial de oxígeno en sangre venosa mixta ( $PvO_2$ ), la presión parcial de dióxido de carbono arterial ( $PaCO_2$ ) y venoso ( $PvCO_2$ ), la concentración de bicarbonato ( $CO_3H$ ) y el exceso de base (EB) arterial y venoso.

#### **4.5.3 PARAMETROS CALCULADOS**

La *superficie corporal* (SC) en  $m^2$  se calculó como  $SC = k / \text{peso (kg)}^{2/3}$  siendo el valor de k para la oveja de 0,121, según Stowe y Good (1960).

Las *resistencias vasculares sistémicas* (RVS) y *resistencias vasculares pulmonares* (RVP) se calcularon de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$RVS = PAS-PVC/GC \quad (mmHg/l.min)$$

$$RVP = PAP-PAI/GC \quad (mmHg/l.min)$$

El *índice cardíaco* (IC) se calculó dividiendo el GC por la SC (l/min.m<sup>2</sup>).

Los *índices de trabajo sistólico del ventrículo izquierdo* y *del ventrículo derecho* (ITSVI e ITSVD) se calcularon como:

$$ITSVI = ISVx(PAS-PAI)x0.0136 \quad (gm.m/m^2/latido)$$

$$ITSVD = IVSx(PAP-PVC)x0.0136 \quad (gm.m/m^2/latido)$$

donde IVS es el *índice de volumen sistólico calculado* como IC dividido por la FC y multiplicado por 1000.

El *shunt intrapulmonar o mezcla venosa* ( $\dot{Q}_{VA}/\dot{Q}_T$ ) se calculó mediante un el programa SHUNT- GW BASIC 3.23. Dicho programa calcula el contenido arterial, venoso y capilar de oxígeno (CaO<sub>2</sub>, CvO<sub>2</sub> y CcO<sub>2</sub> respectivamente) estimando la saturación de la hemoglobina a partir del nomograma de Kelman (Kelman, 1966). Por lo que se necesita introducir: T°, presión barométrica, FiO<sub>2</sub>, GC, hemoglobina y pH, pO<sub>2</sub> y pCO<sub>2</sub> arterial y venosa mixta.

El *transporte de oxígeno* ( $\dot{D}O_2$ ), el *consumo de oxígeno* ( $\dot{V}O_2$ ) y la *extracción tisular de oxígeno* (EO<sub>2</sub>) se calcularon mediante las siguientes fórmulas:

$$\dot{D}O_2 = CaO_2 \times IC \times 10 \quad (ml/min/m^2)$$

$$\dot{V}O_2 = (CaO_2 - CvO_2) \times IC \times 10 \quad (ml/min/m^2)$$

$$O_2ER = [(CaO_2 - CvO_2) / CaO_2] \times 100 \quad (\%)$$

### 4.5.3 DETERMINACIONES BIOQUIMICAS

Se determinaron los niveles plasmáticos de guanosa monofosfato cíclico (GMPC), la concentración de hemoglobina (Hb) y el recuento de leucocitos.

#### 4.5.3.1 Determinación del GMPC

Se extrajeron muestras de 1 ml de sangre arterial y venosa mixta y se introdujeron en sendos tubos de ensayo conteniendo 0.04 ml EDTA y 10 microL de 3-isobutil-1-metil-xantina (IBMX) a  $5 \times 10^{-2} M$  para inhibir la actividad fosfodiesterasa del suero.

Las muestras fueron centrifugadas a 1250 g. durante 10 minutos a 4°C; 50 ml del supernadante se transfirieron en tubos de polipropileno que contenían 950 microL de búffer acetato y se almacenaron a -70 °C.

Los niveles plasmáticos de GMPC se determinaron mediante técnica de radioinmunoensayo con  $I^{125}$  (Biomedical Technologies Inc., Stoughton, MA) según el método de Harper y Brooker (1975) y se expresaron como pmol GMPC.ml<sup>-1</sup> de plasma.

#### **4.5.3.2 Determinación de la Hb y recuento de leucocitos**

Se obtenían 4 ml de sangre arterial y se transferían a tubos de ensayo que contenían 0,04 ml de EDTA y se almacenaban a 0 °C para su procesamiento.

Las concentraciones de **hemoglobina** (g/dl) se midieron con un espectofotómetro de absorción, Modelo 300-N (Gilford instruments, Orbelin, OH). Cada muestra era analizada por duplicado.

El recuento de **leucocitos** se hizo por triplicado mediante un contador celular Modelo 2F (Coulter Electronics Inc, Hialeah, FL).

#### **4.5.4. RECOGIDA DE DATOS**

Se diseñaron unas hojas para la recogida de datos par registrar las mediciones hemodinámicas y el análisis de gases sanguíneos, así como las mediciones bioquímicas, excepto el GMPc. En esta hoja se recogían también las características del animal y del lavado pulmonar.

La Tabla 10 muestra el diseño de la hoja de recogida de datos. Dicha hoja fue cumplimentada para cada uno de los animales estudiados.

Tabla 10. Hoja de recogida de datos									
LUNG LAVAGE MODEL - NITRIC OXIDE INHALATION									
Data:			Sheep number:						
Weight:			Body surface area:				Temperature:		
White blood cell:			Hemoglobin 1) baseline: 2) lung lavage: 3) Lname:						
Volume lavage solution:			Volume lavage drainage:				Fluid maintenance (5 ml/kg/h):		
Start study:			End study:				Study duration:		
HEMODYNAMIC MEASUREMENTS									
PERIOD	FiO <sub>2</sub>	T	HR	AP	PAP	PWP	CVP	LAP	CO
BL 1 A									
BL 1 B									
BL 1 C									
LL A									
LL B									
LL C									
NO A									
NO B									
NO C									
BL 2 A									
LNA A									
LNA B									
LNA C									
LNANO A									
LNANO B									
LNANO C									
BL 3 A									
LARG A									

*Material y métodos*

Tabla 10. (Continuación) BLOOD GAS ANALYSIS							
PERIOD	BLOOD	pH	pCO <sub>2</sub>	pO <sub>2</sub>	HCO <sub>3</sub>	O <sub>2</sub> Sat	BE
BL 1 A	A: MV:						
BL 1 B	A: MV:						
BL 1 C	A: MV:						
LL A	A: MV:						
LL B	A: MV:						
LL C	A: MV:						
NO A	A: MV:						
NO B	A: MV:						
NO C	A: MV:						
BL 2 A	A: MV:						
LNA A	A: MV:						
LNA B	A: MV:						
LNA C	A: MV:						
LNANO A	A: MV:						
LNANO B	A: MV:						
LNANO C	A: MV:						
BL 3 A	A: MV:						
LARG A	A: MV:						

#### **4.6 TECNICA DEL LAVADO PULMONAR BILATERAL**

El lavado pulmonar bilateral se efectuó por separado de los dos pulmones mediante la utilización de un tubo endotraqueal de doble luz.

El tubo de traqueostomía se cambió por un tubo endotraqueal de doble luz izquierdo con neumotaponamiento (39 Fr, Sheridan Catheter inc. Argyle, NY), modificado para adaptarse a la traquea de la oveja, según la modificación de Elliott y cols.(1991). El emplazamiento del tubo y la correcta separación entre los dos pulmones se comprobó conectando un espirómetro al pulmón no ventilado.

La solución para el lavado consistía en una solución de polioxietilenosorbitol monooleato (Tween 80, Sigma chemical Co., St. Louis, MO) al 0,5% en suero fisiológico a una temperatura de 37°C.

Tras ventilar al animal con una  $FiO_2$  de 0,9 durante 10 min se pasaba a ventilar un solo pulmón con 10 ml/kg de volumen corriente y a una frecuencia de 20 respiraciones por minuto, mientras el pulmón contralateral se dejaba colapsar durante 5 min y a continuación se llenaba con 500 ml de la solución de lavado y se mantenía en apnea durante unos 5 min. Para conseguir una correcta distribución del líquido de lavado se cambiaba la posición del animal de decúbito supino a lateral.

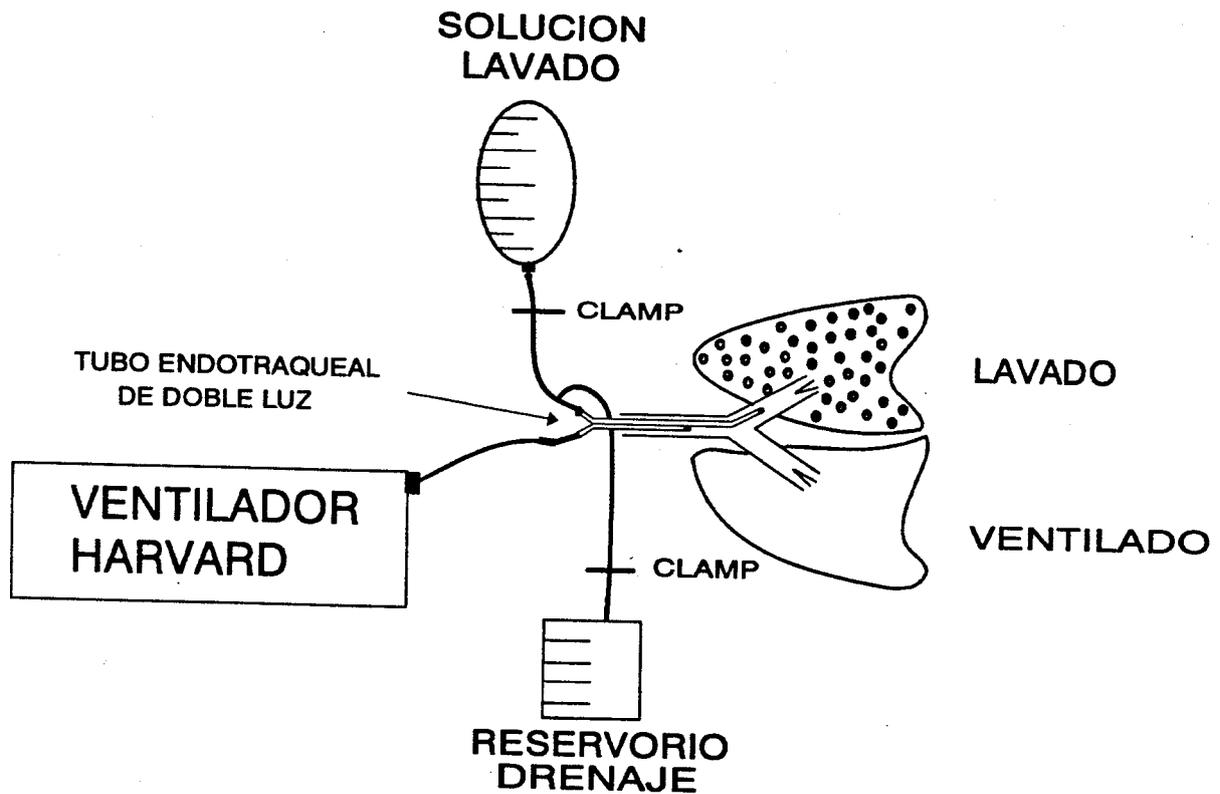
La presión inspiratoria máxima se monitorizaba en el pulmón ventilado y se mantenía por debajo de 40 cmH<sub>2</sub>O.

El líquido de lavado se extraía mediante gravedad y por aspiración. El volumen residual de la solución de lavado que no era posible recuperar y se quedaba en el pulmón se calculaba restando al total introducido el total recuperado.

El pulmón lavado se reinsuflaba manualmente y una vez reexpandido se ventilaba mecánicamente y el mismo procedimiento se repetía en el pulmón opuesto. Cada pulmón era lavado dos veces.

Al finalizar los lavados el tubo de doble luz era sustituido por el tubo de traqueostomía y se ventilaban los dos pulmones simultáneamente.

La figura 8 muestra la técnica utilizada para el lavado pulmonar bilateral.



**Figura 8.** Representación gráfica del sistema utilizado para realizar el lavado pulmonar bilateral. Se colocaba un tubo endotraqueal de doble luz para separar ambos pulmones. Un pulmón era conectado al Ventilador Harvard y el otro a un sistema de lavado-drenaje. Mientras un pulmón era ventilado el otro era llenado con la solución de lavado y luego drenado a un reservorio. Una vez lavado un pulmón la maniobra se invertía, se ventilaba al pulmón lavado mientras se lavaba al otro pulmón.

#### **4.7 TECNICA DE ADMINISTRACION DEL OXIDO NITRICO**

El NO fue suministrado por Airco (Murray Hill, NJ) almacenado en nitrógeno puro en tanques de 10 litros (figura 9) con una concentración de NO de 800 partes por millón (ppm). La presencia de NO<sub>2</sub> de la mezcla era inferior al 1%.

El NO se mezclaba con O<sub>2</sub> en el reservorio de 5 litros del respirador con un flujo de gas fresco de 10 l/min, inmediatamente antes de administrar al animal.

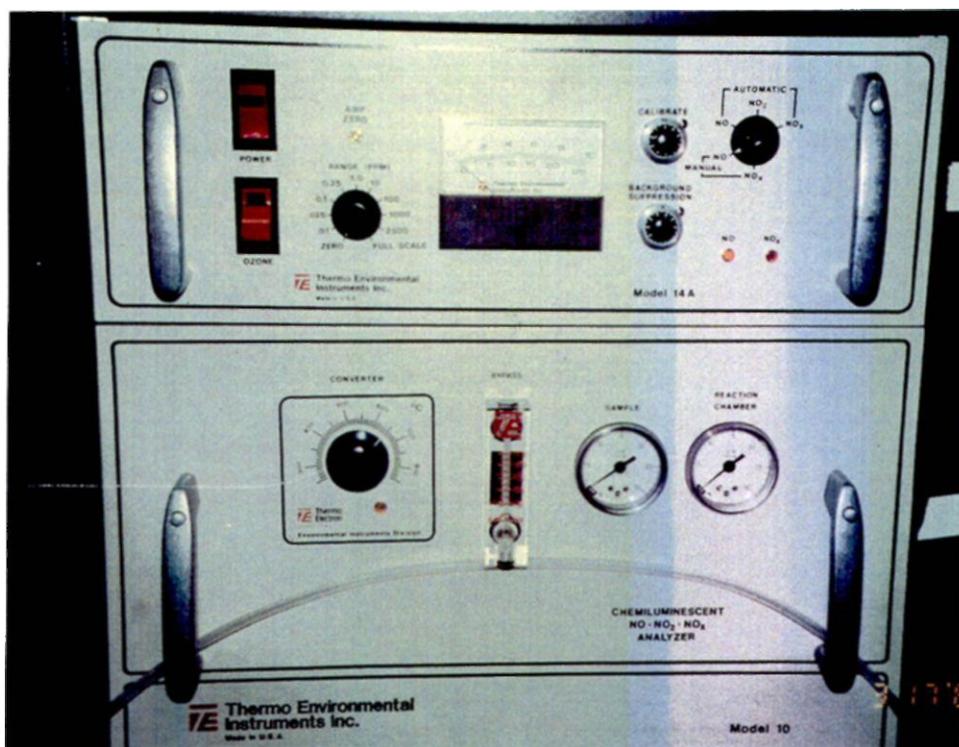
La concentración inhalada de NO se mantenía constante a 60 ppm, siendo monitorizada continuamente mediante un analizador de óxidos de nitrógeno NO-NO por quimioluminiscencia (Modelo 10, Thermo Environmental Instruments Inc., Franklin, MA) (figura 10). La salida para la muestra de gas a analizar estaba en la rama inspiratoria justo a la entrada del tubo endotraqueal. La figura 11 muestra el funcionamiento interno del analizador de óxido de nitrógeno.

Los gases espiratorios eran desechados mediante aspiración continua de la rama espiratoria del respirador.

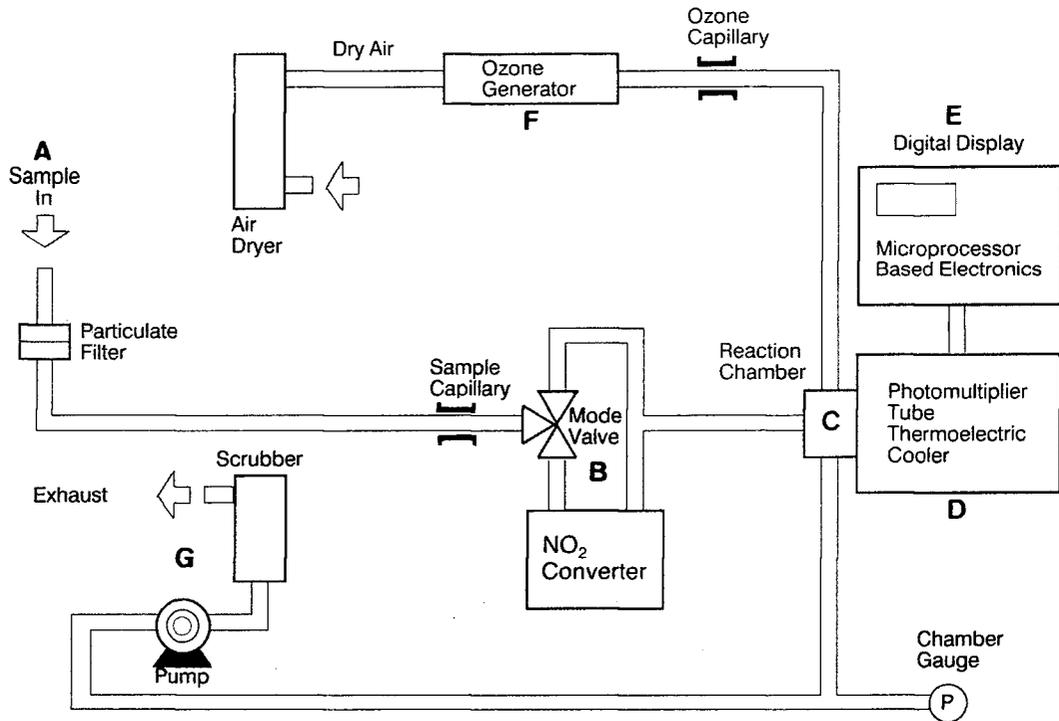
Una representación gráfica de la técnica de administración de NO por vía inhalatoria se muestra en la figura 12.



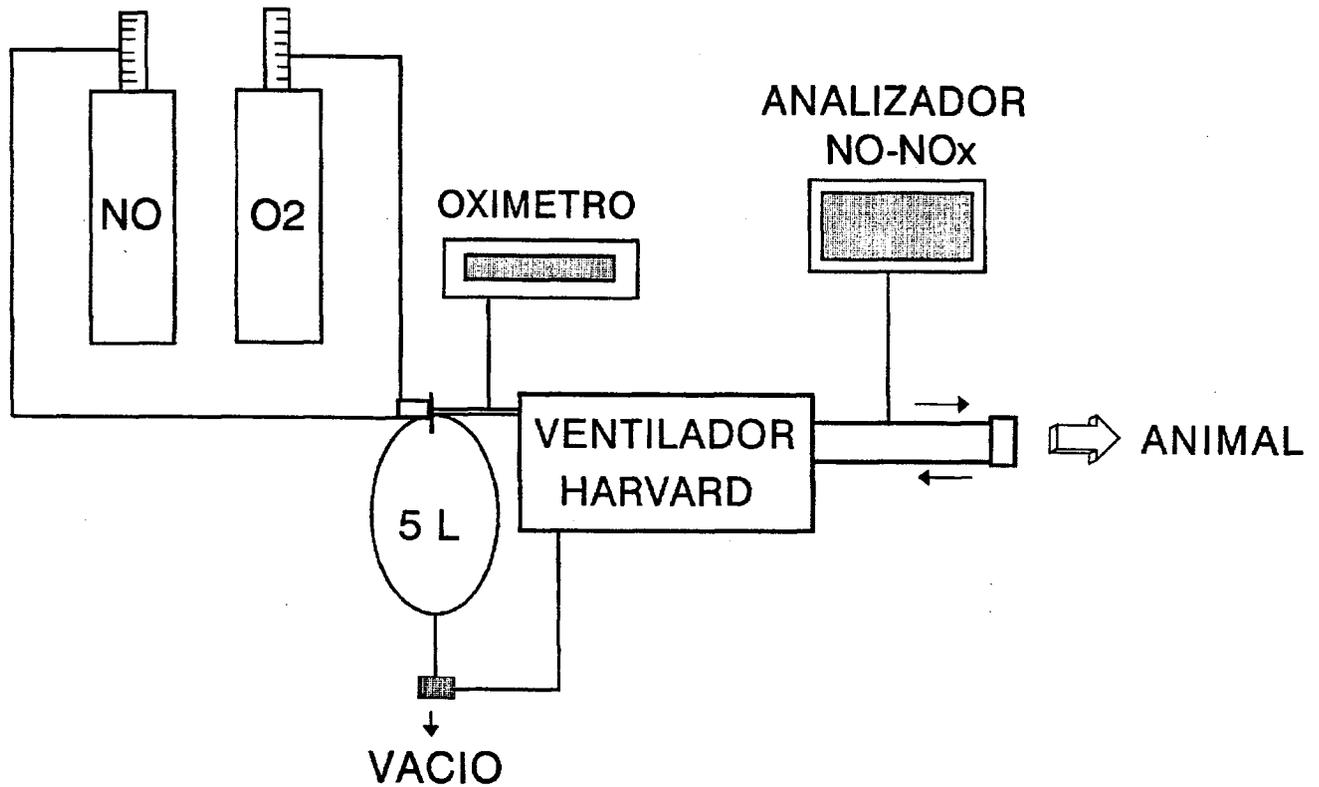
*Figura 9.* Cilindro de óxido nítrico utilizado en este estudio. El óxido nítrico está almacenado en nitrógeno puro a una concentración de 800 partes por millón (ppm); capacidad del cilindro 40 litros.



**Figura 10.** Analizador de óxidos de nitrógeno por quimioluminiscencia. Rango de 0,1-2500 ppm (partes por millón) para el NO-NO<sub>2</sub> y NO<sub>x</sub>. Thermo Environmental Instruments Inc. Modelo 10.



**Figura 11.** Esquema del funcionamiento interno del analizador de óxidos de nitrógeno. Una muestra del gas a analizar entra en el monitor (A), fluye através de un capilar hacia una válvula y un convertidor NO o NO<sub>x</sub> (B) y de ahí va a una cámara de reacción (C). En dicha cámara el NO reacciona con el ozono y emite un haz de quimioluminiscencia, que pasa através de un tubo fotomultiplicador (D) hacia un microprocesador (E) donde através de un complejo algoritmo matemático calcula las lecturas de NO, NO<sub>2</sub> y NO<sub>x</sub>. El ozono se obtiene a partir del aire ambiente mediante un generador de ozono (F). El gas una vez ha reaccionado es evacuado por una bomba al exterior (G).



**Figura 12.** Esquema de la técnica utilizada en este estudio para la administración de óxido nítrico por vía inhalatoria. El óxido nítrico a través de un caudalímetro calibrado se mezclaba con un flujo de oxígeno de 10 l/min en la bolsa reservorio del ventilador para animales (Ventilador Harvard) para conseguir una concentración de NO en la mezcla de 60 partes por millón (ppm). La concentración de NO era monitorizada en la rama inspiratoria del ventilador (Analizador de NO-NO<sub>2</sub>) y la fracción inspiratoria de O<sub>2</sub> a la salida de la bolsa reservorio (Oxímetro). La rama espiratoria del respirador era conectada a un sistema de vacío para evacuación de los gases espirados.

#### **4.8. PROTOCOLO EXPERIMENTAL**

Los 21 animales fueron incluidos en dos grupos de estudio.

##### **4.8.1. ESTUDIO PRELIMINAR**

Doce animales se estudiaron en tres subgrupos de cuatro.

###### **4.8.1.1. Subgrupo 1. Estabilidad del lavado pulmonar**

Para estudiar la estabilidad del modelo de lavado pulmonar bilateral cuatro ovejas fueron anestesiadas y ventiladas mecánicamente ( $FiO_2$  0,60) e instrumentadas tal como se ha descrito.

Una hora después de la instrumentalización se efectuaron las mediciones hemodinámicas y análisis de gases sanguíneos en condiciones basales. Seguidamente los animales se sometieron a lavado pulmonar bilateral según la técnica descrita anteriormente. Inmediatamente después del lavado pulmonar y cada 30 min durante 4 horas, se registraron los parámetros hemodinámicos y gasométricos. Se estudiaron los valores de PAP,  $\dot{Q}_{VA}/\dot{Q}_T$ , Pimax y PaO<sub>2</sub>.

###### **4.8.1.2. Subgrupo 2. Curva de dosis-respuesta al NO inhalado**

Para determinar la curva de dosis-respuesta a la inhalación de diferentes concentraciones de NO se estudiaron cuatro animales una vez sometidos a lavado pulmonar bilateral.

Se administraron concentraciones crecientes de 10, 30, 60, 120 y 180 ppm de NO a una  $FiO_2$  entre 0,57-0,90. A cada nivel de inhalación de NO se evaluó la PAP y el  $\dot{Q}_{VA}/\dot{Q}_T$ . Entre cada dosis de NO el animal era ventilado con  $O_2$  durante 10 min a la misma concentración.

#### **4.8.1.3. Subgrupo 3. Infusión de N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina**

En un grupo de 4 animales anestesiados se estudiaron los efectos hemodinámicos y gasométricos de la infusión de L-NAME.

Tras el lavado pulmonar se administraron 30 mg/kg de L-NAME en infusión endovenosa continua durante 5 min. La hemodinámica pulmonar y sistémica así como el análisis de gases sanguíneos se efectuó cada 30 min durante un período de dos horas.

En dos animales se estudiaron los efectos del L-NAME en la vasodilatación sistémica inducida por acetilcolina (Ach). Antes y después de la infusión de L-NAME se administraron dosis crecientes de Ach (0,2, 0,2 y 0,4 microg/kg) y se registraron las variaciones en la presión arterial sistémica.

#### **4.8.2. ESTUDIO EXPERIMENTAL**

En el estudio experimental se incluyeron 9 animales. El esquema del protocolo de estudio se muestra en la figura 13.

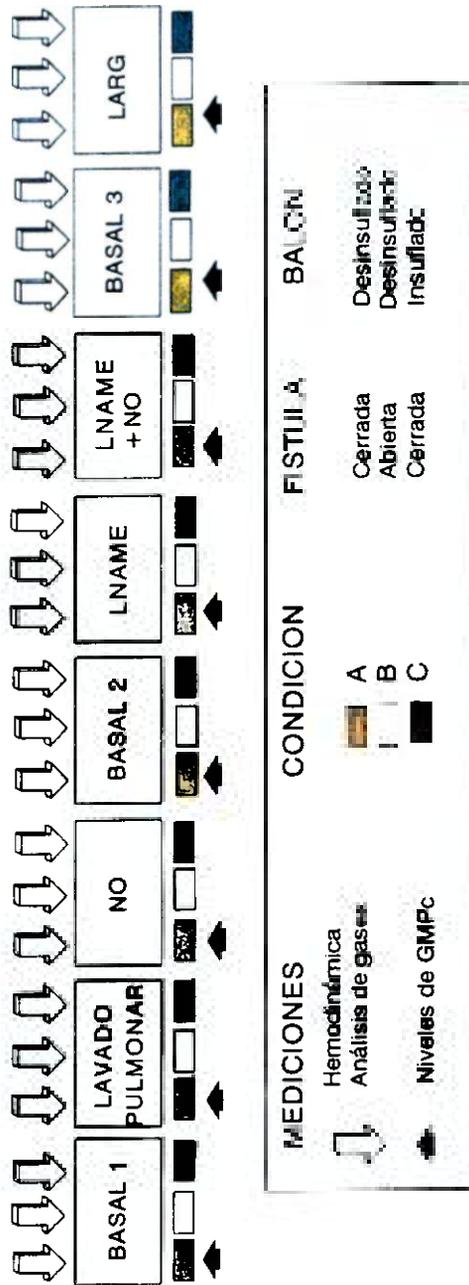


Figura 1.1. Esquema de la secuencia seguida en el protocolo del estudio experimental.

Los animales fueron estudiados en los siguientes tiempos:

- \*\* **BAS 1** : después de la anestesia e instrumentación
- \*\* **LPB** : después del lavado pulmonar bilateral
- \*\* **NO** : después de 10 min de inhalación de NO (NO)
- \*\* **BAS 2** : 10 min después de interrumpir la inhalación de NO
- \*\* **L-NAME** : después de la infusión de L-NAME
- \*\* **L-NAME+NO**: durante la inhalación de NO tras L-NAME
- \*\* **BAS 3** : 10 min tras cesar la inhalación de NO
- \*\* **L-ARG** : tras la infusión de L-Arginina

Todas las mediciones hemodinámicas y gasométricas se realizaron variando sucesivamente el GC. Mediante la apertura de la fístula arterio-venosa y la insuflación del balón de cava inferior, se aumentaba o disminuía respectivamente el GC.

El GC normal (condición A) se obtuvo con la fístula cerrada y el balón desinsuflado; el GC aumentado (condición B) se obtuvo tras abrir la fístula arterio-venosa; y el GC reducido (condición C) se obtuvo tras cerrar la fístula arterio-venosa e insuflar el balón de vena cava inferior.

La secuencia en la manipulación del gasto cardíaco se realizó de manera randomizada entre animales.

Las mediciones hemodinámicas (PAS, PAP, PCWP, PAD, PAI, GC, y muestras de sangre arterial y venosa mixta para el análisis de gases sanguíneos se obtubieron en cada una de las tres condiciones (A,B y C) en cada tiempo. En los tiempos BAS 2, BAS 3 y L-ARG las mediciones sólo se realizaron en condiciones normales de GC (condición A). Las mediciones de GMPc se realizaron también en condiciones normales de GC. La Hb sólo se midió en los tiempos BAS 1, LPB y LNAME, en condición A de GC.

#### **4.8.2.1. Mediciones basales (BAS 1)**

Después de la instrumentación los animales se dejaron estabilizar durante una hora. Las mediciones hemodinámicas y de gases sanguíneos se realizaron con el GC en condiciones normales (condición A). A continuación se abrió la fístula arterio-venosa y después de un período de estabilización de 5 min se repitieron las mediciones con el GC elevado (condición B). Tras cerrar la fístula arterio-venosa y dejar que el GC retornara a su nivel basal, se insufló el balón de vena cava y se repitieron las mediciones con el GC reducido (condición C).

#### **4.8.2.2. Lavado pulmonar bilateral (LPB)**

A continuación los animales se sometieron a lavado pulmonar bilateral según técnica descrita previamente. Una hora después del lavado pulmonar se obtuvieron las mediciones hemodinámicas y de gases sanguíneos en los tres niveles de GC.

#### **4.8.2.3. Inhalación de óxido nítrico (NO)**

El NO gas se añadió a los gases inspiratorios a una concentración de 60 ppm de NO medido por el analizador de quimioluminiscencia, con una  $FiO_2$  de la mezcla de 0,85. El NO se administró durante 10 min al cabo de los cuales se hicieron las mediciones hemodinámicas y gasométricas en la condición A. Mientras continuaba la inhalación de NO se obtuvieron los datos en las condiciones B y C. El período de inhalación de NO duró 30 min.

Después del último cambio de GC se interrumpió la inhalación de NO y se repitieron las mediciones tras 10 min de estabilización en el tiempo **BAS 2**.

#### **4.8.2.4. Infusión de N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina (LNAME)**

Se administró una perfusión de L-NAME de 30 mg/kg durante 5 min y se realizaron las mediciones hemodinámicas y gasométricas en condiciones basales de GC (condición A). Luego de manera randomizada se abrió la fístula arterio-venosa (condición B) o se insufló el balón de vena cava (condición C) y se realizaron de nuevo las mediciones después de un período de estabilización en cada condición.

#### **4.8.2.5. Inhalación de NO después de la infusión de N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina (LNAME+NO)**

Tras obtenerse los datos en el tiempo LNAME se inició de nuevo la inhalación de 60 ppm de NO durante 10 min y se realizaron de nuevo las mediciones en los tres niveles

de GC, condiciones A, B y C. La inhalación de NO también duró 30 min.

Las mediciones se repitieron a los 10 minutos de cesar la inhalación de NO con la misma  $FiO_2$ , tiempo **BAS 3**, en condiciones A de GC.

#### **4.8.2.6 Infusión de L-arginina (LARG)**

Se administró durante 10 minutos una perfusión de 1 g/kg de L-arginina. Las mediciones hemodinámicas y gasométricas se realizaron sin manipular el GC (condición A).

#### **4.8.2.7 Niveles plasmáticos de GMPc**

En seis de los nueve animales estudiados se midieron los niveles plasmáticos en sangre arterial y venosa mixta de GMPc.

Las mediciones se hicieron en los siguientes puntos, mediante la obtención de:

- 2 muestras con 10 min de intervalo en los períodos de **BAS 1** y **LPB**.
- 3 muestras a 1, 5 y 10 min de iniciarse la inhalación de NO o de la infusión de L-NAME en los períodos **NO**, **L-NAME** y **L-NAME+NO**.
- 1 muestra a los 10 minutos de cesar la inhalación de NO en los períodos **BAS 2** y **BAS 3** y tras la administración de L-arginina en el período **L-ARG**.

Todas las muestras se obtuvieron sin variar el GC (condición A).

#### 4.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó mediante el programa estadístico GB-STAT (Dynamic Microsystems Inc., Silver Spring, MD) y con el programa SAS.

Todos los valores se expresaron como media  $\pm$  error estándar.

Para comparar los parámetros hemodinámicos y de intercambio de gases entre los distintos tiempos en condiciones normales de GC, se utilizó el test de la T de student para medidas repetidas, con el ajuste de Bonferroni.

El análisis de las curvas de presión-flujo (PAP-PAI/ $\dot{Q}_T$ ), shunt-flujo ( $\dot{Q}_{VA}/\dot{Q}_T-\dot{Q}_T$ ), resistencias pulmonares-flujo (RVP/ $\dot{Q}_T$ ) y pO<sub>2</sub> venosa-flujo (PvO<sub>2</sub>/ $\dot{Q}_T$ ), se hizo mediante regresión lineal. Las coordenadas PAP-PAI/ $\dot{Q}_T$ ,  $\dot{Q}_{VA}/\dot{Q}_T-\dot{Q}_T$ , RVP/ $\dot{Q}_T$  y PvO<sub>2</sub>/ $\dot{Q}_T$  fueron extrapoladas a partir de la ecuación de regresión de cada animal a 1, 2, 3 y 4 l/min/m<sup>2</sup> de flujo. Las relaciones entre consumo, extracción y transporte de O<sub>2</sub> también se analizaron mediante regresión lineal.

Para comparar las pendiente y las intersecciones entre los distintos tiempos se utilizó el test de la T de Student con el ajuste de Bonferroni.

Las diferencias en los niveles de GMPC se compararon mediante el análisis de la variancia. Si el valor de F era significativo ( $p < 0,05$ ) se aplicaba el test T de Student con la corrección de Bonferroni.

El valor de r superior a 0,75 significaba la existencia correlación y una  $p < 0,05$  indicaba significancia estadística.

