



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

Evaluación de los cambios, hemodinámicos,
gasométricos, macroscópicos y microscópicos, niveles
plasmáticos de endotelina-1 postrasplante pulmonar en un
modelo experimental canino.

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

LIDIA SARAI SÁNCHEZ ARROZENA

TUTOR: MC J. RAÚL OLMOS ZÚÑIGA

COMITÉ TUTOR: Dr. PATRICIO SANTILLÁN DOHERTY
Dra. MARÍA MASRI DABA

México, D.F

2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**Dedico este trabajo
A Dios
A mi madre Elsa Arrozena y mi hermano Antonio Sánchez.**

AGRADECIMIENTOS

Agradezco especialmente a mi tutor y maestro Dr. Raúl Olmos y al Dr. Rogelio Jasso por la ayuda, dirección y consejos para la realización de esta tesis, y por enseñarme a hacer ciencia.

A mi comité tutorial Dra. María Masri, Dr. Patricio Santillán, por su apoyo.

A mis sinodales Dr. Guillermo Valdivia, Dra. Beatriz Vanda, Dr. Jaime Villalba por el tiempo y atención dedicado a la revisión y estudio de la tesis.

A todos los miembros del Departamento de Cirugía Experimental del INER "ICV"; MVZ Sergio, Roberto, Dr. Santibañez, Dra. Avelina, Dra. Matilde, Bere, Martha y muy especialmente a Claus, gracias amiga.

Y por supuesto a mi compañera de cirugías y amiga Adriana Castañeda, ¡cuántas cosas pasamos!

Al Dr. Miguel Gaxiola por su ayuda en el laboratorio de morfología.

A Luis García de patología veterinaria gracias por tu tiempo.

A mi familia y amigos, Yess, Rosy, Efra, Deya, Armando, Nacho, Pilar, y personas que directa e indirectamente participaron durante mi paso por la investigación, Carlos Bravo.

A la UNAM.

Todo lo puedo en Cristo que me fortalece
Filipenses 4: 13

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
1. ENFERMEDADES PULMONARES	2
1.1. Procesos pulmonares restrictivos	2
1.1.1. <i>Fibrosis pulmonar quística</i>	2
1.1.2. <i>Fibrosis pulmonar idiopática</i>	2
1.2. Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)	3
1.2.1 <i>Enfisema pulmonar</i>	3
1.3. <i>Hipertensión arterial pulmonar primaria</i>	3
2. TRASPLANTE PULMONAR	4
2.1. Desarrollo histórico del trasplante pulmonar	5
2.2. Trasplante pulmonar en México	5
2.3. Tipos de trasplante	5
3. FACTORES QUE INTERFIEREN EN EL ÉXITO DEL TRASPLANTE PULMONAR	6
3.1. Falta de donadores	7
3.2. Inmunosupresión	7
3.3. Cicatrización bronquial	8
4. PRESERVACIÓN	8
4.1. Tipos o vías de perfusión pulmonar durante la preservación	9
4.2. <i>Papel de la hipotermia en la preservación</i>	10



ÍNDICE

4.3. Estado de insuflación pulmonar durante el almacenaje	10
4.4. Soluciones de Preservación	10
4.5. Tipos de soluciones de preservación	10
4.5.1. Solución Dextrán Baja en Potasio (LPD)	11
4.5.2. Solución Celsior (Ce)	11
5. DAÑO ISQUEMIA-REPERFUSIÓN	12
5.1. Endotelina 1 (ET-1)	12
II. JUSTIFICACIÓN	15
III. HIPÓTESIS	15
IV. OBJETIVOS	16
1. Objetivo general	16
1.1. Objetivos específicos	16
V. MATERIAL Y METODOS	17
1. DISEÑO EXPERIMENTAL	17
1.1. Tipo de estudio	17
1.2. Recursos	17
2. Animales ó sujetos de experimentación	18
2.1. Criterios de inclusión	18
2.2. Criterios de exclusión	18
2.3. Criterios de eliminación	18



ÍNDICE

2.4. Criterios de terminación ó punto final humanitario	18	
3. Grupos de estudio	19	
3.1 Preparación de las soluciones de preservación		19
4. Anestesia	19	
5. Técnica quirúrgica	20	
5.1. Técnica quirúrgica del Donador	20	
5.2. Técnica quirúrgica del receptor	21	
5.2.1. Cateterismo		21
5.3. Técnica de trasplante pulmonar	22	
5.4. Implante		22
6. Evaluación	23	
6.1. Evaluación gasométrica	23	
6.2. Evaluación hemodinámica	24	
6.3. Determinación de ET-1 en plasma	25	
6.4. Evaluación macroscópica	26	
6.5. Evaluación microscópica	26	
7. Análisis estadístico	26	
VI. RESULTADOS		27
1. Hallazgos gasométricos	27	
1.1. Presión arterial de oxígeno	27	



ÍNDICE

1.2. Presión venosa de oxígeno	27	
1.3. Presión inspiratoria máxima	28	
2. Hallazgos hemodinámicos	28	
2.1. Presión sistólica de la arteria pulmonar		28
2.2. Presión diastólica de la arteria pulmonar		29
2.3. Presión media de la arteria pulmonar		29
2.4. Resistencias vasculares pulmonares	30	
2.5. Índice de resistencias vasculares pulmonares		30
3. Hallazgos macroscópicos	31	
4. Hallazgos microscópicos	31	
5. Hallazgos bioquímicos (Evaluación plasmática de ET-1)		32
VII. DISCUSIÓN	33	
VIII. CONCLUSIONES	41	
ANEXO I Cuadros		42
ANEXO II Figuras		44
ANEXO III Gráficas	49	
ANEXO IV		58
XV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62	



RESUMEN

El trasplante pulmonar es el tratamiento para pacientes con enfermedad respiratoria terminal progresiva e irreversible. Sin embargo, a pesar de los avances técnicos e inmunológicos, aún no existe la solución de preservación que mantenga la viabilidad del injerto y disminuya el efecto de la isquemia-reperfusión y la liberación de mediadores químicos como la endotelina 1 (ET-1) más allá de 6 horas de preservación. Las soluciones extracelulares como la solución Dextrán Baja en Potasio (LPD) y la solución Celsior se han utilizado con éxito para la procuración pulmonar, pero en realidad no se sabe cuál de las dos proporciona una mejor calidad en la preservación en un modelo canino. Este trabajo evaluó la función pulmonar después de preservación prolongada con LPD y Celsior a través de los cambios hemodinámicos, gasométricos y los niveles plasmáticos de ET-1 en el trasplante pulmonar experimental canino. Se utilizaron 30 perros mestizos de los cuales 12 fueron donadores, 6 el grupo testigo (Grupo I) y 12 fueron sometidos a trasplante unilateral de pulmón izquierdo (AUPI) con preservación por 12 horas a 4° C con solución LPD (Grupo II) o Celsior (Grupo III); las mediciones se realizaron pre y postrasplante, y se determinó la concentración plasmática de ET-1. Resultados: la tasa de sobrevivencia fue mayor en los grupos I y II (100, 66.6%) con respecto al grupo III (33.3%) ($p < 0.02$ ANDEVA, Tukey) el incremento de las presiones pulmonares y las resistencias vasculares pulmonares así como sus índices fue mayor en el grupo III con respecto a los grupos I y II, la expresión de ET-1 fue mayor a las dos y tres horas postrasplante en el grupo III, la presencia de edema, hemorragia e infiltrado neutrofílico en el grupo III fue más severo ($p < 0.05$ ANDEVA $p < 0.01$ Tukey), por lo que podemos concluir que la solución de preservación Dextrán Baja en Potasio es superior en la preservación de la función pulmonar en el trasplante.

Palabras clave: trasplante, preservación, endotelina, Celsior, LPD

SUMMARY

Pulmonary transplant is the treatment for patients with progressive irreversible and terminal respiratory disease. However in spite of technical and immunological advances, still there does not exist the solution of preservation that supports the viability of the graft and there diminishes the effect of the ischaemia-reperfusion and the liberation of chemical mediators as the endothelin 1 (ET-1) beyond 6 hours of preservation. The extracellular solution as the Low Potassium Dextran (LPD) and Celsior have been in use successfully for the pulmonary procurement, but actually there is not known which of the two provides a better quality in the preservation in a canine model. This work evaluated the pulmonary function after preservation prolonged with LPD and Celsior across the hemodynamic, gasometric and the plasmatic levels of ET-1 changes in the pulmonary experimental canine transplant. There were in use 30 mongrel dogs of which 12 were donating, 6 at the sham group (Group I) and 12 were submitted to unilateral transplant of left lung by preservation for 12 hours to 4 ° C by solution LPD (Group IInd) or Celsior (Group IIIrd); the measurements were realized pre and postransplant, and there decided the plasmatic concentration of ET-1. Results: the rate of survival was major in the groups I and the IInd (100, 66.6 %) with regard to the group IIIrd (33.3 %) ($p < 0.02$ ANDEVA, Tukey), the increase of the pulmonary pressures and the vascular pulmonary resistances as well as his indexes was major in the group IIIrd with regard to the groups I and II, the expression of ET-1 was bigger in the three and two hours postransplant in the group IIIrd, the presence of edema, hemorrhage and neutrofilic infiltrator in the group IIIrd was severer ($p < 0.05$ ANDEVA $p < 0.01$ Tukey), for what we can conclude that the Low Potassium Dextran solution is top in the preservation of the pulmonary function in transplant.

Key words: transplant, preservation, endothelin, Celsior, LPD

I. INTRODUCCIÓN

El sistema respiratorio es un conjunto de órganos cuya función principal es el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono entre el organismo y el medio ambiente ¹. Se divide arbitrariamente en parte superior e inferior en el humano, mientras que en los animales en craneal y caudal, tomando como punto de división el cartílago cricoides. La vía aérea superior está formada por narinas, senos paranasales, laringe y faringe (que se divide en rinofaringe, orofaringe e hipofaringe)²; mientras que la vía aérea inferior se origina en la tráquea, ésta concluye en una bifurcación llamada carina y forma los bronquios principales derecho e izquierdo; cada uno de ellos entra en el pulmón y se divide en forma sucesiva hasta un número no inferior a 23 generaciones terminando en sacos alveolares². En el humano cada pulmón se divide en lóbulos; el pulmón derecho está dividido en tres lóbulos superior medio e inferior, mientras que el pulmón izquierdo en dos lóbulos, superior e inferior³; en el perro el pulmón derecho tiene cuatro lóbulos denominados apical (craneal), medio (cardiaco), diafragmático (caudal), y accesorio (intermedio), mientras que el izquierdo solo tiene tres lóbulos, apical (craneal), medio y diafragmático (caudal)⁴.

Los pulmones tienen una vascularización sanguínea doble, el sistema pulmonar y el sistema bronquial. La vascularización pulmonar lleva sangre desoxigenada a través de la arteria pulmonar, desde el lado derecho del corazón a cada pulmón. Las arterias pulmonares entran con los bronquios principales, por los hilos pulmonares y se dividen cursando en paralelo a las vías aéreas ramificadas, hasta irrigar los capilares pulmonares que rodean los alvéolos. El sistema arterial bronquial constituye la circulación sistémica de la vía aérea respiratoria baja; surge de pequeñas ramificaciones de la aorta y aporta sangre oxigenada a los tejidos de las paredes de las vías aéreas y pleura. En cada pulmón el drenaje linfático converge en el hilio pulmonar y continúa su progresión ascendente hacia las cadenas linfáticas mediastínicas subcarinal y paratraqueal⁵. La inervación está dada por ramas craneales del vago y por nervios originados de los ganglios simpáticos torácicos superiores cuarto y quinto, que forman los plexos anterior y

posterior en el hilio y de allí dan origen al plexo peribronquial y periarterial que acompañan a los bronquios y arterias, respectivamente.

1. ENFERMEDADES PULMONARES

Las enfermedades de las vías respiratorias tienen diversas causas, pero comparten ciertas características fisiopatológicas y clínicas como la limitación del flujo respiratorio provocado por la obstrucción intraluminal de las vías respiratorias y el engrosamiento de las paredes o pérdida de la elasticidad de los tejidos intersticiales, que es necesaria para conservar la permeabilidad de la vía aérea.

La mayoría de los trastornos respiratorios se caracterizan por hipersecreción de moco, irritabilidad de las vías respiratorias y anomalías del intercambio gaseoso que originan tos, esputo, sibilancias y disnea⁶.

Existen varias patologías que pueden afectar las funciones del tracto respiratorio inferior e interferir con la ventilación y con el intercambio gaseoso, provocando insuficiencia respiratoria. Algunas de éstas, son los procesos pulmonares restrictivos (fibrosis pulmonar), infecciones, tumores, trastornos pulmonares obstructivos^{7,8,9,10,11} e hipertensión pulmonar¹².

1.1. Procesos pulmonares restrictivos

1.1.1. *Fibrosis pulmonar quística*

Es un trastorno generalizado de las glándulas exocrinas en la que predominan los cuadros pulmonares y pancreáticos, se caracteriza por secreciones respiratorias espesas, lo cual predispone a infecciones pulmonares frecuentes que provocan cambios inflamatorios y fibróticos en el pulmón.

1.1.2. *Fibrosis pulmonar idiopática*

Es el término que se usa clínicamente para la lesión histológica conocida como neumonía intersticial, en la que los pulmones muestran áreas muy fibróticas, al

lado de zonas casi normales o con moderada inflamación y otras de quistes múltiples subpleurales que muestran la destrucción del parénquima pulmonar¹³. En estos pacientes se presentan cambios pulmonares (fibróticos difusos en ausencia de otras enfermedades sistémicas) con rápida progresión y alta mortalidad¹⁴. Esta enfermedad al igual que la fibrosis quística representa a los trastornos pulmonares restrictivos.

1.2. Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)

1.2.1 Enfisema pulmonar

Las EPOC son padecimientos en los cuales se presenta obstrucción progresiva e irreversible en el flujo de aire, principalmente durante la espiración; siendo una de las enfermedades más representativas el enfisema pulmonar¹⁵. El enfisema es una enfermedad difusa caracterizada por destrucción de la pared alveolar y formación de espacios aéreos agrandados con obstrucción a la espiración del flujo de aire, hiperinsuflación pulmonar y atrapamiento de gas^{9,16,17,18,19}.

Uno de los factores desencadenantes de la enfermedad es el tabaquismo, y factores hereditarios como la deficiencia de enzimas antiproteasas^{7, 9,10}. Aunque la etiología no es totalmente conocida, se cree que esta enfermedad se debe al efecto de enzimas proteolíticas como la elastasa y otras proteasas derivadas de los neutrófilos pulmonares, macrófagos y células mononucleares que destruyen las paredes alveolares y a su vez producen el agrandamiento de los espacios aéreos^{7,10,11,20,21,22,23,23,25}.

1.3. Hipertensión arterial pulmonar primaria

Es una enfermedad progresiva que se caracteriza por hipertensión precapilar pulmonar y es consecuencia de neumopatías intersticiales difusas (fibrosis pulmonar idiopática), enfermedades del tejido conectivo, esclerosis sistémica, enfermedad mixta del tejido conectivo, artritis reumatoide y sarcoidosis²⁶.

El tratamiento para este tipo de enfermedades incluye diferentes terapéuticas como: interrupción del tabaquismo, educación del paciente sobre la enfermedad, uso de oxígeno complementario, aplicación de inhibidores de proteasas, administración de esteroides y vasodilatadores, así como algunos procedimientos quirúrgicos^{7,11}. Se han intentado diferentes procedimientos quirúrgicos para el tratamiento de estas neumopatías, en los enfermos de enfisema pulmonar se practica la bulectomía y la técnica de reducción bilateral de volumen pulmonar con resección no anatómica del tejido pulmonar^{16,27,28,29,30,31}; sin embargo en estos pacientes, así como en los que padecen fibrosis o hipertensión pulmonar con calidad de vida inaceptable y esperanza de vida limitada, sin otras enfermedades extrapulmonares graves asociadas, ni antecedentes recientes de neoplasia, se considera la realización de trasplante pulmonar.

2. TRASPLANTE PULMONAR

El trasplante pulmonar (TP) se ofrece a pacientes con neumopatía avanzada de carácter obstructivo, restrictivo, séptico o vascular sin otra alternativa terapéutica, y que tengan una calidad de vida inaceptable y una esperanza de vida limitada, sin otras enfermedades extrapulmonares graves asociadas ni antecedente reciente de neoplasia.

El TP consiste en transferir un pulmón o ambos pulmones de un individuo a otro, con el objeto de reemplazar la función de los que se encuentran dañados. Cuando se lleva a cabo un trasplante al paciente que recibe el órgano se le llama receptor, mientras que la persona de la cual procede el órgano o tejido se le denomina donante o donador³².

2.1. Desarrollo histórico del trasplante pulmonar

Carrel y Guthrie crearon el antecedente inicial del TP al realizar un trasplante heterotópico de bloque cardiopulmonar como parte de sus experimentos de cirugía vascular en la segunda década de este siglo³².

Los primeros TP experimentales en animales fueron realizados en la década de los 40's por el soviético Vladimir P. Demikhov³³. Sin embargo, pasaron aproximadamente dos décadas para que James Hardy realizara el primer TP en un prisionero de 58 años de edad; el cual sobrevivió 18 días, y murió debido a complicaciones renales³⁴. Menos de un mes después se efectuó el segundo trasplante registrado, en la Universidad de Pittsburg, el paciente sobrevivió 7 días.

En 1980 ya se habían reportado 38 trasplantes pulmonares en el mundo, de los cuales solo 16 pacientes lograron sobrevivir más de un mes, sin embargo la era de los trasplantes exitosos se inició hasta el 7 de noviembre de 1983 cuando Cooper y colaboradores en la Universidad de Toronto por primera vez trasplantan un solo pulmón con supervivencia a largo plazo (6 años)³⁵.

2.2. Trasplante pulmonar en México

En México, el 24 enero de 1989 los Doctores Patricio Santillán, Jaime Villalba y Rogelio Jasso, realizaron el primer TP en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, en un paciente con fibrosis pulmonar, el cual sobrevivió por 9 años⁸. De acuerdo al Centro Nacional de Trasplantes (CENATRA) en México se han efectuado 31 trasplantes desde el año 1989 hasta el 2008³⁶. Según el registro de la International Society for Heart and Lung Transplantation en su reporte del 2008, hasta el 30 de junio del 2007 se han reportado 25,950 trasplantes pulmonares en el mundo³⁷.

2.3. Tipos de trasplante

Los tipos de TP pueden considerarse de acuerdo a la relación genética entre donador-receptor y a la patología a tratar.

Por lo anterior, los trasplantes se clasifican en:

1. Autotrasplantes o autoinjertos; en los cuales se utiliza el tejido del propio individuo, es decir, donador y receptor son la misma persona.
2. Isotrasplantes; entre gemelos idénticos o univitelinos, es decir, cuando donador y receptor son genéticamente idénticos.
3. Homotrasplantes o alotrasplantes; en el que el donador y el receptor pertenecen a la misma especie, pero genéticamente son diferentes.
4. Heterotrasplantes o xenotrasplantes; es el que se realiza entre sujetos de diferentes especies³⁷.

Con base a la patología a tratar las modalidades de Trasplante Pulmonar clínicamente relevantes incluyen³⁵:

1. Trasplante unilateral, el cual se lleva a cabo en pacientes con fibrosis³⁸.
2. Trasplante doble o bilateral secuencial. Se utiliza principalmente en los procesos sépticos, fibrosis quística y bronquiectasias que requieren necesariamente el trasplante bipulmonar.
3. Trasplante de bloque cardiopulmonar. Se reserva para situaciones especiales (enfermedad pulmonar terminal, más cardiopatía terminal), su frecuencia ha ido en descenso en todo el mundo.
- 4.- Trasplante lobar se considera aún experimental

3. FACTORES QUE INTERFIEREN EN EL ÉXITO DEL TRASPLANTE PULMONAR

Si bien el trasplante pulmonar es una alternativa de tratamiento que incrementa la supervivencia en los pacientes con enfermedad pulmonar terminal, retirándolos de la invalidez respiratoria, no se encuentra exento de tener complicaciones en el pre y postrasplante. Entre los problemas que se encuentran antes del trasplante sobresalen la falta de donadores y la preservación pulmonar. Mientras que posterior al trasplante se encuentran la hemorragia quirúrgica, la disfunción

temprana del injerto, la cicatrización bronquial, la inmunosupresión, infecciones, bronquiolitis obliterativa, parálisis diafragmática, falla orgánica múltiple e infarto³⁹.

3.1. Falta de donadores

La falta de donadores puede presentarse por:

Poca consciencia de la sociedad a favor de la donación. Capacitación técnica deficiente para la detección y mantenimiento del posible donador y aunado a esto es común que después de la muerte cerebral los donadores cadavéricos por lo regular hayan estado sometidos a eventos inflamatorios, intubación prolongada, episodios de infección e hipotensión, lo que aumenta la susceptibilidad del pulmón a presentar daño y respuestas aloinmunes^{40,41}. Consecuentemente solo de un 10 a 30% de los pulmones donados son aptos para ser trasplantados⁴². En México a pesar del avance en los aspectos técnicos, terapéuticos e inmunológicos; la escasez de donadores de pulmón continúa siendo uno de los factores más importantes que reducen la aplicación generalizada del trasplante pulmonar³⁵, porque se obtienen órganos para trasplante de un 40% de donadores potenciales y únicamente el 7% de todos esos órganos procurados son pulmones³⁵.

Otro factor que complica la donación de pulmón son los aspectos legales y los aspectos organizativos de los grupos de trasplante³².

3.2. Inmunosupresión

La inmunosupresión del paciente trasplantado se utiliza para disminuir la incompatibilidad biológica³² y evitar el rechazo que puede ser: hiperagudo, agudo y crónico.

En la actualidad para evitar el rechazo del pulmón trasplantado se utiliza con relativo éxito la terapia inmunosupresora triple a base de ciclosporina A, azatioprina y prednisona. Sin embargo en este tipo de inmunosupresión se deben vigilar periódicamente los niveles de ciclosporina A en sangre para mantener al paciente en los rangos terapéuticos óptimos y evitar el daño renal. Además el uso de prednisona en esta terapia triple también tiene que ser vigilada ya que puede

interferir con la cicatrización de la vía aérea; por esta razón algunos grupos de trasplante inician su administración una semana después del trasplante, aunque hay grupos que la inician desde el primer día.

A pesar de los grandes esfuerzos y avances obtenidos en los últimos años, el rechazo agudo y sobre todo el crónico siguen siendo factores limitantes de la supervivencia y de la calidad de vida de los pacientes trasplantados^{38,43}, ya que en el curso de los primeros 30 días postrasplante es probable que se presenten uno o más episodios de rechazo agudo que se diagnostica mediante la aparición de infiltrados en la placa de tórax, disminución en la saturación de oxígeno, biopsia transbronquial, lavado bronquioalveolar y la determinación de subtipos de linfocitos en sangre periférica, medición de tromboxanos en orina y lavados bronquioalveolares, así como la realización de gammagrafías perfusorias.

3.3. Cicatrización bronquial

La falta de circulación sistémica o local en el bronquio hace que éste muestre complicaciones a mediano plazo en la cicatrización postrasplante así como dehiscencia o estenosis, que en ocasiones requieren la colocación de férulas y a veces retrasplante. Para corregir este problema hoy en día se realiza anastomosis bronquial término terminal telescopada.

4. PRESERVACIÓN

Se define como preservación a los métodos y estrategias utilizadas para mantener la integridad morfológica, funcional y bioquímica de un órgano o tejido durante el proceso previo al trasplante⁴⁴.

La preservación pulmonar es diferente a la que tienen los órganos sólidos, debido a que el pulmón no solo posee una vía vascular, sino también cuenta con una vía aérea que durante la preservación pulmonar mantiene un metabolismo aerobio (utilizando el oxígeno alveolar aún durante la isquemia), a diferencia de los

órganos sólidos que durante la preservación basan su metabolismo en la isquemia hipotérmica anaerobia. Por esta característica el pulmón no tolera períodos de isquemia mayores a 6 horas⁴⁵, debido a que este metabolismo favorece durante la isquemia el daño oxidativo⁴⁶ provocado por la formación de radicales libres de oxígeno (RLO) y la peroxidación lipídica^{47,48,49} dañando a las células de la membrana alveolo-capilar, incrementando así su permeabilidad debido a la lisis generada. Durante la isquemia, también se inactiva la bomba Na^+/K^+ provocando la entrada de Na^+ en la célula y edema intracelular, otro de los factores causantes de daño celular es la alteración de las concentraciones de Ca^{++} citosólico, y la liberación de Fe que potencializan el efecto de los RLO. Los eventos antes mencionados tienen como consecuencia la activación, quimiotaxis adhesión y transmigración leucocitaria en el endotelio, lo que favorece la muerte celular^{47,49,50,51,52}. Los cambios sufridos por el pulmón durante la preservación, a su vez ocasionan que en la reperfusión se presente el daño por isquemia reperfusión (DIR), durante el cual se incrementa el daño vascular y aéreo por la liberación de diferentes mediadores químicos entre los que sobresalen las endotelinas.

Aunque el desarrollo de las técnicas de procuración y preservación de órganos ha mejorado de manera importante, depende de varios factores para que la preservación pulmonar tenga éxito, entre ellos: vías de perfusión, hipotermia, estado de insuflación del pulmón al ser almacenado, posprocuración (pretrasplante), tiempo de isquemia y la solución de preservación del órgano.

4.1. Tipos o vías de perfusión pulmonar durante la preservación

Con la perfusión se busca lavar la vía vascular y aportar nutrientes durante la isquemia. Durante la procuración el pulmón puede perfundirse de dos maneras, la primera es la anterógrada que se realiza a través de la arteria pulmonar y es la más utilizada en el mundo y la otra vía es la retrógrada en la cual la solución de preservación se perfunde a través de las venas pulmonares. Algunos grupos de

trasplante realizan las dos perfusiones en un mismo injerto para evitar la formación de trombos al realizar un segundo lavado^{38,44}.

4.2. Papel de la hipotermia en la preservación

Cuando un trasplante no se realiza de forma simultánea, cualquier órgano a trasplantar debe ser sometido a hipotermia durante la isquemia con el objetivo de disminuir el metabolismo, así como las reacciones bioquímicas y de degradación de los componentes celulares del pulmón. Actualmente la temperatura de hipotermia que ha mostrado mejores resultados en el trasplante clínico es 4 C°⁵³.

4.3. Estado de insuflación pulmonar durante el almacenaje

La insuflación pulmonar durante la fase de preservación tiene el fin de aportar oxígeno a las células durante su almacenamiento en hipotermia y proveer un metabolismo aerobio más eficiente^{54,55}.

4.4. Soluciones de Preservación

Una solución de preservación debe mantener la integridad morfológica y funcional del tejido durante el proceso previo al trasplante y disminuir la liberación de mediadores químicos durante el restablecimiento del flujo sanguíneo del órgano trasplantado.

En el pulmón estas soluciones tienen que prevenir el edema celular, el edema del espacio intersticial, la acidosis y regenerar la actividad del ATP durante la isquemia e isquemia-reperfusión⁵⁶.

4.5. Tipos de soluciones de preservación

De acuerdo a la composición las soluciones de preservación se dividen en: 1) intracelulares con alto contenido de potasio, magnesio y fosfato [Euro-Collins (EC) y Universidad de Wisconsin (UW)], y 2) extracelulares que contienen altas cantidades de sodio y cloro [Celsior (Ce) y Dextrán Baja en Potasio (LPD) por sus siglas en inglés].

Las soluciones intracelulares se han utilizado principalmente para la preservación de órganos sólidos como riñón, páncreas o hígado, (aunque la solución EC también fue utilizada para la preservación del injerto pulmonar)⁵⁷, pero debido a su alto contenido en K⁺ producían vasoconstricción severa, daño endotelial, aumento de la permeabilidad vascular y edema por reperfusión^{57,58,59}, por lo que han caído en desuso y se ha optado por el uso de soluciones con bajo contenido en potasio⁶⁰.

4.5.1. Solución Dextrán Baja en Potasio (LPD)

La solución dextrán baja en potasio (Cuadro 1) es una solución de tipo extracelular que contiene dextrano, el cual actúa como agente oncótico^{58,61} e impermeabilizante, mantiene el agua en el compartimiento intravascular disminuyendo el edema⁵⁸, reduce la agregación eritrocitaria y plaquetaria con lo que evita la formación de trombos; además su bajo contenido en glucosa es suficiente para mantener el metabolismo celular en hipotermia⁶², por lo que desde finales de los 90's se utiliza en la práctica clínica de algunos programas de trasplante pulmonar⁶³.

4.5.2. Solución Celsior (Ce)

La solución Celsior es una solución de tipo extracelular, compuesta por varias sustancias entre las que sobresalen el lactobionato y manitol que actúan como impermeabilizantes al reducir el edema celular; glutatión reducido⁶¹ e histidina que disminuyen la formación de radicales libres de oxígeno; glutamato que incrementa la energía y previene la despolarización celular, el magnesio y la ligera acidosis debida a la unión de todos sus componentes previene la liberación de calcio⁶². Esta solución fue diseñada para la procuración cardíaca, pero su bajo contenido en potasio ha permitido su uso en la preservación pulmonar^{57,64}.

Si bien tanto la solución LPD como la Celsior han mostrado buenos resultados en la preservación pulmonar menor a 6 horas; su utilidad en preservaciones de mayor

tiempo (isquemias de 12-24 horas), así como el daño que se produce por la liberación de mediadores químicos después de esta y en la reperfusión durante el trasplante pulmonar, no han sido estudiadas.

5. DAÑO ISQUEMIA-REPERFUSIÓN

El daño por isquemia reperfusión (DIR) es la lesión que se produce sobre la unidad funcional del órgano a trasplantar como consecuencia de la interrupción del flujo sanguíneo y el restablecimiento del paso de sangre a través del mismo. En el pulmón el DIR se caracteriza por daño alveolar no específico, edema pulmonar e hipoxemia inmediatamente después de la reperfusión pulmonar. A este daño también se le denomina edema de reimplantación, respuesta de reimplantación, daño por reperfusión o edema de reperfusión⁴¹, pero el término más aceptado es daño por isquemia-reperfusión.

El DIR es una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad antes de las 72 horas postrasplante y se asocia al incremento en el riesgo de rechazo agudo, así como a la disfunción del injerto a largo plazo^{47,65,66}.

La falla primaria del injerto es la disfunción del órgano trasplantado que se presenta después de las 72 horas del trasplante y puede ser el resultado de los eventos que ocurren desde la declaración de muerte cerebral en el donador y los que se presentan en el receptor postrasplante. Esta se ha asociado a la mortalidad perioperatoria de un tercio de los pacientes sometidos a trasplante pulmonar⁴⁴.

5.1. Endotelina 1 (ET-1)

Es importante recalcar el papel del endotelio en la generación del daño pulmonar por DIR; el endotelio es un regulador de la liberación de sustancias como la endotelina uno (ET-1) la cual es capaz de originar daño y probablemente falla primaria del injerto.

La (ET-1) es un péptido formado por 21 aminoácidos, con diferentes actividades biológicas que están involucradas en las enfermedades pulmonares. Posee actividad vasoconstrictora superior a la angiotensina II y la vasopresina⁶⁷, por lo

que está involucrada en el aumento de la resistencia vascular. También es un regulador mitogénico del músculo liso favoreciendo el crecimiento de este en la vía aérea^{68,69}. Además actúa como mediador inflamatorio por lo que tiene un papel clave en las enfermedades de la vía aérea, circulación pulmonar y enfermedades pulmonares inflamatorias agudas y crónicas⁷⁰.

La ET-1 se ha relacionado con diversas patologías en todo el organismo, sin embargo se relaciona más con las del aparato respiratorio por la gran extensión del endotelio pulmonar, en estudios en los que cuantificaron el RNAm en diversos tejidos observaron que el pulmón cuenta con aproximadamente 5 veces más del mismo⁷¹.

La ET-1 en el pulmón se sintetiza principalmente en el endotelio vascular, vía aérea, células de músculo liso vascular, macrófagos alveolares y en menor grado en el epitelio de la vía aérea. Sin embargo ésta también circula en el plasma⁷².

En la actualidad se conocen 2 tipos de receptores de endotelinas, el receptor de endotelina A (ET_A) y el B (ET_B) estos son parte de una superfamilia de proteínas transmembranales. El ET_A tiene mayor afinidad por la ET-1 y ET-2 que para la ET-3, mientras que el ET_B tiene afinidad por las tres⁷³.

Los receptores ET_A en los pulmones normales se encuentran en gran cantidad en el músculo liso vascular y de la vía aérea, mientras que los ET_B se encuentran en el endotelio. La eliminación de la ET-1 de la circulación es en el pulmón, riñón e hígado y es mediada por los receptores ET_B^{73,74,75}.

La activación de los receptores ET_A en las células de músculo liso produce vasoconstricción. Mientras que la activación de los ET_B produce broncoconstricción, por otro lado, la activación de los ET_B localizados sobre las células endoteliales produce vasodilatación por el incremento en la producción de óxido nítrico (NO)^{72,74}.

Los factores que desencadenan la síntesis y liberación de ET-1 y la expresión de sus receptores están influenciados por varios mecanismos físicos y bioquímicos entre los que sobresalen los estados agudos de hipoxia y el roce celular como el que se presenta en la reperfusión de los órganos trasplantados.

Aunque el papel de la ET-1 en la patología pulmonar aún no ha sido completamente definido, es clara su importancia en la salud y enfermedad del sistema respiratorio debido a su efecto en el tono vasomotor y broncomotor, así como en el proceso inflamatorio. El incremento en los niveles de ET-1 se ha asociado al remodelamiento vascular en varios tipos de hipertensión experimental y clínica; también al asma debido a su efecto vaso y broncoconstrictor⁶⁸.

En el trasplante pulmonar la hipoxia y la reperfusión generada durante la preservación pulmonar, producen una respuesta endotelial severa provocada por el DIR, en donde existe activación, quimiotaxis y adhesión leucocitaria en el endotelio^{52,76}, además de una disminución en la síntesis de proteínas que desencadena en una muerte celular combinada entre necrosis y apoptosis, en donde existe liberación de sustancias vasodilatadoras (óxido nítrico y tromboxanos) que promueven la expresión de la ET-1^{77,78,79}.

Clínicamente el aumento en la adhesión leucocitaria al endotelio, la agregación plaquetaria, el edema intersticial y la disminución de la vasodilatación dependiente del endotelio resultan en una obstrucción de tipo mecánico al flujo^{76,79,80}.

En el sistema cardiopulmonar la isquemia-reperfusión favorece la presencia de arritmias posreperfusión, aparecen típicamente la taquicardia ventricular y la fibrilación ventricular^{76,79}. Una de las consecuencias finales del DIR es el desarrollo de falla orgánica múltiple.

Con base en lo anterior y con el fin de incrementar la viabilidad de los pulmones preservados por más de 6 horas y favorecer el éxito del trasplante pulmonar, es necesario encontrar una solución de preservación que disminuya la liberación de ET-1, así como el DIR que se presenta al restablecer el flujo sanguíneo pulmonar durante el trasplante para evitar la lesión de la membrana alveolo capilar, extravasación de líquido hacia el intersticio, edema y la disfunción pulmonar.

II. JUSTIFICACIÓN

Los pulmones preservados por más de 6 horas sufren lesiones secundarias debido al daño ocasionado por el síndrome isquemia-reperfusión, dando como consecuencia liberación de ET-1 y alteración de la membrana alveolo capilar que se manifiesta generando edema intersticial y alveolar; provocando disfunción pulmonar del injerto trasplantado. Por ello resulta de vital importancia evaluar soluciones de preservación que disminuyan o atenúen estas lesiones cuando los pulmones se preservan por más tiempo.

III. HIPÓTESIS

El uso de las soluciones de preservación Dextrán Baja en Potasio y Celsior en el pulmón preservado por 12 horas, disminuirá el daño causado por el síndrome isquemia-reperfusión, por lo que no habrá cambios gasométricos, hemodinámicos, macroscópicos, microscópicos, ni expresión de ET-1.

IV. OBJETIVOS

1. Objetivo general

Estudiar el efecto de la preservación pulmonar de 12 horas con las soluciones Dextrán Baja en Potasio y Celsior sobre el daño por isquemia reperusión a través de la evaluación de la función pulmonar.

1.1. *Objetivos específicos*

-Evaluar los cambios gasométricos, hemodinámicos, macroscópicos, microscópicos y niveles plasmáticos de ET-1 que se producen durante la isquemia reperusión, después de preservar el pulmón durante 12 horas con solución LPD.

- Evaluar los cambios gasométricos, hemodinámicos, macroscópicos, microscópicos y niveles plasmáticos de ET-1 que se producen durante la isquemia reperusión, después de preservar el pulmón durante 12 horas con solución Celsior.

- Comparar la síntesis ET-1 plasmática con los hallazgos gasométricos, hemodinámicos, macroscópicos y microscópicos postrasplante pulmonar después de un período de preservación de 12 horas con solución Dextrán Baja en Potasio y Celsior.

V. MATERIAL Y METODOS

1. DISEÑO EXPERIMENTAL

1.1. Tipo de estudio

Se realizó un estudio experimental, prospectivo, longitudinal y comparativo; aprobado por el comité de bioética del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Ismael Cosío Villegas" (INER "ICV") y el Subcomité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales en Experimentación (SICUAE) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

1.2. Recursos

El financiamiento de esta investigación fue otorgado por el INER "ICV", y por el Programa de becas para el Fortalecimiento del Posgrado Nacional (PFPN) del Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Durante la realización del estudio participaron el personal médico y técnico del Departamento de Investigación en Cirugía Experimental del INER "ICV", quien proporcionó el quirófano, equipo de anestesia inhalada, monitores y gasómetro para la valoración de signos vitales, instrumental, material y fármacos necesarios para la realización del procedimiento quirúrgico y para el seguimiento posoperatorio de los animales. Además todos los reactivos químicos para la determinación plasmática de ET-1 y para la preparación de las soluciones preservadoras utilizadas en este proyecto.

También intervino el departamento de morfología para el procesamiento de las muestras de tejido sometidas a estudio.

Los animales que se sometieron a estudio se obtuvieron del bioterio del INER "ICV".

2. Animales ó sujetos de experimentación

Se utilizaron 30 perros mestizos clínicamente sanos con un peso entre 15-18 kilogramos sin importar el sexo ni la edad. Estos animales fueron tratados de acuerdo a las Especificaciones Técnicas para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Norma Oficial Mexicana (NOM ZOO-062 1999) y la Guía para el Uso y Cuidado de los Animales de Laboratorio de los Estados Unidos de América^{81,82}.

2.1. Criterios de inclusión

Se incluyeron animales clínicamente sanos, sin antecedentes de enfermedad desde su llegada al bioterio del INER "ICV" y hasta el momento de realizar el procedimiento quirúrgico.

2.2. Criterios de exclusión

Animales que debido a complicaciones derivadas del trasplante no concluyeron el tiempo de término de estudio.

2.3. Criterios de eliminación

Todo animal que presentó signos clínicos de cualquier patología que no fue provocada por el procedimiento quirúrgico.

2.4. Criterios de terminación ó punto final humanitario

Animales que debido al procedimiento presentaron signos de sufrimiento que no se mitigó mediante las medidas de control del dolor, o complicaciones que afectaron la dinámica del estudio.

3. Grupos de estudio

En 12 animales se realizó alotrasplante unilateral de pulmón izquierdo (AUPI), mientras que en 6 solo se llevó a cabo disección y pinzamiento del hilio pulmonar; para su estudio fueron divididos en 3 grupos:

Grupo I (n=6) Testigo. Se realizó toracotomía, disección del hilio pulmonar y pinzamiento de la arteria pulmonar, venas pulmonares y bronquio principal izquierdo.

Grupo II (n=6) AUPI con solución Dextrán Baja en Potasio (LPD) por 12 horas a 4°C.

Grupo III (N=6) AUPI con solución Celsior por 12 horas a 4° C.

Los 12 animales restantes, se emplearon en el estudio como donadores de bloque cardiopulmonar.

3.1 Preparación de las soluciones de preservación

Las soluciones de preservación LPD y Celsior, fueron preparadas 12 horas antes en el laboratorio del Departamento de Cirugía Experimental del INER "ICV", de acuerdo a las fórmulas utilizadas en otros estudios (Cuadro 1).

4. Anestesia

Todos los animales operados se sometieron a ayuno de doce horas para sólidos, ocho para líquidos y fueron premedicados con sulfato de atropina a 0.022 mg/kg SC y maleato de acepromacina (*Calmivet Vétoquinol S.A., Cedex, Francia*) a razón de 0.02 mg/kg IM. Posteriormente la anestesia se indujo con propofol (*Diprivan Milan Italia*) a una dosis de 6 mg/kg IV. Acto seguido se realizó tricotomía amplia y lavado con jabón quirúrgico en el hemitórax izquierdo, zona inguinal derecha y región cervical lateral y ventral en los receptores, mientras que en los donadores se realizó en el esternón. Después los animales fueron colocados sobre la mesa de cirugía en posición decúbito dorsal y se intubaron con una sonda orotraqueal (*Baxter, California, USA*), conectada a un ventilador de volumen (*Harvard Apparatus, Boston MA, USA*) con un vaporizador (*Isotec 3*

Ohmeda). Finalmente se colocó en posición decúbito dorsal (donadores) o decúbito lateral derecho (receptores) y se realizó la antisepsia de las zonas con yodo povidona (*Dermodine Solución, Dermodex S.A. de CV.*) Durante todo el estudio la anestesia se mantuvo con isofluorano al 1.5% (*Laboratorios PISA, Guadalajara, Jalisco, México*).

Todos los animales se ventilaron con un volumen corriente de 10 ml/Kg, una fracción inspirada de oxígeno (FiO₂) de 100% y 20 respiraciones por minuto; durante todo el procedimiento quirúrgico se vigilaron los signos vitales con un monitor para electrocardiografía (Datascopie Passport).

5. Técnica quirúrgica

5.1. Técnica quirúrgica del Donador

A través de una esternotomía media con límite superior en el hueco supraesternal y límite inferior con el apéndice xifoides (Figura 1 A), se disecó y seccionó la vena ácigos, posteriormente se disecaron y se refirieron la vena cava craneal, caudal y la tráquea, inmediatamente después se disecaron y refirieron el tronco de la arteria pulmonar y aorta, se hizo una jareta (Figura 1 B) sobre la base de la arteria pulmonar con material absorbible 4 ceros (*Prolene, Ethicon, New Jersey, USA*). Se administraron 5000 UI/kg de heparina 3 minutos después se colocó un catéter en el sitio de la jareta, el cual se dirigió hasta la rama izquierda y se inició con la procuración y preservación del injerto, perfundiéndose (Figura 1 B) in situ la solución a estudiar (LPD o Celsior) a 4° C^{60,83}, con una presión de 20 cm de agua, a dosis de 20 ml/kg, inmediatamente se ligaron las venas cavas, se dejó que se vaciara el corazón y se ligó el tronco aórtico, se realizó un corte en la orejuela izquierda para liberar la solución que se estaba perfundiendo y una vez que el pulmón se encontraba completamente lavado, se seccionaron las cavas y aorta, posteriormente se pinzó y seccionó la tráquea. Finalmente se extrajo el bloque cardiopulmonar (Figura 1 C)^{57,84}.

Con el bloque cardiopulmonar exvivo, se disecó y seccionó el hilio pulmonar a trasplantar (izquierdo), sólo que la sección de las venas pulmonares izquierdas

incluyó un colgajo de aurícula izquierda para facilitar la anastomosis de éstas durante el trasplante. Además antes de seccionar el bronquio principal izquierdo éste fue pinzado (para evitar la salida de aire del pulmón a trasplantar). Concluído esto, el pulmón se sumergió en semi-insuflación en un recipiente estéril que contenía la solución estudiar (c.b.p cubrir al órgano), por último se cubrió con gasas estériles, y se mantuvo en refrigeración durante 12 hrs a 4°C⁸⁵.

5.2. Técnica quirúrgica del receptor

5.2.1. Cateterismo

Previo a la realización del trasplante se llevó a cabo cateterismo de la arteria pulmonar (AP) y arteria femoral derecha (AF) para la monitorización de los parámetros hemodinámicos pulmonares y sistémicos.

Con el animal en posición decúbito dorsal, se realizó venodisección de la vena yugular derecha para la cateterización de la AP, se insertó un catéter de termodilución de diámetro 5F (*Swan Ganz, Standard Thermodilution Balloon Catheter, Edwards Lifesciences, Ontario, Canadá*), que se dirigió a la arteria pulmonar (lo cual fue identificado con el trazo que marcaba el monitor de signos vitales) con este se registró la hemodinamia pulmonar, presión venosa central y con la ayuda de una computadora de gasto cardiaco (*Hemodynamic Profile Computer Spectramed model SP-1445, Oxnard, CA-USA*), se calculó el gasto cardiaco (GC) y las resistencias vasculares pulmonares y sistémicas^{86,87}.

La cateterización de la AF también se llevó a cabo por arteriodisección y se introdujo en esta un catéter de polivinilo de una sola luz (*Cordis Corp, Johnson & Johnson, CA, USA*), que fue conectado a un monitor de electrocardiografía (*Datacospe Passport, New Jersey, USA*) para la monitorización de los valores hemodinámicos sistémicos.

5.3. Técnica de trasplante pulmonar

Concluído el cateterismo se colocó al paciente en decúbito lateral derecho y se realizó toracotomía izquierda a nivel del quinto espacio intercostal, se expuso el

pulmón izquierdo, se seccionó el ligamento pulmonar, y el pulmón y se cubrió con una compresa, se expuso el hilio pulmonar, se disecaron la AP, el bronquio principal y las venas pulmonares hasta su entrada a la aurícula izquierda (Figura 2 A), enseguida se pinzaron y seccionaron la arteria pulmonar y el bronquio, se colocó una pinza de Satinsky sobre la aurícula izquierda, sin ocluir las venas pulmonares derechas y se seccionaron las venas pulmonares izquierdas en su entrada a la aurícula izquierda. En el grupo testigo (grupo I) se realizó el mismo procedimiento, excepto que el pulmón no fue retirado solo fue pinzado durante 45 minutos restableciéndose su perfusión y ventilación pasado este tiempo.

5.4. Implante

Posterior a la neumonectomía, el pulmón a trasplantar que se mantuvo en refrigeración fue llevado al quirófano (Figura 2 B) donde se inició el trasplante con la anastomosis del colgajo de aurícula izquierda con surgete continuo y material de sutura no absorbible 4 ceros (*Prolene, Ethicon, New Jersey, USA*), se continuó con la anastomosis de la AP (Figura 2 C) también con surgete continuo y utilizando el mismo material con el que se suturó la aurícula. Al finalizar la anastomosis vasculares, se retiraron los clamps vasculares y se inició la reperusión del injerto (Figura 2 D), por último se llevó a cabo la anastomosis del bronquio principal izquierdo con surgete continuo para la parte membranosa y puntos separados para la parte cartilaginosa utilizando material absorbible 4 ceros (Figura 2 E), (*PDS, Ethicon, New Jersey, USA*) y se concluyó el trasplante, se insufló el pulmón hasta que no fueron aparentes zonas de atelectasia. Se colocó una sonda endopleural conectada a un sello de agua, la toracotomía se cerró por planos. Al terminar el cierre convencional se retiró la sonda endopleural.

6. Evaluación

Cada evento experimental tuvo una duración de 24 horas, al término del tiempo de estudio, los animales fueron sometidos a eutanasia con una sobredosis de pentobarbital sódico.

En todos los animales se realizó una evaluación gasométrica, hemodinámica y determinación plasmática de ET-1 en los siguientes tiempos:

Inmediatamente después del cateterismo (la cual se consideró como basal), posterior a la toracotomía, posneumonectomía, al finalizar las anastomosis vasculares, al finalizar el trasplante (cuando se concluyó la anastomosis bronquial), a los 15 y 30 minutos durante la primera hora postrasplante, cada hora durante las 3 horas siguientes y la última muestra se tomó a las 24 horas posteriores al trasplante.

Después de que se cumplieron las 4 horas de las evaluaciones, se extrajeron los catéteres y se reconstruyeron los vasos sanguíneos utilizando material de sutura no absorbible de 6-0 (Prolene, *Ethicon, New Jersey, USA*) y se realizó el cierre convencional de las zonas intervenidas.

Para la última evaluación, se cateterizó nuevamente, se conectó al animal al monitor de signos vitales y a la computadora de gasto cardíaco, bajo las mismas condiciones del día anterior (implante pulmonar).

6.1. Evaluación gasométrica

Para la evaluación gasométrica se tomó 1 ml de sangre arterial y venosa con jeringas heparinizadas (100UI) y se procesaron inmediatamente en un analizador de gases (*AVL Compact 2, Blood gas analyzer*) para determinar el efecto de la reperfusión y ventilación del injerto, se valoraron los siguientes parámetros:

- A) Presión parcial arterial de oxígeno (PaO_2)
- B) Presión parcial arterial de bióxido de carbono (PaCO_2)
- C) Saturación arterial de oxígeno (SaO_2)
- D) Saturación venosa de oxígeno (SvO_2)
- E) Presión venosa de oxígeno (PvO_2)
- F) Presión venosa de dióxido de carbono (PvCO_2)

- G) pH arterial
- H) pH venoso
- I) Diferencia arterio venosa de oxígeno (D_{avO_2})

Como parámetro de dinámica de distensibilidad pulmonar se empleó la presión inspiratoria máxima (PIM).

6.2. Evaluación hemodinámica

Hemodinámicamente se evaluó:

- A) Frecuencia cardiaca (FC)
- B) Gasto cardiaco (GC)
- C) Índice cardiaco (IC)
- D) Presión arterial media (PAM)
- E) Presión media de arteria pulmonar (PMAP)
- F) Presión de oclusión o de cuña (PO)
- G) Presión venosa central (PVC)
- H) Resistencia vascular pulmonar (RVP)
- I) Índice de resistencia vascular pulmonar (iRVP)
- J) Resistencia vascular sistémica (RVS)
- K) Índice de resistencia vascular sistémica (iRVS)
- L) Corto circuito (Q_sQ_t) (parámetro que evalúa ventilación y perfusión)

El gasto cardiaco fue obtenido mediante el método de termodilución que se basa en el registro electrónico de las presiones, del volumen a infundir y de la temperatura central del paciente que son detectadas por la computadora de GC,

posteriormente el líquido ingresa a la aurícula derecha, ventrículo derecho y AP es registrado y finalmente la computadora reporta la diferencia de las temperaturas⁸⁶.

Para la medición del GC, se inyectaron tres bolos de 5ml de solución salina a 7° C.

6.3. Determinación de ET-1 en plasma

Para la determinación de la concentración plasmática de ET-1, se tomaron muestras sanguíneas directamente de la AP al mismo tiempo que se realizó la medición de los parámetros gasométricos y hemodinámicos, las cuales fueron transferidas a tubos con EDTA que se centrifugaron (*CS-6R centrifuge Beckman*) a 1500 rpm por 15 minutos a 0° C y el plasma sobrenadante se colectó en tubos de polipropileno y se almacenaron a -20° C hasta que las muestras estuvieron completas para su cuantificación por medio de la prueba de ELISA (*Endothelin-1 immunoassay 900-020 A Assay designs*) (Figura 3 A y B).

Una vez completado el número de muestras, la ET-1 fue concentrada y extraída posteriormente con la técnica de columna C Sep Pack 18, (*C₁₈ Sep-Pack columns cartridges Milipore Corporation, Marlborough Massachusetts, USA*). Para esto, cada muestra se descongeló y se mezcló con 1.5 ml de ácido acético al 20% (manteniendo una proporción 1:1), se centrifugó a 4500 rpm por 10 minutos y se recuperó el sobrenadante. Inmediatamente después la columna se activó con metanol absoluto, agua desionizada, y metanol al 10%. Posteriormente se depositó la muestra en la columna, se aplicó ácido acético al 10% y se procedió al lavado de la columna con acetato de etilo. Acto seguido se procedió al eluido de la muestra con una mezcla de metanol absoluto más bicarbonato de amonio. El eluido se colectó y se evaporó en un concentrador centrífugo al vacío; obteniéndose un pellet que se almacenó a - 20° C hasta el siguiente día. Por último se realizó la prueba de ELISA (Figura 3 C) con un kit comercial (*Endothelin-1 immunoassay 900-020 A Assay designs*) para la medición de ET-1 a través del pellet reconstituído; de acuerdo a las instrucciones del fabricante.(Figura 3 B y C).

6.4. Evaluación macroscópica

Al concluir el tiempo de estudio (24 horas postrasplante) los animales se sometieron a eutanasia con una sobredosis de Pentobarbital Sódico (*Anestosal, Pfizer S.A. de C.V. México*), acto seguido se incidió nuevamente la herida quirúrgica y se valoró el estado del pulmón trasplantado, así como el de las anastomosis y se tomaron muestras del lóbulo pulmonar caudal tanto en el grupo testigo como en los trasplantados.

6.5. Evaluación microscópica

Para la evaluación histológica las muestras se fijaron en formaldehído al 10%, se incluyeron en parafina, se realizaron cortes de 4 micras y se tiñeron con hematoxilina-eosina. El estudio se realizó con microscopía de luz y se determinó grado de hemorragia, edema e infiltración neutrofílica⁶⁴.

7. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante el programa SPSS 13.0 para Windows (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) y se utilizaron la prueba ANDEVA y Tukey para identificar entre que grupos hubo diferencia de medias. Todos los valores de $p < 0.05$, se consideraron significativos.

VI. RESULTADOS

En el grupo I todos los animales (100%) sobrevivieron al procedimiento quirúrgico y a todo el estudio. Mientras que en los grupos de trasplante el 100% de los perros operados sobrevivieron a la cirugía, pero no al tiempo de estudio establecido, ya que 1 animal (16.6%) del grupo II y 4 animales (66.6%) del grupo III fallecieron antes de las 24 horas. Al comparar entre grupos solo se observó diferencia importante entre el grupo I y III ($p < 0.02$ ANDEVA, Tukey).

1. Hallazgos gasométricos

Durante todo el tiempo de estudio gasométricamente la SaO_2 , SvO_2 , $PaCO_2$, $PvCO_2$, $DavO_2$, así como los pH arteriales y venosos se mantuvieron dentro de los valores fisiológicos de referencia.

1.1. Presión arterial de oxígeno

En todos los grupos de estudio la PaO_2 disminuyó postoracotomía y pos pinzamiento del hilio pulmonar (Grupo I) o posneumonectomía (Grupos II y III) en comparación con sus valores basales. En los grupos de trasplante estos valores se mantuvieron hasta los 240 minutos postrasplante en contraste con los del grupo I en los que a partir de los 30 minutos después de haber sido despinzado el hilio estos valores volvieron a sus parámetros normales de referencia. Sin embargo la disminución mostrada por los grupos de trasplante solo fue significativa a los 120 y 180 minutos postrasplante ($p < 0.05$ ANDEVA, Tukey). A las 24 horas poscirugía en los grupo I y II la PaO_2 retornó a sus valores normales a diferencia del grupo III en el que nunca se recuperaron ($p < 0.01$ ANDEVA, Tukey). (Gráfica 1)

1.2. Presión venosa de oxígeno

En los tres grupos la PvO_2 disminuyó después de la neumonectomía y de la anastomosis vascular. Al concluir el trasplante ésta se incrementó en comparación con sus valores basales, pero a los 15 minutos postrasplante disminuyó nuevamente y se mantuvo así hasta el final del estudio en los animales del grupo

III, sin embargo esta disminución sólo fue importante a los 180 minutos postrasplante ($p < 0.05$, ANDEVA, $p < 0.01$ Tukey) en comparación con el grupo I. En el grupo I se presentó incremento de la PvO_2 en comparación con sus valores basales a partir de los 60 minutos, éste se mantuvo hasta los 240 minutos postrasplante, a las 24 horas disminuyó al valor que tenía antes de la cirugía. En los animales del grupo II a partir de los 30 minutos postrasplante se incrementó y así permaneció hasta el final del estudio vs sus valores precirugía (Gráfica 2).

1.3. Presión inspiratoria máxima

La PIM en los tres grupos se observó incrementada después de la neumonectomía y después de la anastomosis vascular, sin embargo al concluir el trasplante en el grupo I disminuyó hasta que regresó a sus valores basales, los cuales se mantuvieron hasta el final del estudio. Los grupos II y III presentaron incremento de la PIM (vs valores precirugía) inmediatamente después de finalizar la anastomosis bronquial, la cuál se mantuvo hasta el fin del estudio. Al comparar entre grupos, el incremento de ambos grupos a los 30, 60, 120, 180 y 240 minutos postrasplante fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$ ANDEVA, $p < 0.01$ Tukey) con respecto al grupo I (Gráfica 3).

2. Hallazgos hemodinámicos.

Hemodinámicamente la FC, GC, IC, PVC, presiones arteriales sistémicas, RVS e iRVS, QsQt y la PO (cuña) no mostraron cambios importantes durante todo el estudio, manteniéndose dentro de sus valores de referencia.

2.1. Presión sistólica de la arteria pulmonar

La PSAP en los tres grupos mostró incremento posneumonectomía en comparación con sus valores basales. En los grupos de trasplante este incremento se mantuvo hasta el final del estudio, mientras que el grupo I inmediatamente después del despinzamiento bronquial volvió a sus valores normales. Al comparar entre grupos el incremento mostrado por el grupo II fue significativo en comparación con el grupo I ($p < 0.05$ ANDEVA, Tukey) (Gráfica 4).

2.2. Presión diastólica de la arteria pulmonar

En los grupos II y III se pudo observar que la PDAP se incrementó después de la neumonectomía en comparación con sus valores basales, los que volvieron a sus valores normales al concluir las anastomosis vasculares. Sin embargo a partir de los 15 minutos postrasplante se incrementaron nuevamente y este incremento se mantuvo hasta los 240 minutos postrasplante en donde retornaron a sus valores precirugía. A las 24 horas postcirugía de nuevo se aumentaron. Los animales del grupo I presentaron incremento de la PDAP al despinzar los vasos sanguíneos, pero ésta disminuyó a sus valores basales al despinzar el bronquio y así se mantuvieron durante todo el tiempo de estudio. Al comparar entre grupos este incremento de la PDAP sólo fue significativo a las 24 horas postrasplante en el grupo II en comparación con el grupo I ($p < 0.01$ ANDEVA, Tukey) (Grafica 5).

2.3. Presión media de la arteria pulmonar

La PMAP en los tres grupos de estudio se incrementó después de la neumonectomía con respecto a sus valores basales, pero esta disminuyó inmediatamente después de concluir las anastomosis vasculares y así se mantuvieron en los animales del grupo I. En los animales de los grupos trasplantados se incrementaron nuevamente a partir de los 15 minutos postrasplante y así se mantuvieron hasta el final del estudio. Al comparar entre grupos el incremento mostrado por el grupo de pulmones preservados con LPD fue significativo a los 15, 60 y 120 minutos postrasplante en comparación con el grupo I ($p < 0.05$ ANDEVA, $p < 0.01$ Tukey). Mientras que el incremento que presentó el grupo Celsior (grupo III) solo fue significativo a los 30 minutos y 24 horas postrasplante vs el grupo control ($p < 0.05$ ANDEVA, Tukey) (Grafica 6).

2.4. Resistencias vasculares pulmonares

En los tres grupos se presentó incremento de las RVP posneumonectomía. En el grupo I éstas retornaron a sus valores normales inmediatamente después del

despinzamiento de los vasos sanguíneos pulmonares. El incremento mostrado en el grupo II después de la neumonectomía volvió a sus valores basales al concluir las anastomosis vasculares, pero sufrió nuevamente incremento a los 60 minutos y se mantuvo hasta los 240 minutos postrasplante. Sin embargo este incremento disminuyó a sus valores precirugía a las 24 horas postrasplante. En el grupo III el incremento de las RVP mostrado posneumonectomía, permaneció hasta los 240 minutos de haber trasplantado el pulmón, pero volvieron a sus valores normales a las 24 horas postrasplante. Al comparar entre grupos el incremento que se presentó en el grupo III fue significativamente diferente post anastomosis vascular con respecto al grupo II ($p < 0.05$ ANDEVA, $p < 0.01$ Tukey) y a los 120, 180 y 240 minutos postrasplante en comparación con el grupo I ($p < 0.05$ ANDEVA, $p < 0.01$ Tukey) (Grafica 7).

2.5. Índice de resistencias vasculares pulmonares

Con respecto al iRVP, los grupos de trasplante mostraron incremento a partir de que se realizó la neumonectomía y éste se mantuvo hasta los 240 minutos postrasplante, pero volvió a sus valores normales a las 24 horas de la cirugía. En el grupo I se observó incremento del iRVP posneumonectomía, pero retornaron a sus valores precirugía inmediatamente después del despinzamiento de los vasos pulmonares y así permanecieron hasta el final del estudio. Al comparar entre grupos el incremento observado en el grupo III después de concluir las anastomosis vasculares fue significativo con respecto al grupo II ($p < 0.01$ ANDEVA, $p < 0.05$ Tukey) y a los 15, 120, 180 y 240 minutos postrasplante con respecto al grupo I ($p < 0.01$ ANDEVA, $p < 0.01$ Tukey). El grupo II mostró incremento significativo con respecto al grupo I a los 60 y 180 minutos postrasplante ($p < 0.01$ ANDEVA, $p < 0.05$ Tukey) (Grafica 8).

3. Hallazgos macroscópicos

En el 83.3% de los animales del grupo I (5 perros) el pulmón operado se observó de aspecto normal, sin embargo en el animal restante (16.6%), el pulmón se encontró con edema leve. En el grupo II, en 5 animales (83.3%) el pulmón

trasplantado se observó normal, pero en 1 (16.6%) perro, este se encontró congestionado y con edema severo con presencia de espuma en tráquea. Mientras que en el grupo III en todos los casos (100%) el pulmón trasplantado desarrolló congestión y edema con presencia de espuma en la tráquea y zonas de atelectasia principalmente en el lóbulo caudal. Al comparar dentro de cada grupo no se observó diferencia significativa, sin embargo entre grupos el edema observado en el grupo III fue muy importante con respecto al testigo y preservado con LPD ($p < 0.001$ ANDEVA, Tukey) (Figura 4 A, B, C y D).

4. Hallazgos microscópicos

Microscópicamente en el grupo I 50% de los animales presentaron hemorragia y edema, de los cuales, en 2 (33.3%) perros, éstos fueron moderados y en 1 (16.6%) severos (Cuadro 2 y 3). Además en uno de estos animales se observó infiltrado neutrofílico leve (Cuadro 2).

En el grupo II todos (100%) los animales mostraron hemorragia, que fue leve en 1 (16.6%) caso, moderada en 4 (66.6%) y severa en 1 (16.6%) (Cuadro 2). En el 100% de los animales trasplantados se observó presencia de edema: leve en 2 (33.3%) perros, moderado en 3 (50%) y severo en 1 (16.6%) (Cuadro 2). Además 2 animales mostraron infiltrado neutrofílico de los que 1 (16.6%) fue moderado y el otro (16.6%) severo (Cuadro 3).

En los 6 (100%) animales del grupo III se observó hemorragia y edema, leve en 1 perro (16.6%), moderada en 3 (50%) y en 2 casos severa (33.3%). (Cuadro 4). Además en este grupo todos los animales desarrollaron infiltrado a base de neutrófilos: leve en 2 (33.3%) animales y moderado en 4 (66.6%) (Figura 5 A, B, C y D).

Al comparar la presencia de hemorragia, edema e infiltrado neutrofílico dentro de cada grupo, no se observó diferencia significativa. Entre grupos solo se observó diferencia importante en el infiltrado neutrofílico que mostró el grupo III vs el grupo I ($p < 0.027$ ANDEVA, $p < 0.020$ Tukey).

5. Hallazgos bioquímicos (Evaluación plasmática de ET-1)

Con respecto a la concentración de ET-1 en plasma se observó que en todos los grupos de estudio se liberó inmediatamente después de realizar la toracotomía y durante todo el tiempo de estudio en comparación con sus valores basales. En el grupo I la mayor expresión de ésta fue postoracotomía y empezó a disminuir inmediatamente después del despinzamiento bronquial y así se mantuvo hasta el final del estudio, aunque se presentó incremento de ésta, sus valores siempre estuvieron dentro de los rangos normales (Gráfica 9). En los animales en los que el pulmón se preservó con solución LPD (grupo II) el mayor incremento en la liberación de esta se observó a los 120 después de concluir el trasplante y empezó a disminuir a los 180 minutos después de éste, no obstante a las 24 horas sus niveles se incrementaron nuevamente, pero en ninguno de los casos rebasó los límites de referencia (Gráfica 9). Mientras que en el grupo III el aumento en la concentración plasmática de ET-1 se presentó a los 120, 180 y 240 minutos postrasplante, solo que en estos animales el incremento sí fue superior a los valores de referencia. En este grupo a las 24 horas la expresión de ET-1 retornó a sus valores basales. Al comparar dentro de cada grupo no se observó ninguna diferencia significativa ($p=NS$ ANDEVA, Tukey), pero al comparar entre grupos el incremento mostrado por el grupo III fue significativo tanto con el grupo II ($p < 0.05$, ANDEVA, Tukey) como con el grupo I ($p < 0.001$, ANDEVA, Tukey). Además la expresión de ET-1 del grupo II también fue significativamente diferente con el grupo I ($p < 0.003$ ANDEVA, Tukey) (Gráfica 9).

VII. DISCUSIÓN

Existen muchas patologías que pueden afectar las funciones del tracto respiratorio inferior e interferir con la ventilación y con el intercambio gaseoso, provocando insuficiencia respiratoria⁷. Algunas de estas enfermedades ceden a los tratamientos médicos, sin embargo las de origen intersticial (fibrosis pulmonar), obstructivo (enfisema), así como las vasculares (hipertensión pulmonar), provocan daño pulmonar progresivo e irreversible; que interfiere de manera significativa con las actividades cotidianas de los pacientes y los convierte en inválidos respiratorios dependientes de O₂^{9,88}.

Los pacientes con enfermedad pulmonar terminal e insuficiencia respiratoria tienen como única alternativa de tratamiento (para incrementar su sobrevida) el trasplante pulmonar, que puede ser, unilateral, bilateral, corazón-pulmón (bloque cardio-pulmonar) y lobar (experimental).

Aunque el trasplante pulmonar es benéfico para los pacientes, en México sólo se beneficia un porcentaje muy pequeño de ellos debido a varios factores, entre los que sobresale el tiempo de preservación del injerto. Los pulmones que se preservan por más de seis horas sufren daño severo en la membrana alveolo-capilar, esto se debe a que no existe una solución de preservación adecuada que mantenga la integridad morfológica y funcional del pulmón, y que disminuya la liberación de mediadores químicos al restablecer la circulación sanguínea en el pulmón trasplantado, estos últimos lesionan la membrana alveolo capilar y ocasionan el conocido daño isquemia-reperfusión (DIR)^{89,90}.

El DIR es un fenómeno que involucra daño endotelial, el insulto que recibe el endotelio es el responsable de la liberación de especies reactivas de oxígeno, prostaglandinas, citocinas, agregación leucocitaria y plaquetaria, activación del sistema complemento y endotelinas, los cuales incrementan la permeabilidad capilar⁹¹ y formación de edema pulmonar. La expresión clínica del DIR puede ir desde una leve afectación pulmonar radiológica, hasta una forma grave con hipoxemia importante, disminución de la distensibilidad pulmonar e hipertensión pulmonar con edema y fracaso primario del injerto⁹².

Las endotelinas son miembros de una familia de péptidos, constituida por tres isoformas (ET-1, ET-2 y ET-3), de las cuales la ET-1 es la forma más abundante y es secretada por el endotelio pulmonar^{93,94} y dado que el endotelio pulmonar es el mayor componente de la unidad alveolo-capilar, la acción de ésta es importante para mantener la integridad y funcionalidad de esta estructura debido a que mantiene el equilibrio entre la vasodilatación y la vasoconstricción, la permeabilidad vascular y proliferación celular proinflamatoria^{93,95}.

Además se ha reportado que la ET-1 en el trasplante pulmonar, interviene como un factor importante en el DIR, así como en el rechazo agudo y crónico del pulmón trasplantado, sin embargo no existen estudios en los que se mencione en qué momento se da la liberación de ésta después de preservar un pulmón por más de 6 horas, por lo que es importante conocer los niveles de plasmáticos de la ET-1^{47,93,94,95,96,97,98}.

Para incrementar la viabilidad de los órganos preservados se han utilizado soluciones intracelulares (con alto K^+ y bajo Na^+) y extracelulares (bajo K^+ y altas concentraciones de Na^+ y Cl^-).

Anteriormente el uso de soluciones de tipo intracelular para la preservación pulmonar era común, sin embargo se observó que este tipo de soluciones provocaban vasoconstricción severa e incrementaban el tono vascular y las resistencias vasculares pulmonares, favoreciendo la acumulación de Na^+ intracelular y por lo tanto edema pulmonar.

Hoy en día para la preservación pulmonar se utilizan soluciones extracelulares y se ha demostrado que evitan la entrada de Na^+ a la célula evitando el edema, además contienen sustancias que actúan como impermeabilizantes por su alto peso molecular con lo que se incrementa la presión oncótica en el espacio intravascular. También contienen antioxidantes que evitan la peroxidación lipídica de las membranas celulares y liberación de diferentes mediadores químicos.

En este trabajo se evaluó el efecto de la preservación pulmonar por 12 horas con dos soluciones extracelulares, sobre la función hemodinámica, gasométrica y liberación de ET-1 pre y postrasplante pulmonar en perros.

En este estudio se observó una sobrevivencia mayor en los animales del grupo I y II; ésto pudo originarse porque en estos animales no se presentó daño de la membrana alveolo capilar y permitió mantener la función pulmonar y cardiaca a diferencia de los animales del grupo III en los que se produjo DIR que generó edema pulmonar y cambios en la hemodinamia y oxigenación de estos animales, lo cual finalmente provocó falla cardiaca derecha y ésto coincide con lo descrito por Franke y cols⁹⁹ que realizaron trasplantes de pulmones preservados por 24 horas en cerdos y observaron que los órganos preservados con solución LPD tienen mejor sobrevida que los preservados con Celsior. Sin embargo los resultados observados en este trabajo no se relacionan con los observados por Sommer y cols quienes también preservaron pulmones por 24 horas con las mismas soluciones LPD y Celsior y reportaron que con cualquiera de las dos soluciones utilizadas para la preservación, el pulmón tenía buen funcionamiento durante las 2 a 4 horas posteriores al trasplante, pero después de este tiempo desarrollaban DIR caracterizado por edema pulmonar.

Gasométricamente el mantenimiento de la SaO_2 , SvO_2 , $PaCO_2$, $PvCO_2$, $DavO_2$ y pH arteriales y venosos dentro de los valores fisiológicos de referencia, se debe a que los animales se mantuvieron con ventilación controlada con una FiO_2 del 100% y tenían el pulmón derecho sano, lo cual quizá compensó el deterioro del pulmón izquierdo.

La disminución de la PaO_2 en todos los grupos de estudio después del pinzamiento del hilio pulmonar (Grupo I) o posneumonectomía (Grupos II y III) en comparación con sus valores basales, fue originada porque al ocluir la luz de los vasos sanguíneos y del bronquio se interrumpió el paso de sangre y aire hacia un pulmón lo cual evitó el correcto intercambio gaseoso. En el grupo I el retorno de la PaO_2 a sus valores normales a los 15 minutos después de despinzar el hilio y el mantenimiento de éstos hasta el final del estudio se debió a que eran pulmones sanos en los que al restablecerse el flujo sanguíneo se permitió su funcionamiento normal¹⁰⁰ a diferencia de lo descrito por P van der Kaaij y cols¹⁰¹ que en un modelo de isquemia caliente en ratas notaron disminución de la PaO_2 en el primer día de haberlos sometidos a ésta. En los animales que fueron trasplantados, es

decir los grupos II y III, la PaO₂ no retornó a sus valores basales a pesar de que se encontraban ventilados con una FiO₂ del 100%, posiblemente porque al restablecerse el aporte sanguíneo en el pulmón trasplantado se presentó daño alveolo capilar y DIR que ocasionaron una disminución en la relación ventilación perfusión e hipoxemia como lo describieron Salvatierra y Okada^{38,102}. Lo observado en este estudio no coincide con lo descrito por Keshavjee y cols⁵⁸ que encontraron una PaO₂ por arriba de los 500 mmHg inmediatamente después del trasplante de pulmones preservados por 12 horas con LPD. Tampoco concuerdan con lo reportado por Franke y cols⁹⁹ que después de trasplantar pulmones preservados con Celsior y LPD por 24 horas en cerdos encontraron que la PaO₂ permanecía mejor después del trasplante en los pulmones preservados con LPD. Por otro lado los hallazgos de este estudio son diferentes a los reportados por Sommer⁶³ quien reportó que los pulmones preservados con Celsior durante las primeras 7 horas postrasplante mantienen mejor PaO₂ que los preservados con LPD. Así mismo lo descrito en este trabajo tampoco coincide con lo observado por Oka y cols¹⁰³ que preservaron pulmones de conejos por 30 horas con diferentes soluciones y después los reperfundieron ex vivo; y encontraron que los preservados con LPD mostraban la PaO₂ dentro de sus límites normales. Por otro lado lo observado en este estudio también es diferente a lo reportado en los estudios realizados por el grupo de trasplante del hospital Marqués de Valdecilla España, cuando compararon el uso de la solución LPD y una solución intracelular y describieron que la solución LPD favorece la oxigenación y disminuye el tiempo de ventilación mecánica y la estancia de los pacientes en las salas de cuidados intensivos¹⁰⁴.

El retorno de la PaO₂ a sus valores basales a las 24 horas observado en el grupo de LPD posiblemente fue originado porque el pulmón derecho compensó la disfunción del pulmón izquierdo.

El incremento en la PIM posneumonectomía en los tres grupos y al concluir la anastomosis vascular, fue probablemente ocasionado porque el bronquio se encontraba pinzado y sólo se estaba ventilando un pulmón. En el grupo I ésta regresó a sus valores normales porque ambos pulmones estaban sanos y al

despinzar el bronquio se permitió el paso de aire a los 2 pulmones. Mientras que en los grupos II y III al concluir el trasplante el incremento en la PIM fue mayor en el grupo III, éste fue originado por que el daño sufrido en la membrana alvéolo-capilar durante la isquemia y la reperfusión ocasionó edema intraalveolar que afectó la distensibilidad pulmonar y éste se correlaciona con lo reportado por Theodore¹⁰⁵ y Hachida¹⁰⁶ quienes observaron que el edema pulmonar que se produjo después de trasplantar pulmones preservados por 12 horas en perros, deterioró la distensibilidad del mismo. No obstante, lo observado en este trabajo es diferente a lo que describió Wittwer y cols⁵⁷, quienes al utilizar la solución Celsior para preservar pulmones de rata por 2 horas observaron que la PIM no se alteraba después de este tiempo.

El incremento en las presiones de la arteria pulmonar (PSAP, PDAP y PMAP) y las resistencias vasculares pulmonares después de la neumonectomía pudo ser provocado por el pinzamiento del hilio pulmonar, ya que solo un pulmón recibe aporte sanguíneo y disminuye de forma severa el flujo en el lecho vascular pulmonar, lo que incrementa significativamente presión y resistencias vasculares pulmonares (RVP)³². Aunque, también pudo deberse a que durante la ventilación, la presión positiva ejercida por el ventilador favorece la compresión de los vasos intraalveolares con lo que se incrementan las RVP y la presión en la arteria pulmonar (mientras que en la respiración espontánea, la presión intratorácica negativa la disminuye y da un valor menor)^{100,107}. Después del trasplante, el incremento de las RVP y presiones de la arteria pulmonar en ambos grupos (mayor en el grupo II) se presentó porque el pulmón recién trasplantados sufren DIR y éste, incrementa la permeabilidad capilar, provocando edema pulmonar de reperfusión no cardiogénico, debido a la alteración en el parénquima pulmonar y se acompaña de un incremento de las resistencias vasculares pulmonares, disminución de la distensibilidad pulmonar, incremento en la permeabilidad capilar y edema alveolo intersticial con alteración en la oxigenación como lo describió Bierman¹⁰⁸. Este incremento también fue probablemente originado por que el daño endotelial que sufre la membrana alveolo capilar, provoca la quimiotaxis, agregación, adhesión y migración de algunas células sanguíneas que

obstruyen de forma mecánica el paso de sangre y disminuyen la vasodilatación dependiente del endotelio^{57,76,79,80}. Estos hallazgos también se relacionan con los que reportaron Triantafillou¹⁰⁹ y Ramos¹¹⁰ que estudiaron la anestesia durante el trasplante pulmonar y observaron que una de las respuestas a la reperfusión del injerto es el aumento generalizado de las presiones pulmonares como consecuencia de la lesión vascular secundaria a la isquemia del injerto y que produce edema intersticial y alveolar. En otro estudio realizado por Sommer y cols donde compararon la preservación pulmonar con soluciones Celsior y LPD, describieron que la solución LPD produce incremento en las presiones pulmonares, y está asociado a edema pulmonar producido por el DIR que se produce al concluir el trasplante. Otro Factor que pudo provocar el incremento de las RVP y presiones de la arteria pulmonar es la hipoxia observada debida al edema pulmonar como lo descrito por Tabhut¹¹¹ que comparó diferentes soluciones extracelulares y demostró que la solución Celsior reduce la presentación de edema por reperfusión del injerto en estudios clínicos en humanos, sin embargo estos resultados no se comparan con los observados en este trabajo, en los cuales el edema observado de forma macroscópica y el incremento en las RVP se presentó con mayor severidad en el grupo tratado con solución Celsior.

La congestión y el edema pulmonar severos observados de forma macro y microscópica en el grupo III, puede explicarse de la siguiente manera; el daño producido en la membrana alveolo capilar durante la isquemia y la reperfusión interfirió en las presiones hidrostáticas y osmóticas junto con la disfunción endotelial causaron el incremento de la permeabilidad capilar como lo describió Rabanal al estudiar dos pacientes que mostraron edema pulmonar postrasplante pulmonar por daño por isquemia reperfusión¹¹² y mencionó que el edema posreperfusión en el trasplante pulmonar tiene un doble origen: la activación leucocitaria, la cascada inflamatoria con incremento de la permeabilidad endotelial y la sobrecarga hidrostática sobre el pulmón injertado. Por otro lado los resultados observados en este trabajo también coinciden con lo descrito por el mismo autor al comparar el uso de solución LPD vs Eurocollins modificado¹⁰⁴, asimismo lo

observado por otros autores que mencionan que la solución LPD disminuye el edema pulmonar posreperusión después de preservar durante diferente tiempo pulmones con LPD^{58,59,103,113}. Sin embargo los resultados de este estudio no concuerdan con lo observado por Sommer⁶³ quién menciona que los pulmones preservados con Celsior desarrollan menor edema pulmonar que los preservados con LPD.

El infiltrado neutrofílico en los grupos trasplantados se originó en todos los animales operados de este estudio, posiblemente ocasionado por la acumulación de células inflamatorias que no es un signo de proceso inflamatorio activo, sino de incremento en la alerta inmunológica por la presencia de materiales extraños siendo un factor perpetuante del daño por isquemia reperusión. Los resultados de este estudio coinciden con lo descrito por Sommer quien después de 7 horas de reperfundir pulmones preservados con Celsior y LPD en cerdos encontró edema alveolar e infiltración neutrofílica⁶³. En otra investigación en ratas en la que se valoró la lesión isquemia reperusión en trasplante pulmonar con tiempo de isquemia prolongado se observó que después de 10 horas de isquemia se presentó hemorragia pulmonar e infiltrado neutrofílico¹¹⁴.

La relación que guarda la ET-1 con el trasplante pulmonar se debe a la extensa área endotelial que el pulmón presenta. En este estudio la liberación de ET-1 después de llevar a cabo la toracotomía pudo ser originada por el trauma originado con la colocación del catéter pulmonar y la ventilación mecánica dando como resultado el incrementando de las presiones de la arteria pulmonar (aunque este incremento no es severo). En el grupo I pudimos observar que los niveles plasmáticos de ET-1 disminuyeron después del pinzamiento del hilio pulmonar, lo cual posiblemente se debió a que el daño generado por éste, no provocó disfunción endotelial severa y permitió que se revirtiera el efecto de la isquemia en las horas siguientes. En los grupos de trasplante los niveles de ET-1 se incrementaron porque la hipoxia y el trauma quirúrgico produjeron daño endotelial del pulmón preservado; como se ha mencionado en otros estudios clínicos y experimentales sobre trasplante pulmonar, que han demostrado que la ET-1

puede acumularse en el tejido pulmonar antes y durante las primeras horas después de la reperfusión^{94,115}.

El efecto vasoconstrictor que tiene la ET-1 provocó el incremento de las presiones de la arteria pulmonar y las RVP, lo cual ocasionó un aumento de la permeabilidad capilar que aunada al daño preexistente (preservación) favoreció la formación de edema pulmonar. Además se puede pensar que en este estudio la ET-1 favoreció la presencia del infiltrado neutrofílico, porque esta puede estimular la producción de citocinas por medio de monocitos o macrófagos y promueve la retención de neutrófilos en el pulmón, ésto en conjunto con la adhesión leucocitaria generó una obstrucción de tipo mecánica al flujo que modificó la estructura de la membrana alveolo capilar e incrementó la permeabilidad vascular, resistencias y presiones pulmonares, así como el edema pulmonar según lo descrito por Abraham y cols¹¹⁶.

VIII. CONCLUSIONES

El perro es un buen modelo para el estudio del trasplante pulmonar, debido a que permite realizar la evaluación de diferentes parámetros fisiológicos y quirúrgicos como se realizan en humanos.

La preservación con solución Celsior presenta una tasa de supervivencia significativamente menor que el grupo testigo y el grupo LPD.

La preservación por 12 horas con solución de LPD o Celsior no evita las alteraciones en la PaO₂ después del trasplante pulmonar en perros aunque se encuentren ventilados con una FiO₂ del 100%.

Tanto la solución LPD como la Celsior no evitan los cambios en la PIM de los pulmones trasplantados que fueron preservados por 12 horas.

El incremento en las presiones de la arteria pulmonar y RVP no se evita después de la preservación del injerto pulmonar con soluciones de LPD o Celsior.

Macroscopicamente la preservación con solución Celsior produce mayor edema pulmonar, pero no de manera microscópica.

La hemorragia alveolar y el infiltrado neutrofílico que se producen durante el síndrome por isquemia reperusión son similares después de 12 horas de preservación pulmonar con solución de LPD o Celsior.

ANEXO I Cuadros

Componente LPD		Celsior	Función
K ⁺ (mmol/l)	6	15	Electrolito
Na ⁺ (mmol/l)	138	100	Electrolito
Mg ²⁺ (mmol/l)	-	13	Electrolito
Cl ⁻ (mmol/l)	142	0.26	Electrolito
Ca ²⁺ (mmol/l)	-	41.5	Precursor energético
HPO ₄ ²⁻ (mmol/l)	0.8	-	Restauración de los niveles de energía
SO ₄ ²⁻ (mmol/l)	0.8	-	
Histidina (mmol/l)	-	30	Antioxidante
Manitol (mmol/l)	-	60	Impermeabilizante
Glucosa (g/l)	0.9	-	Impermeabilizante
Glutamato (mmol/l)	-	20	Substrato energético
Lactobionato (mmol/l)	-	80	Impermeabilizante
Glutati3n (mmol/l)	-	3	Antioxidante
Dextrano (g/l)	5	-	Impermeabilizante

Cuadro No. 1 Composición de las soluciones de preservación (LPD y Celsior) preparadas en el laboratorio del Departamento de Cirugía Experimental del INER "ICV".

RESULTADOS MICROSCÓPICOS

Hemorragia

Grado	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Ausente (0-10%)	3	0	0
Ligero (11-25%)	0	1	1
Moderado (26-50%)	2	4	3
Severo (51-100%)	1	1	2

Cuadro 2. Muestra el porcentaje de hemorragia que se observó en los tres grupos

Edema

Grado	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Ausente (0-10%)	3	0	0
Ligero (11-25%)	0	2	1
Moderado (26-50%)	2	3	3
Severo (51-100%)	1	1	2

Cuadro 3. Muestra el porcentaje de edema que se observó en los tres grupos

Infiltrado neutrofílico

Grado	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Ausente (0-10%)	4	4	0
Ligero (11-25%)	1	0	2
Moderado (26-50%)	0	1	4
Severo (51-100%)	0	1	0

Cuadro 4. Muestra el porcentaje de infiltrado neutrofílico que se observó en los tres grupos

ANEXO II Figuras

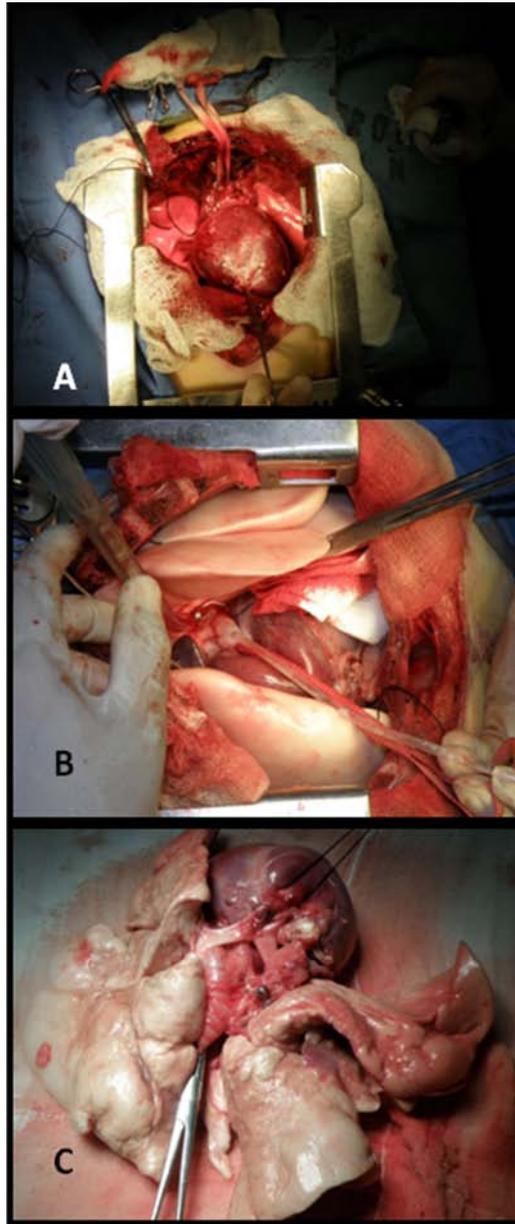


Figura 1. **A)** Fotografía donde se observa la esternotomía media y se puede apreciar el bloque cardiopulmonar en un animal del grupo donador **B)** Fotografía donde se aprecia la perfusión de la arteria pulmonar y el lavado pulmonar en un animal del grupo donador **C)** Fotografía donde se observa el bloque cardiopulmonar después de su extracción y antes de la disección del pulmón izquierdo en un animal del grupo donador.

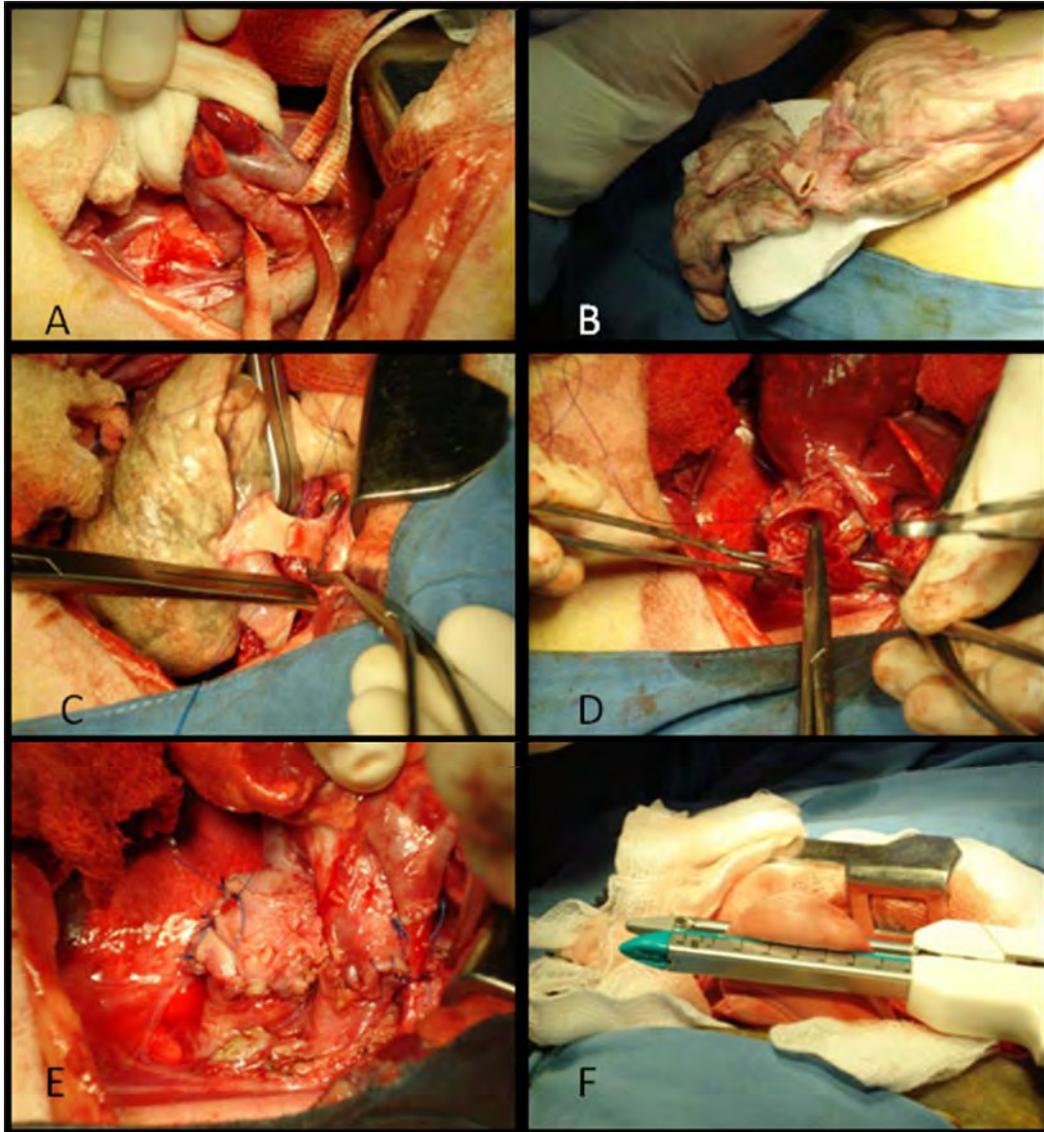


Figura 2. **A)** Fotografía donde se observa la disección de la arteria pulmonar, bronquio principal izquierdo y venas pulmonares en un animal del grupo de trasplante **B)**Fotografía donde se observa al injerto pulmonar antes de ser trasplantado **C)** Fotografía donde se aprecia el inicio de la anastomosis de la arteria pulmonar en un animal del grupo de trasplante **D)** Fotografía donde se puede observar la reperusión del injerto y el inicio de la anastomosis bronquial **E)** Fotografía donde se aprecia el fin de las anastomosis vascular y bronquial en un animal del grupo de trasplante (fin del trasplante) **F)** Fotografía donde se observa la toma de biopsia pulmonar en un animal del grupo II (nótese la coloración normal del lóbulo pulmonar)

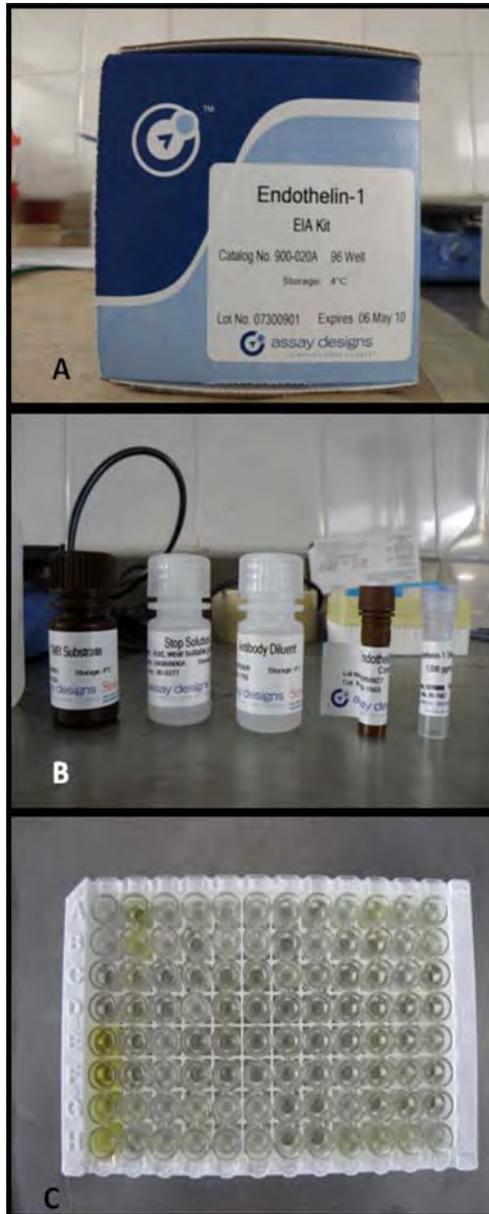


Figura 3. **A)** Fotografía donde se muestra el Kit comercial que se utilizó para la evaluación plasmática de ET-1 **B)** Fotografía donde se muestran los reactivos para la determinación de ET-1 plasmática **C)** Fotografía donde se puede observar la placa de ELISA después de la lectura de la DO de ET-1.

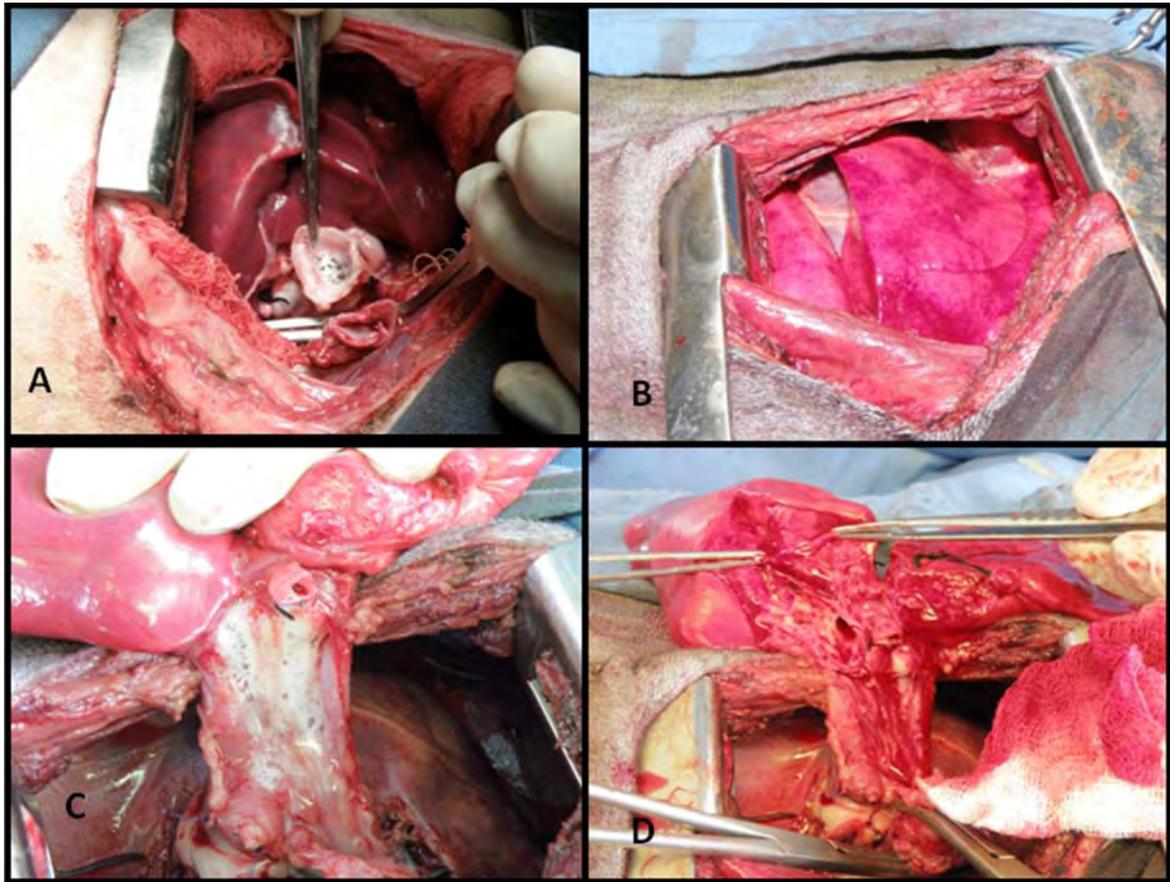


Figura 4. **A)** Fotografía en donde se observa edema traqueal en un animal del grupo III **B)** Fotografía en donde a la exploración de la cavidad torácica se aprecian los pulmones congestionados en un animal del grupo III **C y D)** Fotografía en donde se aprecia edema y hemorragia pulmonar en un animal del grupo III.

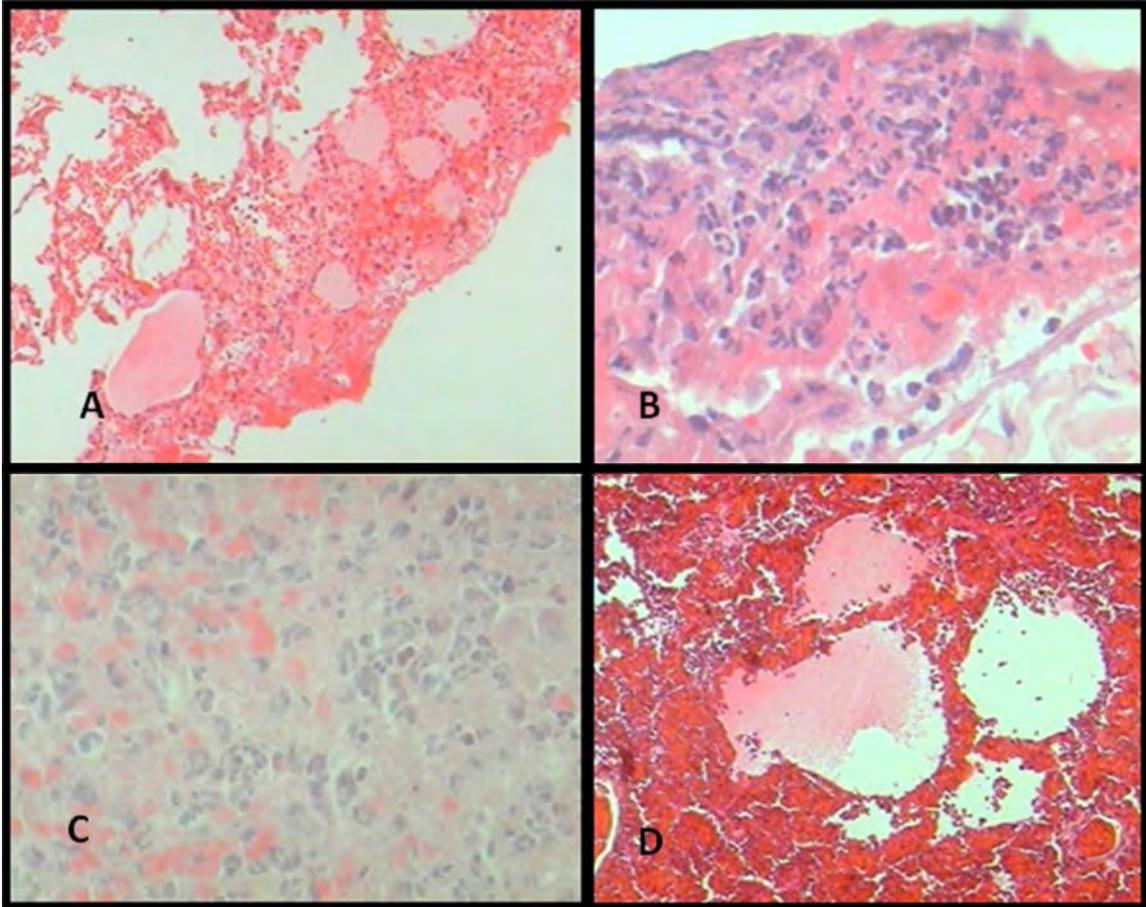
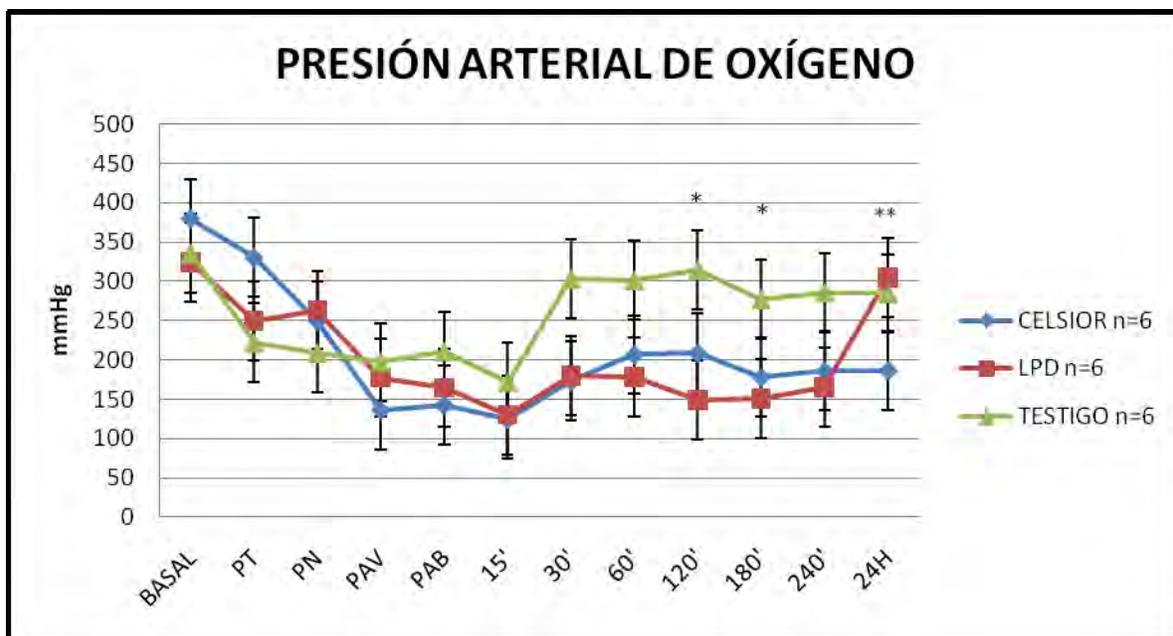


Figura 5. **A)** Microfotografía del lóbulo pulmonar caudal izquierdo de un animal del grupo I en donde se aprecia edema pulmonar (10x) **B)** Microfotografía del lóbulo pulmonar caudal izquierdo de un animal del grupo I en donde se observa infiltrado neutrofílico (40x) **C)** Microfotografía del lóbulo caudal pulmonar izquierdo de un animal del grupo II en donde se observa infiltrado neutrofílico (10x) **D)** Microfotografía del lóbulo pulmonar caudal de un animal del grupo III en donde se observa hemorragia y edema pulmonar (10x).

ANEXO III Gráficas

RESULTADOS GASOMÉTRICOS

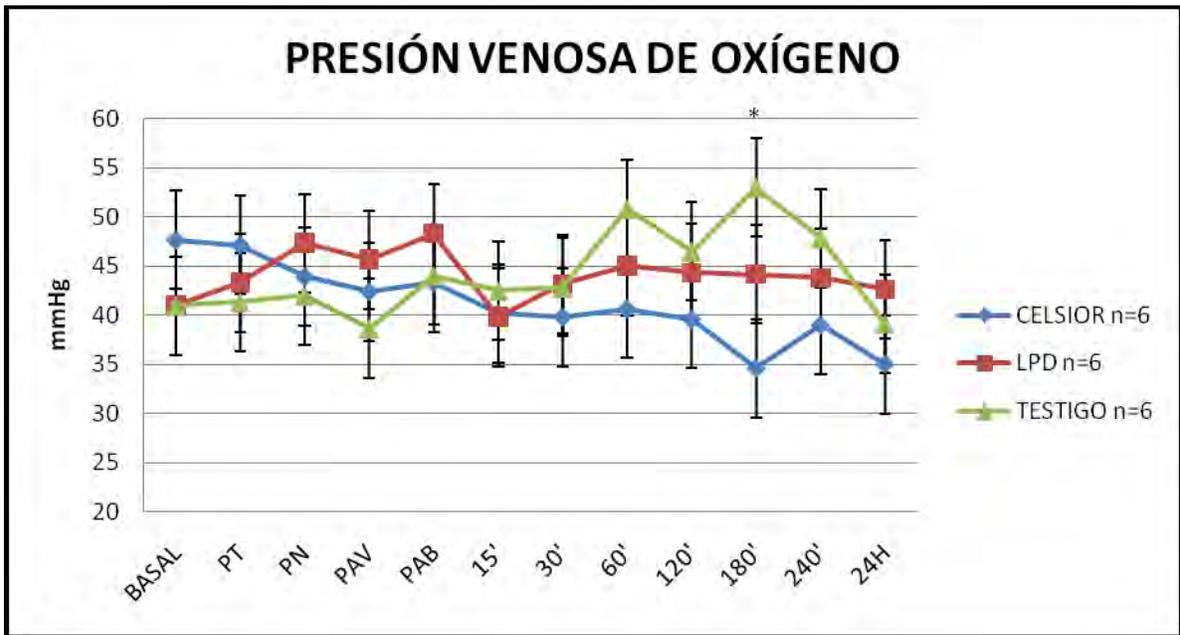


Gráfica 1. Se muestra el comportamiento de la Presión Parcial Arterial de Oxígeno en los tres grupos, antes y después del trasplante.

Datos presentados en media \pm DE él asterisco indica diferencia estadística significativa

* $p < 0.05$ (ANDEVA, Tukey)

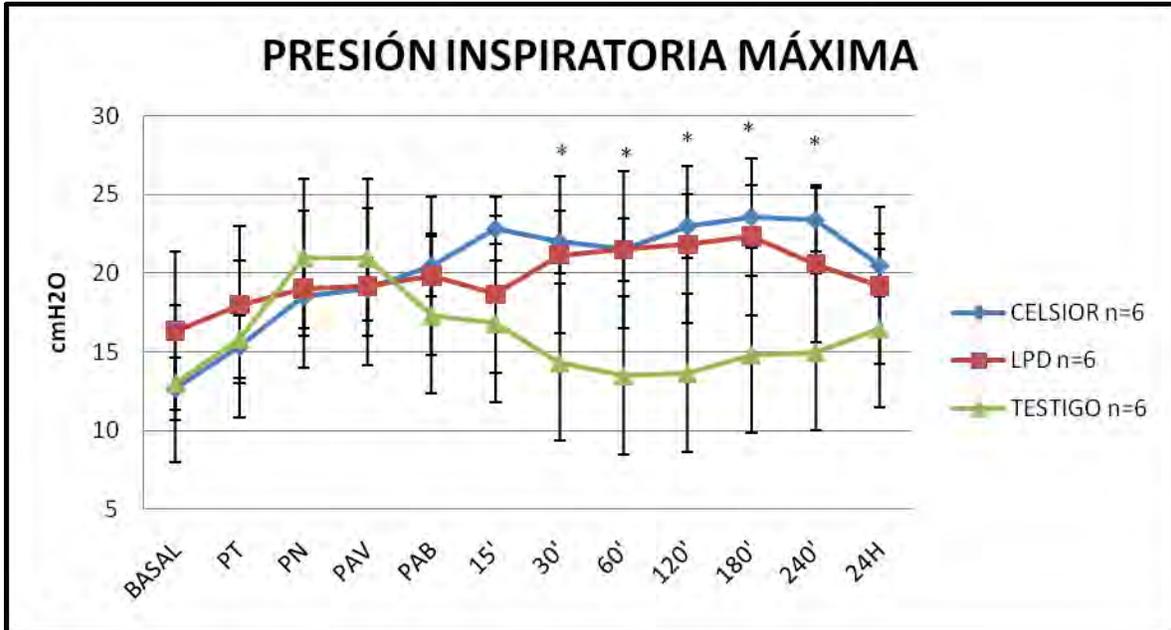
** $p < 0.01$ (ANDEVA, Tukey)



Gráfica 2. Se muestra el comportamiento de Presión Parcial Venosa de Oxígeno en los tres grupos, antes y después del trasplante.

Datos presentados en media \pm DE él asterisco indica diferencia estadística significativa

* $p < 0.05$, ANDEVA, $p < 0.01$ Tukey



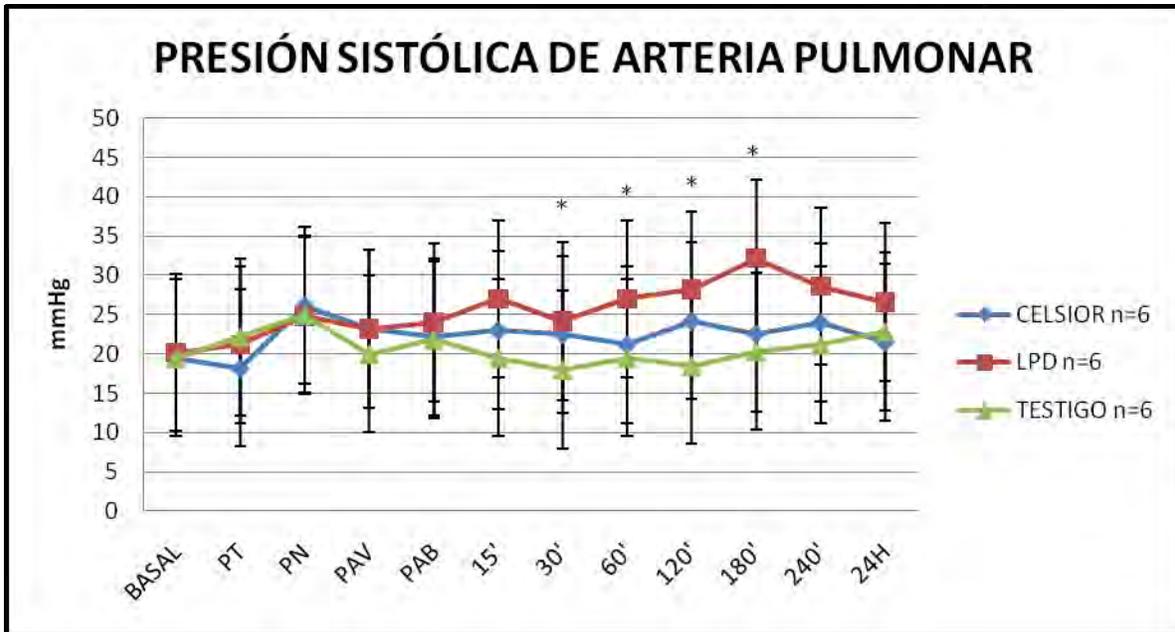
Gráfica 3. Se muestra el comportamiento de la Presión Inspiratoria Máxima en los tres grupos, antes y después del trasplante.

Datos presentados en media \pm DE el asterisco indica diferencia estadística significativa

* $p < 0.05$ ANDEVA, $p < 0.01$ Tukey

Gráficas

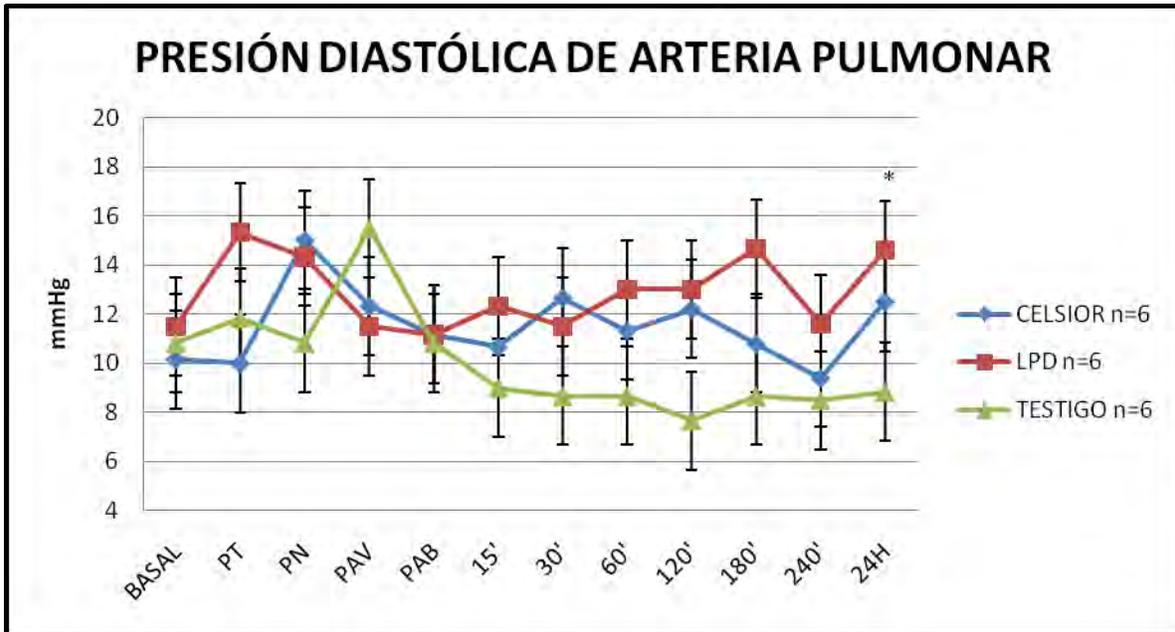
RESULTADOS HEMODINÁMICOS



Gráfica 4. Se muestra el comportamiento de la Presión Sistólica de la Arteria Pulmonar en los tres grupos, antes y después del trasplante.

Datos presentados en media \pm DE él asterisco indica diferencia estadística significativa.

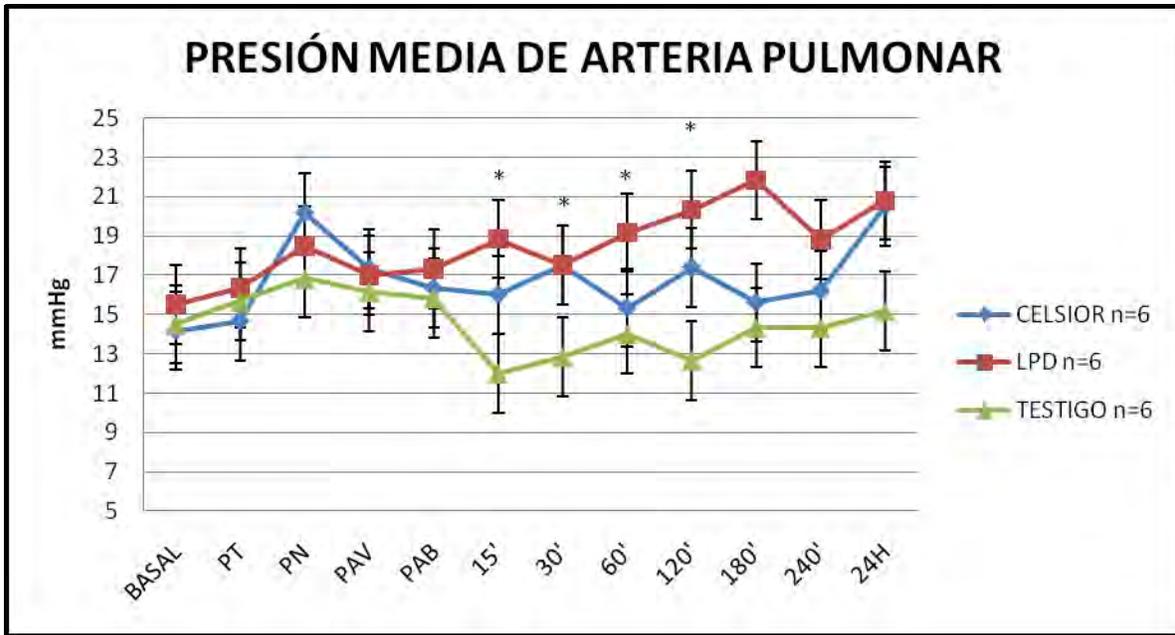
* $p < 0.05$ ANDEVA, Tukey.



Gráfica 5. Se muestra el comportamiento de la Presión Diastólica de la Arteria Pulmonar en los tres grupos, antes y después del trasplante.

Datos presentados en media \pm DE el asterisco indica diferencia estadística significativa.

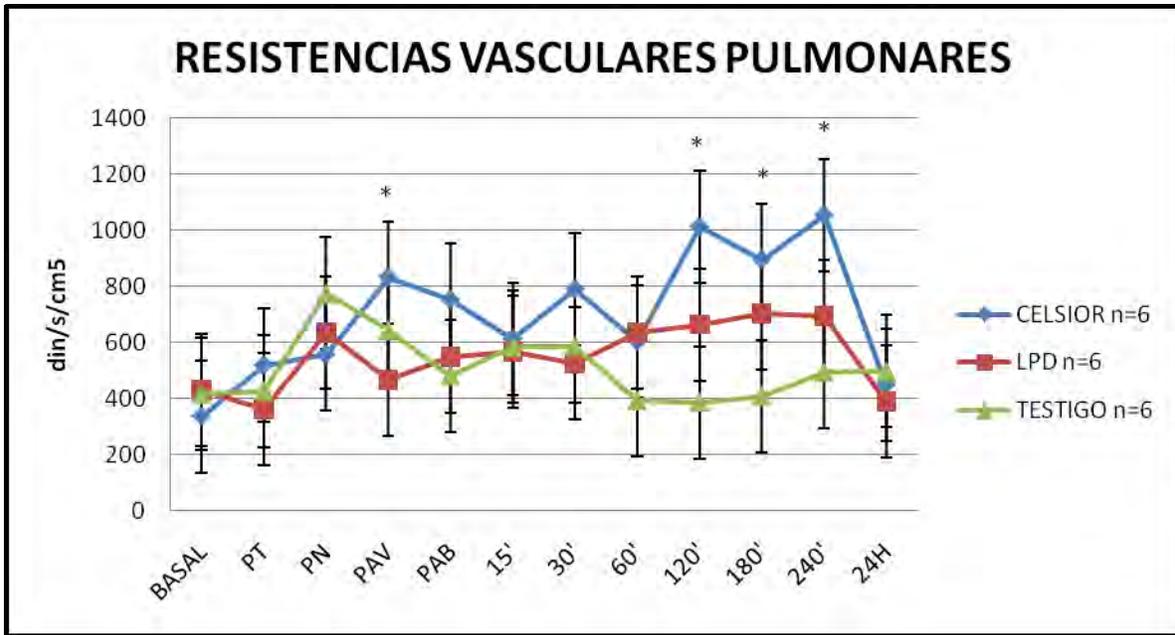
* $p < 0.01$ ANDEVA, Tukey.



Gráfica 6. Se muestra el comportamiento de la Presión Media de la Arteria Pulmonar en los tres grupos, antes y después del trasplante.

Datos presentados en media \pm DE él asterisco indica diferencia estadística significativa.

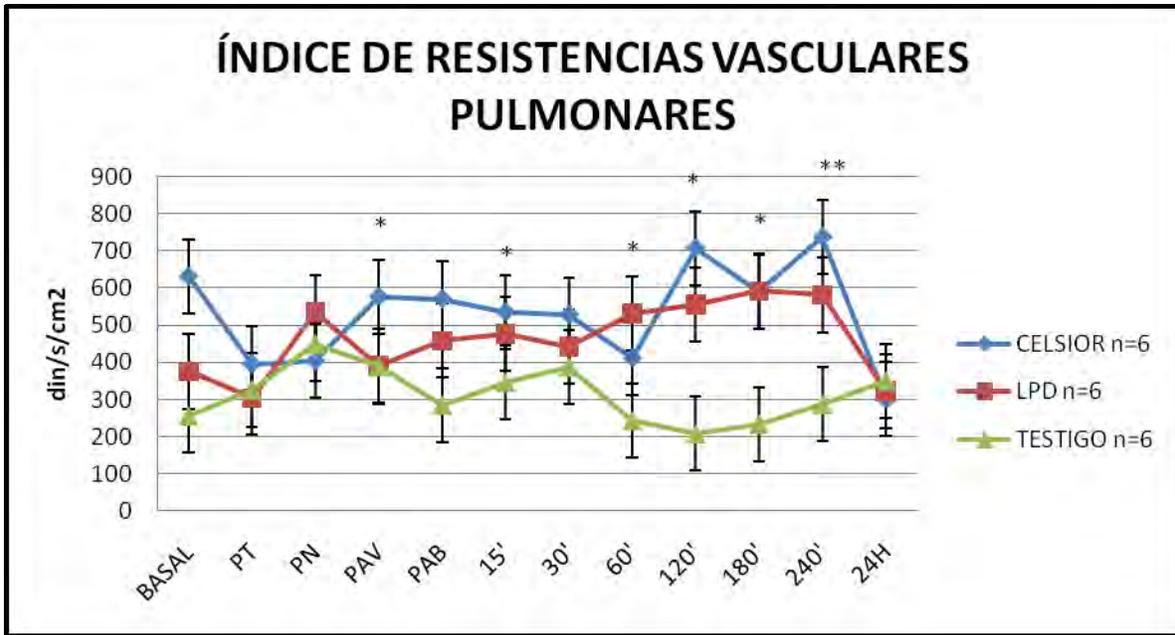
* $p < 0.05$ ANDEVA, $p < 0.01$ Tukey.



Gráfica 7. Se muestra el comportamiento de las Resistencias Vasculares Pulmonares en los tres grupos, antes y después del trasplante.

Datos presentados en media \pm DE él asterisco indica diferencia estadística significativa.

* $p < 0.05$ ANDEVA, $p < 0.01$ Tukey.

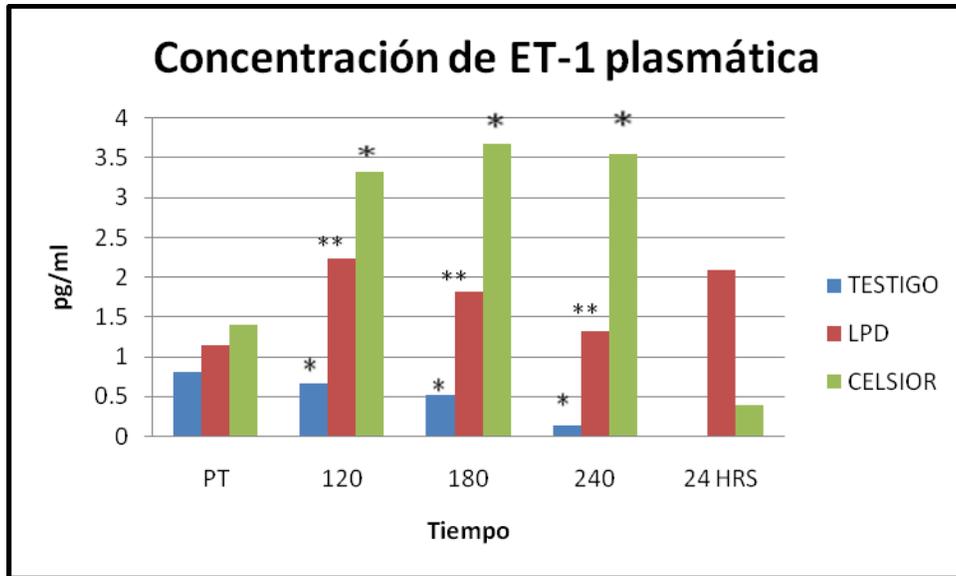


Gráfica 8. Se muestra el comportamiento del Índice de Resistencias Vasculares Sistémicas en los tres grupos, antes y después del trasplante.

Datos presentados en media \pm DE él asterisco indica diferencia estadística significativa.

* $p < 0.01$ ANDEVA, $p < 0.05$ Tukey.

RESULTADOS PLASMÁTICOS DE ET-1



Gráfica 9. Se muestran las concentraciones plasmáticas de ET-1 en los tres grupos pre y postrasplante. En el grupo III el incremento fue significativo a los 120', 180' y 240' con respecto al grupo I y al grupo II.

* $p < 0.05$, ANDEVA, Tukey

** $p < 0.001$, ANDEVA, Tukey

ANEXO IV

GLOSARIO DE TÉRMINOS

- **Frecuencia Cardíaca (FC):** Bombeo sanguíneo del corazón por minuto. Evalúa el estado hemodinámico del corazón, es un componente del gasto cardíaco, juega un papel importante en el llenado y volumen sanguíneo diastólico.
- **Presión Arterial (PA):** Fuerza ejercida por la sangre contra una unidad de superficie de la pared del vaso. Es el producto del gasto cardíaco multiplicado por la resistencia periférica.
- **Presión Arterial Sistólica y Diastólica (PAS y PAD):** A la presión máxima que alcanza la sangre en las arterias se llama presión sistólica y a la mínima presión que ocurre al final de la diástole inmediatamente antes de la apertura de la válvula aórtica se le llama diastólica.
- **Presión Arterial Media (PAM):** Es la media de las presiones arteriales medidas milisegundo a milisegundo en un periodo de tiempo y no es igual a la media de las presiones sistólica y diastólica, porque la presión arterial sigue estando más cercana a la presión diastólica que a la presión sistólica durante la mayor parte del ciclo cardíaco. Por lo tanto está determinada en un 60% por la presión diastólica y en un 40% por la presión sistólica.
- **Presión Sistólica de Arteria Pulmonar (PSAP):** Fuerza que ejerce la sangre sobre la arteria pulmonar durante la sístole.
- **Presión Diastólica de Arteria Pulmonar (PDAP):** Fuerza ejercida por la sangre a su paso por la arteria pulmonar durante la diástole.

- **Presión Media de Arteria Pulmonar (PMAP):** La media de las presiones sistólica y diastólica pulmonar.
- **Presión de Oclusión (PO o C uña):** Refleja la presión de llenado del atrio izquierdo.
- **Presión Venosa Central (PVC):** Es igual a la presión del atrio derecho porque ahí fluye la sangre de todas las venas sistémicas. Regulada por:
 - La capacidad del corazón de bombear la sangre hacia el exterior de la aurícula y el ventrículo derechos hacia los pulmones.
 - La tendencia de la sangre a fluir desde las venas periféricas hacia la aurícula derecha.
- **Gasto Cardíaco (GC):** Cantidad de sangre eyectada por el ventrículo por minuto (l/min).
- **Índice Cardíaco (IC):** Ofrece información más precisa de la función ventricular al agregar el tamaño corporal, para obtener un valor de índice hemodinámico se utiliza la medida y el peso del paciente.
- **Resistencia Vascul ar Pulmonar (RVP):** Evalúa la poscarga del ventrículo derecho, clínicamente se mide la resistencia vascular calculada $PMAP - P.C/GC \times 80$.
- **Índice de Resistencia V ascul ar Pulmonar (iRVP):** Es la resistencia vascular pulmonar expresada en unidad de superficie corporal.
- **Resistencia Vascul ar Sistémica (RVS):** Mide la poscarga o resistencia del ventrículo izquierdo, midiendo el gradiente entre el comienzo y el fin del circuito (presión arterial media y la presión arterial).

- **Índice de Resistencia Vascular Sistémica (iRVS):** Es la resistencia vascular sistémica expresada en unidad de superficie corporal.
- **Diferencia Arterio-Venosa de oxígeno (D_{avO₂}):** Diferencia entre los contenidos arterial y venoso de oxígeno.
- **Corto circuito (Q_s -Qt):** Parte del gasto cardiaco que no contribuye al intercambio gaseoso sanguíneo pulmonar y se regresa sin oxigenar hacia la sangre arterial en el hombre en reposo y consta de 2 componentes principales:
 - 1) corto circuito anatómico: porción del gasto cardiaco que se encuentra en los capilares pulmonares, representa menos del 2% del GC y en su mayor parte es debido al drenaje venoso bronquial hacia el interior de las venas pulmonares.
 - 2) Corto circuito capilar: porción del GC que perfunde alveolos no ventilados, lo cual se debe a la desigual relación ventilación perfusión, atelectasia, o al gradiente de difusión

Se define como corto circuito la transferencia de sangre desde la circulación derecha a la circulación izquierda sin pasar por las unidades de intercambio gaseoso. Este fenómeno ocurre cuando los alvéolos no son ventilados porque existe una obstrucción distal a ellos, se encuentran llenos de líquido u obliterados o porque existe una comunicación vascular directa entre el sistema venoso y arterial.

- **Presión Parcial de Oxígeno (P_{aO₂}):** Cantidad de CO₂ disuelto en el plasma que ejerce una presión parcial en las arterias.

- **Potencial de Hidrogeno arterial, venoso (pH):** Logaritmo negativo de la concentración de hidrogeniones plasmáticos en sangre arterial y en sangre venosa.
- **Presión Venosa de Oxígeno (PvO₂):** Cantidad de O₂ disuelto en el plasma que ejerce una presión parcial en las venas.
- **Presión Venosa de CO₂ (PvCO₂):** Cantidad de CO₂ disuelto en el plasma que ejerce una presión parcial en las venas.
- **Saturación Arterial de Oxígeno (SaO₂%):** Porcentaje de oxígeno saturado en sangre arterial.
- **Saturación Venosa de Oxígeno (SO₂%):** Porcentaje de oxígeno saturado en sangre venosa.
- **Presión Inspiratoria Máxima (PIM):** Capacidad que tienen los pulmones de distenderse, es subjetivo porque depende de la distensibilidad del parénquima alveolar más el volumen de aire.
- **Fracción Inspirada de Oxígeno (FiO₂):** Cada molécula se encuentra en cierto porcentaje con relación a las otras en la mezcla de gases. Así el aire contiene 20.93% de oxígeno, 0.93% de argón, 0.03% de dióxido de carbono y 78.11% de nitrógeno. Este porcentaje se denomina la fracción del gas en la mezcla.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dellmann H.D. Histología veterinaria. Sistema respiratorio. ed. Acribia S.A. Zaragoza España 1993: 159-176.) (Netter F.H. Colección Ciba de Ilustraciones Sobre Anatomía y Embriología, Fisiología, Anatomía Patológica, Síntomas Clínicos y Tratamiento de Enfermedades Tomo VII Sistema Respiratorio. Barcelona España: Salvat Editores, S.A.1984.
2. Tórtora, Reynolds; Principios de Anatomía y Fisiología 7ª Ed Madrid: Harcourt Brace. 1999.
3. Cano, Baltazares; Enfermedades del Aparato Respiratorio 1ª Ed México: Mendez Editores. 2008.
4. Sisson, Grossman; Anatomía de los Animales Domésticos Tomo II Barcelona: Ed Masson. 1982.
5. Casan, García; Fisiología y Biología Respiratorias Madrid: SEPAR Ed Impresa. 2007.
6. Trevor B. Poole. The fawn handbook on the care and management of laboratory animals. The Beagle. Six edition. England 1987; Chapter 2, 3, 4,5.
7. Tierney L.M. Jr., McPhee S.J., and Papadakis M.A.: Diagnóstico clínico y tratamiento. 32 Ed. México, D.F.: Manual Moderno 1997: 221-240.
8. Thibodeau G.A., Patton K.T.: Anatomía y Fisiología. 2da edición. España, Mosby/Doyma Libros, División Iberoamericana. 1995; 579-621.
9. American Thoracic society. Chronic bronchitis, asthma and pulmonary emphysema. A statement by committee on diagnostic standards for non-tuberculous respiratory diseases. Am Rev Respir Dis. 1962; 85:762.
10. Ferguson G.T., Cherniack R.M.: Management of chronic obstructive pulmonary disease. N England J. Med. 1993; 328:1017-1040.
11. Snider G.L.: Emphysema the first two centuries and beyond. A historical overview, with suggestions for future research. Am Rev Respir Dis. 1992; 146: 1334-1355.

12. Runo JR, Loyd JE. Primary pulmonary hypertension. *Lancet* 2003; 631: 1533-1544.
13. Selman M, Navarro MC, Mejia M, Gaxiola M. Neumopatías intersticiales difusas. En Cano, Ibarra, Morales. *Enfermedades Respiratorias*. Ed. Elsevier España 2006; 195-206.
14. Hanson D, Winterbauer RH, Kirtland SH, et al. Changes in pulmonary function test results after one year of therapy as predictors of survival in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest* 1995; 108: 305-310
15. Manino DM, CODP. Epidemiology, prevalence, morbidity and mortality, and disease heterogeneity. *Chest* 2002; 121: 121s-126s
16. Cooper, J., Trulock, E.P., Triantafillou, A.N., Patterson, A., Pohl, M.S., Deloney, P.A., Sundaresan, R.S. and Roper, C.L.: Bilateral pneumonectomy (volume reduction) for chronic obstructive pulmonary disease. *Journal Thoracic and Cardiovasc Surg.* 1995; 109 (1):106-19.
17. Graves I.A., and Colebath H.J.J. Elastic Behavior and Structure of Normal and Emphysematous Lungs Postmortem. *Am Rev Respir Dis.* 1980; 121: 127-136.
18. Saeta M., Shiner R.J., Angus E., Dong Kim W., Wang N., King M., Ghezzi H and Cosio M.G. Destructive Index: A Measurement of Lung Parenchymal. Destruction in Smokers. *Am Rev Respir Dis.* 1985; 131:764-769.
19. Saito K., Cagle P., Berend N and Thurlbeck M. The destructive Index in non emphysematous and emphysematous lungs. *Morphologic Observations and Correlation with Function.* *Am Rev Respir Dis.* 1989; 139: 308-312.
20. D'Armiento J., Dalal S.S., Okada Y., Berg R.A. and Chada K. Collagenase expression in the lungs of transgenic mice causes pulmonary emphysema. *Cell.* 1992; 71: 955-961.

21. Hoidal J.R., Niewoehner D.E., Rao N.V. and Hibbs M.S. The role of neutrophils in the development of cadmium-chloride induced emphysema in iathrogen-fed hamsters. *Am J Pathol*; 1985 120: 22-29.
22. Riley D.J., Kramer M.J., Kerr J.S., Chae C.U., Yu S.Y. and Berg R.A. Damage and repair of lung connective tissue in rats exposed to toxic levels of oxygen. *Am Rev Respi Dis*. 1987; 135: 441-447.
23. Snider G.L., Lucey E.C., Faris B., Jung Legg Y., Stone P.J. and Franzblau C. Cadmium- chloride induced air space enlargement with interstitial pulmonary fibrosis is not associated with destruction of lung elastin. Implications for the pathogenesis of human emphysema. *Am Rev Respir Dis*. 1988; 137: 918-923.
24. Van Kuppevelt T.H., Cremers P.M., Domen J.G., Van Beuningen H.M., Van den Brule J.C. and Kuyper M.A. Ultra structural localization and characterization of proteoglycans in human lung alveoli. *Eur J Cell Biol*. 1985; 36: 74-80.
25. Van Kuppevelt T.H., Van de Lest C.H., Versteeg E.M., Dekhuijzen R. And Veerkamp J.H. Induction of emphysematous lesions in rat by β - D-xyloside, an inhibitor of proteoglycan Synthesis. *Am J. Respir Cell Mol Biol*. 1996; 16:75-84.
26. Morales J, Alonso D. Hipertensión pulmonar asociada a enfermedades respiratorias. En Cano, Ibarra, Morales. *Enfermedades Respiratorias*. Ed. Elsevier España 2006; 283-293.
27. Barker, S.J., Clarke, C., Trivedi, N., Hyatt, J., Fynes, M. and Roessler, P. Anesthesia for thoracoscopic laser ablation of billous emphysema. 1993; 78:44-50.
28. Brenner, M., Kayaleh, R.A., Milne, E.N., et al. Thoracoscopic laser ablation to pulmonary bullae: radiographic selection and treatment response. *J. Thorac Cardiovasc. Surgery*. 1994; 107:883-90.

29. Krucylak, P.E. Naunheim, K.S., Keller, C.A. and Baundendistal, L.J. Anesthetic management of patients undergoing lung reduction for treatment of end-stage emphysema. *Anesthesia and Analgesia*. 1995; 80: 35-41.
30. Loddenkemper R., Boutin C. Thoracoscopy: Present diagnostic and therapeutic indications. *European Respiratory Journal*. 1993, 6: 1544-1555.
31. Wakabayashi, A., Brenner, M., Kayaleh, R.A., et al.: Thoracoscopic carbon dioxide laser treatment of bullous emphysema. *Lancet*. 1991; 337:881-3.
32. Montero R, Vicente R; Tratado de trasplantes de Órganos Tomo II Madrid: ARAN Publicaciones Médicas. 2006.
33. García, Salermo, Panos, et al. Estado Actual del Trasplante Pulmonar. *Gac Méd Méx* 2007; 143: (4) 323-332.
34. Hardy J, Eraslan S, et al; Transplantation of the Lung. *Annals of Surgery*. 1964; 160: (3) 440-448.
35. Santillán P, Jasso R, Olmos R, et al. Trasplante de Pulmón. *Rev de Inv Clín*. 2005; 57: (2) 350-357.
36. www.cenatra.salud.gob.mx/interior/donacion_presentacion.html
37. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Twenty-Fifth Annual Report. *J Heart Lung Transplant* 2008; 27: 937-983.
38. Salvatierra A. Trasplante Pulmonar en España. *Arch Bronconeumol* 2004; 40 (supl 6): 41-8.
39. Cano F, Ibarra C, Morales J. Enfermedades Respiratorias temas selectos. Ed Elsevier Madrid. 2006.
40. Bittner HB, Kendall SW, Chen EP, et al. The effects of brain death on cardiopulmonary hemodynamics and pulmonary blood flow characteristics. *Chest* 1995; 108: 1358-1363.
41. Sundaresan S, Trachiotis GD, Aoe M, et al. Donor lung procurement: assessment and operative technique. *Ann Thorac Surg* 1993; 56: 1409-1413.

42. Ware LB, Wang Y, Fang X, et al. Assessment of lungs rejected for transplantation and implications for donor selection. *Lancet* 2002; 360: 619-620.
43. Trulock EP, Edwards LB, Taylor DO, et al. Registry of the International Lung Transplant report 2005; 24: 956-967.
44. Padilla J, Calvo V, Pastor J, et al. Trasplante unipulmonar y fracaso primario del injerto. *Arch Bronconeumol* 2002; 38 (1): 16-20.
45. Cooper JD, Vreim C. Biology of Lung preservation for transplantation. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 803-807.
46. McCord JM. Oxygen derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312: 159-163.
47. Perrot M de, Liu M, Waddell T, Keshavjee. Ischemia Reperfusion induced Lung Injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 490-511.
48. Fisher AB, Dodia C, Tan ZT, et al. Oxygen dependent lipid peroxidation during lung ischemia. *J Clin Invest* 1991; 188: 674-679.
49. Zhao G, Ayene IS, Fisher AB. Role of iron in ischemia reperfusion oxidative injury of rat lungs. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 16: 293-299.
50. Huang YT, Ghio AJ, Nozik E. Vascular release of nonheme iron in perfused rabbit lungs. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 280: L474-L481.
51. Bysani GK, Kennedy TP, K y N, et al. Role of cytochrome P-450 in reperfusion injury of the rabbit lung. *J Clin Invest* 1990; 86: 1434-1441.
52. Tanikawa K. Reperfusion injury in liver transplantation. *Curr Opin Anesthesiol* 2000; 13: 349-354.
53. Kelly RF. Current strategies in lung preservation. *J Lab Clin Med* 2000; 136: 427-440.
54. Fisher JH, Czerniak A, Hauer U, et al. A simple method for optimal storage of ischemical kidneys. *Transplantation* 1974; 25: 43-49.

55. Bodenhamer RM, DeBoer LW, Geffin G. Enhanced myocardial protection during ischemic arrest. Oxygenation of a crystalloid cardioplegic solution. *Thorac Cardiovasc Surg* 1983; 85: 769-780.
56. Padilla AM, Padilla JD. Estado actual de la preservación pulmonar. *Arch Bronconeumol* 2004; 40(2): 86-93.
57. Wittwer T, Wahlers T, Cornelius F, et al. Celsior solution for improvement of currently used clinical standards of lung preservation in an ex vivo rat model. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* 1999; 15: 667-671.
58. Keshavjee SH, Yamazaki F, Cardoso FP, et al. A method for safe twelve-hour pulmonary preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989; 98: 529-534.
59. Kimblad PA, Sjöberg T, Massa G, et al. High potassium contents in organ preservation solutions causes strong pulmonary vasoconstriction. *Ann Thoracic Surg* 1991; 52: 523-528.
60. King R, Binns O, Kanithanon Ch, et al. A cellular low potassium dextran preserves pulmonary function after 48 hours of ischemia. *Ann Thorac Surg* 1997; 64: 795-800.
61. Sawatari K, Fujiwara T, Kurtts TA, et al. Effect of reperfusion temperatura and presure on the functional and metabolic recovery of preserved hearts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983; 86: 242.
62. Ackerman J, Wolfgang G, Mory M, et al. Celsior versus custodiol: early postischemic recovery after cardioplejia and ischemia at 5° C. *Ann Thorac Surg* 2002; 74: 522-529.
63. Sommer SP, Warnecke G, Hohlfeld JM, et al. Pulmonary preservation with LPD and Celsior solution in porcine lung transplantation after 24 h of cold ischemia. *European Journal of Cardio Thoracic Surgery* 2004; 26: 151-157.
64. Baron O, Fabre S, Treilaud M, et al. Retrospective clinical comparation of Celsior solution to modified blood Wallwork solution in lung transplantation for cystic fibrosis. *Progr Transplant* 2002; 12: 176-180.

65. Fiser SM, Tribble CG, Long SM, et al. Ischemia reperfusion injury after lung transplantation increases risk of late bronchiolitis obliterans syndrome. *Ann Thorac Surg* 2002; 73: 1041-1047.
66. Kao SJ, Wang D, Yu-Wung D, et al. Static inflation attenuates ischemia reperfusion injury an isolated rat lung in situ. *Chest* 2004; 126: 552-558.
67. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411-415.
68. Glasberg M, Ergul A, Wanner A, Puett D. Endothelin 1 promotes mitogenesis in airway smooth muscle cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993; 10: 316-321.
69. Kurihara Y, Kurihara H, Suzuki H, et al. Elevated blood pressure and craniofacial abnormalities in mice deficient in endothelin 1. *Nature* 1994; 368: 703-710.
70. Nakano H, Takizawa T, Ohtoshi S, et al. Endotoxin and pro inflammatory cytokines stimulate endothelin 1 expression and release by airway epithelial cells, *Clin Exp. Allergy* 1994; 24: 330-336.
71. Krymskaya V, Panettieri R. Endothelins in pulmonary development. *Basic Appl Myol* 1998; 8 (6): 429-440.
72. Benigni A, Remuzzi G. Endothelin antagonist. *Lancet* 1999; 353: 133-138.
73. Boscoe MJ, Goodwin AT, Amrani M, et al. Endothelins and the lung. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 2000; 32: 41-62.
74. Barst RJ, Langleben D, Frost A, et al. Sitaxsentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169: 441-447.
75. Inoue A, Yanagisawa M, Takuwa Y, et al. The human preproendothelin 1 gene: complete nucleotide sequence and regulation of expression, *J Biol Chem* 1989; 264: 14954-14959.
76. Domínguez LC, Gómez G. Síndrome de reperfusión en el paciente quirúrgico: fisiopatología, manifestaciones clínicas y nuevas alternativas de manejo. *Universitas Médica* 2005; 26 (3): 94-102

77. Chan R, Ibrahim N. Ischemia reperfusion is an event triggered by immune complexes and complement. *Br J Surg* 2003; 90: 1470-1478.
78. Carden D, Ganger D. Pathophysiology of ischemia reperfusion injury. *J Pathol* 2000; 190: 255-266.
79. Collard C, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia reperfusion injury. *Anaesthesiology* 2001; 91 (6): 1133-1139.
80. Allen DM, Chen. Pathophysiology and related studies of the no reflow phenomenon in skeletal muscle. *Clin Orthop* 1996; 314: 122-133.
81. Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. *Diario Oficial de la Federación* 6 dic, 1999. Estados Unidos Mexicanos.
82. Guía Para el Cuidado y Uso de Los Animales de Laboratorio. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health U.S.A. Edición Mexicana Auspiciada por la Academia Nacional de Medicina. México, D.F. 2002.
83. Mayer E, Puskas JD, Cardoso PFG, et al. Reliable eighteen-hour lung preservation at 4° C and 10° C by pulmonary artery flush after high dose prostaglandin E1 administration. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 103: 1136-1142.
84. Velly JF, Baudet L. Organ procurement technique. *Current Topics in General Thoracic Surgery, Lung Transplantation* 1995; 3: 159-169.
85. Hiromi W, Tatsuo F, Takayuki N, et al. ET-Kyoto solution for 48 hour canine lung preservation. *Ann Thoracic Surg* 1996; 61: 963-968.
86. Lauga A, D'Ortencio. Monitoreo de las presiones de la arteria pulmonary catéter de Swan-Ganz parte I. *Rev Insuf Cardiac* 2007; 2: 5-11.
87. Lauga A, D'Ortencio. Monitoreo de las presiones de la arteria pulmonary catéter de Swan-Ganz parte II. *Rev Insuf Cardiac* 2007; 2: 48-54.

88. Eugene J., Ott R.A., Gogia H.S Dos Santos C., Zeit R. and Kayaleh R.A. Video-thoracic surgery for treatment of end stage bullous emphysema and chronic obstructive pulmonary disease. *Am Surg.* 1995; 65 (10): 934-936.
89. Egan TM, Boychuk JE, Rosato K, et al. Whence the lungs? A study to assess suitability of donor lungs for transplantation. *Transplantation* 1992; 53: 420-422.
90. Qayumi AK, Nikbakhat-Sangari M, Godin DV. The relationship of ischemia reperfusion injury of transplanted lung up-regulation of major histocompatibility complex II on host peripheral lymphocytes. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998; 115: 978-989.
91. Watanabe A, Kawaharada N, Kusahima K, et al. Contralateral lung injury associated with single lung ischemia reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1996; 62: 1644-1649.
92. Gámez P, Córdoba M, Millán I, et al. Mejoras en la preservación pulmonar. Tres años de experiencia con una solución de dextrano bajo en potasio. *Arch Bronconeumol* 2005; 41 (1): 16-19.
93. Giaid A, Polak JM, Gaitonde V, Hamid QA, Moscoso G, Legon S, Uwanogho D, Roncalli M, Shinmi O, Sawamira T, Kimura S, Yanagisawa M, Masaki T, Springall DR: Distribution of endothelin-like immunoreactivity and mRNA in the developing and adult human lung. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1991; 4:50–58.
94. Shennib H, Serrick C, Saleh D, Reis A, Stewart DJ, Giaid A: Plasma endothelin-1 levels in human lung transplant recipients. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1995; 26 (suppl 3):S516–S518.
95. Jeppsson A, Tazelaar HD, Miller VM, McGregor CGA: Distribution of endothelin-1 in transplanted human lungs. *Transplantation.* 1998; 66:806–809.

96. Cale ARJ, Ricagna F, Wiklund L, McGregor CGA, Miller VM: Mononuclear cells from dogs with acute lung allograft rejection cause contraction of pulmonary arteries. *Circulation*.1994; 90:952–958.
97. Zhao YD, Springall DR, Hamid Q, Yacoub MH, Levene M, Polak JM. Localization and characterization of endothelin-1 binding sites in the transplanted human lung. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1995, 26 (suppl 3):S336–340.
98. Allison RC, Kyle J, Adkins WK, Prasad VR, McCord JM, Taylor AE. Effect of ischemia reperfusion or hypoxia reoxygenation on lung vascular permeability and resistance. *J Appl Physiol*.1990; 69:597–603.
99. Franke U, Wittwer T, Fehrenbach A, et al. Pig lung transplantation using extracellular type preservation solutions. *J Heart Lung Transplant* 2002; 21 (1):58.
100. Guyton AC. Overview of the circulation, and medical physics of pressure, flow and resistance. En Guyton AC, Hall JE. *Medical physiology* Philadelphia, USA. 11th ed. WB Saunders, 2005: 150-158.
101. P van der Kaaij N, Kluin J, Haitsma J, et al. Ischemia of the lung causes extensive long term pulmonary injury: an experimental study. *Resp Res* 2008; 9: 28-43.
102. Okada Y, Kondo T. Impact of lung preservation solutions, Euro Collins vs Low Potassium Dextran, on early graft function: A review of five clinical studies. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 12: 10-14.
103. Oka T, Puskas JD, Mayer E, et al. Low potassium UW solution for lung preservation. *Transplantation* 1991; 52: 984-988.
- 104.
105. Rabanal JM, Ibañez AM, Mons R, et al. Influence of preservation solution en early lung function (Euro Collis vs Perfadex). *Transplant Proc* 2003; 35: 1938-9.

106. Theodore J, Jamieson SW, Burke CM, et al. Physiological aspect of human heart-lung transplantation: pulmonary function status of the post transplanted lung. *Chest* 1984; 86: 349-257.
107. Hachida M, Morton D. Lung Function after prolonged lung preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989; 97: 911-919.
108. Vázquez JC. Fisiología respiratoria. EN Cano F, Ibarra C, Morales J. *Enfermedades Respiratorias. Temas Selectos*. Madrid, España 1ra ed. Elsevier, 2006: 29-41.
109. Bierman MI, Stein KL, Stuart RS, Dauber JH. Critical care management of lung trasplant recipients. *Intensive Care Med*. 1991; 6: 135-142.
110. Triantafillou AN, Hendt PM. Lung trasplantation. *Int Anesthesiol Clin*. 1991; 29: 87-109.
111. Ramos VR, Llau JE, Borro JM, Morales P, et al. Anestesia en el trasplante pulmonar. *Rev Esp Anesthesiol Reanim*. 1997; 44: 23-29.
112. Tabhut L, G, Vinatier L, Stern JB, Lorient P, Fournier M. Primary graft failure following lung transplantation. Predictive factors of mortality. *Chest*. 2002; 121: 1876-1882.
113. Rabanal JM, Mons R, Zurbano F. Ruiz I, Alcívar JL, Ortega J. Edema de reimplantación en el trasplante pulmonar. ¿Isquemia-reperfusión o edema hidrostático? *Rev. Esp. Anesthesiol. Reanim*. 2001; 48: 146-150.
114. Lopes R, Beló-Klein A, Feijó C, et al. Effect of systemically administered low potassium dextran solution on oxidative stress in rat model of lung ischemia. *Int J Thorac Cardiovasc Surg* 2009; 8: 3-6.
115. Santana N, Barrasa JL, Ponce MA, López G et al. Valoracion de la lesión por iquemia reperfusion y del rechazo agudo precoz en le trasplante pulmonar experimental con tiempo de isquemia prolongado. *Arch Bronconeumol* 2007; 43 (7): 373-377.

116. Taghavi S, Abraham D, Riml P, et al. Co-expression of endothelin 1 and vascular permeability in lungs grafts before reperfusion. *J Heart Lung Transplant* 2002; 21: 600-603.
117. Abraham D, Taghavi S, Riml P, et al. VEGF-A and -C but not B mediate increased vascular permeability in preserved lungs grafts. *Transplantation* 2002; 73: 1703-1706.