



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y SALUD

ANIMAL

Efectos cardiopulmonares del Propofol y L – Arginina en daño pulmonar agudo (DPA) inducido por ácido oleico (AO) en un modelo experimental canino.

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS

P r e s e n t a

Claudia Hernández Jiménez

Tutor:

Jaime Villalba Caloca

Comité Tutoral:

Alejandro Villa Godoy,

Francisco Javier Flores Murrieta

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.

Agradecimientos.

Mi más sincero agradecimiento a todos los que en el campo profesional han colaborado en la planificación, realización y redacción de este proyecto de investigación.

Al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratoria, “Ismael Cosío Villegas” el cual otorgó los recursos para esta investigación.

Al departamento de cirugía experimental que proporcionó las instalaciones necesarias para la ejecución de los procedimientos quirúrgicos y de laboratorio.

Al Dr. Jaime Villalba Caloca por su amabilidad en dirigir esta Tesis Doctoral y su constante apremio en la investigación.

Al Dr. Rogelio Jasso Victoria Impulsor de este trabajo, así como por su dedicación y ánimo durante la prolongada realización del mismo.

Al MC. Raúl Olmos Zúñiga, su colaboración, apoyo incondicional además de su amistad han sido imprescindibles para realizar esta tesis.

Al Dr. Miguel Gaxiola Gaxiola, como jefe del Departamento de Análisis morfológico, el cual fue responsable de la descripción de los hallazgos histopatológicos, así como a todo el personal del departamento que colaboró en el procesamiento de las muestras de los tejidos sometidos a estudio.

A la Dra. Avelina Sotres Vega y a la QFB. Matilde Baltazares Lipp por su constante colaboración y ayuda en este trabajo de experimentación.

Al personal técnico del departamento de Investigación en Cirugía Experimental del INER. Roberto Rueda y Sergio Martínez por su disponibilidad y solícita colaboración, sin las cuales no se hubiera podido realizar el proyecto.

Resumen.

Introducción. El daño pulmonar agudo (DPA) provoca edema pulmonar, alteraciones hemodinámicas y gasométricas en los pacientes que la padecen provocando mortalidad elevada. El objetivo de este trabajo fue evaluar si el propofol y L-arginina protegen o atenúan las alteraciones radiográficas, hemodinámicas, gasométricas, macroscópicas, microscópicas e inmunohistoquímicas producidas en un modelo experimental canino de daño pulmonar agudo (DPA) producido por ácido oleico (AO). **Material y métodos.** Se utilizaron 24 perros que fueron divididos en 4 grupos: Grupo I (n=6): Control sin DPA; Grupo II (n=6); DPA producido con AO sin tratamiento; Grupo III (n=6): DPA producido con AO y pretratamiento con Propofol; Grupo IV (n=6): DPA producido con AO y pretratamiento con L-arginina. En todos los animales se realizó evaluación radiológica, hemodinámica y gasométrica antes de la inducción del DPA y posteriormente durante 150 minutos. Al final del estudio se evaluaron los cambios macroscópicos y microscópicos, así como la expresión de endotelinas y receptores para endotelinas B en los pulmones dañados. **Resultados.** Todos los animales sobrevivieron al tiempo de estudio. Los hallazgos radiográficos, hemodinámicos, gasométricos e inmunohistoquímicos revelaron que los grupos II, III y IV desarrollaron DPA, sin embargo en el grupo III y IV la hipoxemia y cortocircuitos fueron más severos, ($p < 0.05$ ANDEVA), aunque el grupo III histológicamente mostró menor infiltrado inflamatorio y el grupo IV desarrolló menor edema alveolar.

Palabras Clave: Daño Pulmonar Agudo, Ácido Oleico, Propofol, Endotelina L-arginina, Endotelina Et-1, receptores para endotelina subtipo B.

Índice.

Agradecimientos.....	ii
Resumen.....	iv
Índice.....	v
Relación de figuras.....	viii
Relación de cuadros.....	xi
Abreviaturas.....	xii
I. Introducción.....	14
1.- Anatomía del epitelio alveolar.....	15
2.- Epidemiología del daño pulmonar agudo.....	18
3.- Incidencia de daño pulmonar agudo.....	20
4.- Patofisiología del daño pulmonar agudo.....	21
4.1 Atelectasia.....	24
4.2 Distensibilidad pulmonar.....	24
4.3 Anormalidades en el intercambio de gases pulmonares.....	25
4.4 Hipertensión arterial pulmonar.....	26
4.5 Edema Pulmonar.....	27
5. Proceso Inflamatorio en daño pulmonar agudo.....	30
6. El endotelio Vascular.....	33
7. El sistema Endotelina.....	35
7.1 Síntesis de la Endotelina.....	38
7.2 Receptores para Endotelina.....	39
7.3 Endotelinas y Permeabilidad.....	42
7.4 Endotelina y pulmón.....	42
8. Óxido Nítrico (ON).....	43
9. Medidas Terapéuticas en DPA.....	47
9.1 Arginina.....	50
9.2 Propofol.....	51

10. Modelo de DPA inducido por Ácido Oleico (AO).....	52
II. Justificación.....	53
III. Hipótesis.....	55
IV. Objetivos.....	56
1. Objetivo General.....	56
2. Objetivos Específicos.....	56
V. Material y Métodos.....	57
1. Diseño del Estudio.....	57
1.1 Características Generales.....	57
2. Animales de Experimentación.....	57
2.1 Criterios de inclusión.....	58
2.2 Criterios de eliminación.....	58
3.- Consideraciones Éticas.....	58
4.- Grupos de estudio.....	59
Protocolo de Estudio.....	59
5.- Preparación del Modelo Experimental.....	59
5.1 Anestesia.....	59
5.2 Cateterismos.....	61
5.3 Determinaciones.....	63
5.4 Inducción del Daño pulmonar Agudo.....	64
6.- Tratamiento.....	65
7. Evaluación.....	66
7.1 Evaluación Hemodinámica.....	66
7.2 Evaluación Gasométrica.....	67
7.3 Evaluación Radiológica.....	67
7.4 Evaluación Macroscópica.....	68
7.5 Evaluación Microscópica.....	68
7.6 Determinación de Edema pulmonar.....	68
7.7 Evaluación Inmuhistoquímica.....	69
VI. Análisis de datos.....	71

VII. Resultados.	72
1.- Hallazgos Hemodinámicos.....	72
2. Hallazgos gasométricos	82
3. Hallazgos radiológicos.	84
4. Macroscópicos.	87
5. Hallazgos Microscópicos	88
6.- Hallazgos Gravimétricos	91
7. Hallazgos inmunohistoquímicos	92
VIII. Discusión.....	97
IX. Conclusiones.....	108
XIV. Referencias.....	109

Relación de figuras

Figura 1. Esquema que muestra las generaciones de la vía respiratoria.	16
Figura 2. Representación esquemática del epitelio alveolar de la vía aérea distal.	18
Figura 3. Efectos agudos en DPA/ARDS. Diversas patologías directas e indirectas conducen al desarrollo de DPA, el proceso inflamatorio daña la membrana alveolo-capilar, la cual es el mecanismo patogénico central.	22
Figura 4. Representación esquemática de los neutrófilos activados deformados y aplastados por su paso a través de los capilares pulmonares. Esto crea un microambiente pericelular restringido con un potencial riesgo de lesión del endotelio pulmonar por los productos de los neutrófilos activados.	31
Figura 5. Esquema que muestra el alvéolo normal del lado izquierdo y del lado derecho el alvéolo dañado durante la fase aguda de daño pulmonar agudo. PAF (Factor activador de plaquetas); TNF α (Factor de Necrosis Tumoral alfa); IL-1, 6,8, 10 (Interleucinas 1,6, 8 y 10).	33
Figura 6a. Estructura y homología de las endotelinas, cadenas peptídicas de 21 aminoácidos ET-1 y ET-2.	36
Figura 6b. Estructura y homología de las endotelinas, cadenas peptídicas de 21 aminoácidos ET-3.	37
Figura 7. Esquema de la síntesis de endotelina en la célula endotelial.	38
Figura 8. Efectos biológicos de la ET-1 en diversos tipos celulares.	41
Figura 9. Representación esquemática que muestra la formación de ON por la célula endotelial. L-arg (L-arginina); iNOS (Oxido nítrico sintasa inducible); cNOS (Óxido Nítrico Sintasa constitutiva); ON (Óxido Nítrico); Ca ⁺ (Calcio); GC (Guanidilciclase); cGMP (Guanosin monofostato cíclico);GT(Guanosin trifosfato).	44
Figura 10. Formación de óxido nítrico a partir de L-arginina.	45

Figura 11. Fotografías que muestran: A) al animal de experimentación colocado sobre la mesa de cirugía conectado al ventilador y monitor cardiaco, B) inserción de catéteres femorales arterial y venoso derechos para determinación de parámetros hemodinámicos y gasométricos, Fotografía que C) inserción del catéter Swan Ganz en vena yugular derecha para determinación de parámetros hemodinámicos.	62
Figura 12a. Fotografías que muestran estudios radiográficos simples de tórax en proyección Ventro Dorsal, basal y al minuto 165 de los grupos de estudio I y II.....	85
Figura 12b. Fotografías que muestran estudios radiográficos simples de tórax en proyección Ventro- Dorsal, basal y al minuto 165 de los grupos de estudio III y IV.	86
Figura 13. Fotografías que muestran: A) el pulmón izquierdo ventilado de un animal del grupo IV. Presenta zonas hemorrágicas en los bordes pulmonares (flechas) y B) los pulmones de animal del grupo II, con edema (Espuma), atelectasia, y hemorragia (flechas).....	88
Figura 14a. Micrografías de tejido pulmonar (H&E): A) Histología Pulmonar Normal 10x (Grado 1), B) Colapso alveolar pulmonar en el grupo AO 10x, infiltrado leve de leucocitos y congestión intersticial (Grado 2); a) Lumen alveolar, b) Infiltrado inflamatorio, C) Hemorragia leve (Grado 2) en al grupo AO 40x. D) Congestión (Flecha) e infiltrado intersticial leve.....	89
Figura 14b. Micrografías de tejido pulmonar (H&E): E) Edema Alveolar 40X, F) Colapso alveolar y Congestión 10X, G) Destrucción de arquitectura pulmonar 40X, H) Trombo en formación 10x.....	90
Figura 15. Gráfica que muestra el peso húmedo de los pulmones de todos los grupos $p < 0.05$ ANDEVA.	92
Figura 16. Micrografías de tejido pulmonar (Inmunohistoquímica) que muestran: A) Expresión de Endotelina 1 en epitelio bronquial 40X (Flecha), en un animal del grupo testigo; B) Expresión de Endotelina 1 en glándulas peribronquiales 10 X y 40X en un animal del grupo AO; C) Expresión de	

Endotelina 1 en endotelio vascular en un animal del grupo propofol 40x y D) Ausencia de expresión de Endotelina 1 en un animal del grupo L arginina 10X.93

Figura 17a. Microfotografía de tejido pulmonar (Inmunohistoquímica) de ETB. A) Expresión de ETB en bronquio 10x en un animal del grupo testigo, a) ausencia de expresión en tejido pulmonar en grupo testigo; B) Expresión de ETB en bronquio 10x en el grupo AO; b) Lumen bronquial, c) tejido bronquial sin anticuerpo primario, utilizado como control; d) Expresión ETB, en bronquio 40x95

Figura 17b. Micrográficas de tejido pulmonar (inmunohistoquímica): A) y C) Ausencia de expresión en epitelio bronquial 10x en un animal del grupo propofol; B) Expresión de ETB en epitelio bronquial 40x, grado 1 (flechas); D) Expresión de ETB en epitelio bronquial 40x en un animal del grupo L-arginina, grado 1 (flechas); E) Ausencia de expresión de ETB en epitelio alveolar 10x en un animal del grupo L-arginina.96

Relación de cuadros

Cuadro 1. Criterios clínicos establecidos por el Consenso Europeo-Americano.....	21
Cuadro 2. Patologías que pueden iniciar DPA.....	23
Cuadro 3. Resultados de la Frecuencia Cardiaca (latidos.min) en los cuatro grupos.....	73
Cuadro 4. Resultados del Gasto Cardiaco (L. min) en todos los grupos.	74
Cuadro 5. Resultados de la Presión Arterial Media (mm Hg) en todos los grupos.....	75
Cuadro 6. Resultados de la Presión de oclusión de Arteria Pulmonar (mm Hg) en los cuatro grupos.	76
Cuadro 7. Resultados de la Presión Media de Arteria Pulmonar (mm Hg) en los cuatro grupos.	77
Cuadro 8. Resultado del Índice de Resistencias Vasculares Pulmonares (Dinas/sec/cm5) en los cuatro grupos.	78
Cuadro 9. Resultado del Índice de Resistencias Vasculares Sistémicas (Dinas/sec/cm5) en los cuatro grupos.	79
Cuadro 10. Resultados de los cortocircuitos QS/QT (%) en los cuatro grupos.	80
Cuadro 11. Resultados de la Presión Inspiratoria Máxima (cm H ₂ O) en los cuatro grupos.....	81
Cuadro 12. Resultados de la Presión de oxígeno arterial (mmHg) de los cuatro grupos.....	82
Cuadro 13. Resultados del pH arterial en los cuatro grupos.	83
Cuadro 14. Muestra medianas de todos los grupos.	91
AO; a) Lumen bronquial, b) Expresión ETB, en bronquio.....	95

Abreviaturas.

ANDEVA	Análisis de la Varianza
AO	Ácido Oleico
cmH ₂ O	Centímetros de agua
DPA	Daño Pulmonar Agudo
ET	Endotelina
ET-1	Endotelina 1
ET _A	Receptores para Endotelina subtipo A
ET _B	Receptores para Endotelina subtipo B
EDRF	Factor relajante derivado del endotelio
FC	Frecuencia Cardiaca
FNT	Factor de necrosis tumoral α
FOM	Falla orgánica múltiple
GC	Gasto cardiaco
iRVP	Índice de Resistencias Vasculares Pulmonares
NS	No significativo estadísticamente
ON	Óxido Nítrico
PaCO ₂	Presión arterial de dióxido de carbono
PAD	Presión Arterial Diastólica

PAM	Presión Arterial Media
PaO ₂	Presión arterial de oxígeno
PAPD	Presión de Arteria Pulmonar Diastólica
PAPM	Presión de Arteria Pulmonar Media
PAPS	Presión de Arteria Pulmonar Sistólica
PAS	Presión Arterial Sistémica
pH	Equilibrio ácido- base
PIM	Presión Inspiratoria Máxima
PvCO ₂	Presión venosa de dióxido de Carbono
QS/QT	Cortocircuitos
RVP	Resistencias Vasculares Pulmonares
RVS	Resistencias Vasculares sistémicas
SDRA	Síndrome de Dificultad Respiratoria Aguda

I. Introducción

El Daño pulmonar Agudo es un complejo síndrome que fue descrito por primera vez a finales de los años 60 donde se describieron un grupo de 12 pacientes que padecieron esta enfermedad.

En 1994 en la Conferencia Norteamericana- Europea de Consenso un grupo de expertos que continuaron actualizando esta patología adoptaron la siguiente definición clínica de Síndrome de Distress Respiratorio Agudo (SDRA): Hipoxemia arterial de comienzo agudo diagnosticada por una Relación entre la Presión Arterial de Oxígeno y la Fracción Inspirada de Oxígeno (PaO_2/FiO_2) menor de 200 mmHg e infiltrados bilaterales en la radiografía, sin datos de hipertensión en aurícula izquierda o insuficiencia cardíaca congestiva, cuando se mide la presión capilar pulmonar o cuña (PCP) menor o igual 18 mmHg. En aquel momento los miembros de la Conferencia de Consenso reconocían que la lesión pulmonar es un espectro patológico y acuñaron el término Daño Pulmonar Agudo (DPA) para identificar aquellos pacientes con una forma menos grave pero clínicamente similar de insuficiencia respiratoria (PaO_2/FiO_2 igual 300 mmHg). (10)

Conceptualmente se refiere a una forma muy grave de falla respiratoria de diferentes etiologías y de alta mortalidad, generalmente asociada a sepsis y al síndrome de disfunción orgánica múltiple. Se caracteriza por una agresiva reacción inflamatoria a nivel pulmonar.

Desde el punto de vista fisiopatológico se plantea que cuando la membrana alveolo-capilar pierde su integridad a causa de una inflamación e infección, el líquido que penetra en el espacio alveolar comienza a dificultar el intercambio gaseoso. Este líquido proteináceo degrada la función del surfactante, alterando el acoplamiento ventilación perfusión e induciendo una respuesta inflamatoria local que deteriora aun más el intercambio gaseoso. El cortocircuito de sangre intrapulmonar supone en condiciones normales menos del 5% del gasto cardiaco total, sin embargo en el Síndrome de Distress Respiratorio Agudo (SDRA) se consume hasta el 25% de este gasto. El resultado es una profunda hipoxemia que que origina una alteración ventilación - perfusión (V / Q) que se hace menor de 1. En términos absolutos definimos hipoxemia como una $PaO_2 < 60$ mmHg. Su definición relativa más aceptada en el Síndrome de Distress Respiratorio Agudo (SDRA) es la de una $PaO_2 < 75$ mmHg cuando se administra al paciente una $FiO_2 > 50\%$. (1, 11, 12)

1.- Anatomía del epitelio alveolar.

El pulmón humano consiste en una serie de tubos vacíos que en forma de ramas de árbol se van dividiendo hasta llegar a unos sacos terminales que son los alvéolos. Las primeras 16 generaciones de la vía aérea son la tráquea, bronquios y bronquiolos. El intercambio gaseoso ocurre en las últimas siete generaciones que incluyen a los bronquiolos, conductos alveolares, sacos alveolares y alvéolos. (Figura 1).

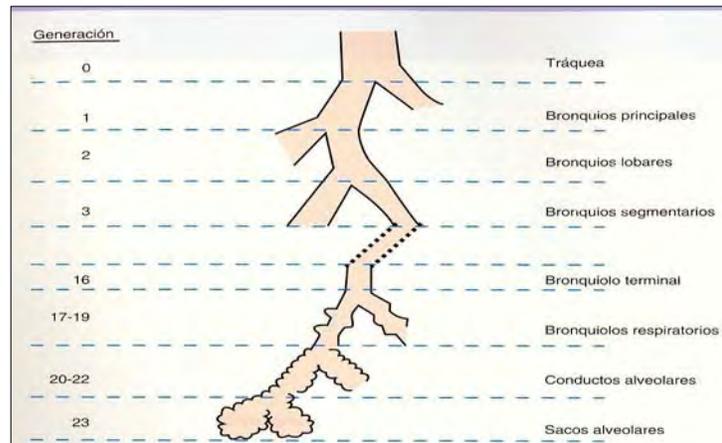


Figura 1. Esquema que muestra las generaciones de la vía respiratoria.

La vía aérea alcanza una superficie aproximada en el pulmón humano adulto de 1.4m^2 y los alvéolos alcanzan una superficie de 143m^2 . Esta superficie forma la separación entre el parénquima pulmonar y el espacio aéreo, constituyéndose en un epitelio continuo. El epitelio de la vía aérea distal está compuesto por unidades bronquiolares y respiratorias terminales, con células epiteliales polarizadas que tienen la capacidad del transporte de sodio y cloro, incluyendo las células clara y células cuboidales no ciliadas.

El alvéolo se compone de un delgado epitelio, de 0.1 a $0.2\mu\text{m}$ de grosor, el cual constituye el 99% de la superficie pulmonar que está en contacto con el aire y está compuesto por células epiteliales tipo I que cubren el 95% de la superficie alveolar y por cuboidales tipo II. Las paredes alveoláres tienen en su interior una red casi sólida de capilares interconectados, por lo tanto es obvio que los gases alveolares están muy próximos a la sangre de los capilares, por consecuencia el intercambio de gaseoso entre el aire alveolar y la sangre

pulmonar se produce a través de la membrana alveolo-capilar o membrana respiratoria. La membrana está compuesta por: 1. Una capa de líquido que reviste el alvéolo y contiene agente tensoactivo que disminuye la tensión superficial del líquido alveolar; 2) epitelio alveolar; 3) membrana basal epitelial; 4) un espacio intersticial fino entre el epitelio alveolar y la membrana capilar; 5) membrana basal capilar que en muchos lugares se fusiona con la membrana basal epitelial; 6) membrana epitelial capilar. La superficie de unión entre el epitelio alveolar y el endotelio vascular facilita un eficiente intercambio de gases, pero también conforma una barrera para el movimiento de líquido y proteínas desde el espacio intersticial y vascular, lo que facilita el mantenimiento relativamente húmedo del alvéolo (Figura 2).

Las distintas células que componen el epitelio alveolar se encuentran fijadas entre sí por uniones herméticas localizadas cerca de la superficie apical, lo que mantiene la polaridad celular. Los distintos canales y transportadores de iones, así como las proteínas de la membrana celular se distribuyen de forma simétrica, confiriendo unas propiedades de transporte vectorial al epitelio. En el pasado se creía que estas uniones intercelulares eran estructuras rígidas, lo que impedía el paso de moléculas grandes. Esto se ha visto que no es del todo cierto dado que la permeabilidad de estas uniones es dinámica y está regulada, en parte, por proteínas localizadas en el citoesqueleto y por la concentración de calcio intracelular. La difusión de sustancias hidrosolubles a través de las células del epitelio alveolar es mucho más lenta que a través de las uniones intercelulares adyacentes a los capilares pulmonares.

La célula más estudiada es la célula alveolar tipo II, debido a que se trata de una célula que se puede estudiar en forma aislada e in Vitro. Esta célula es la responsable de la secreción de surfactante pulmonar así como del transporte de sodio. Este transporte activo de sodio constituye una fuerza que sigue al agua para ser reabsorbida desde el espacio alveolar. El sodio pasa al interior de la célula a través de canales sensibles o no al amiloride y desde ahí a través de la bomba $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{ATPasa}$ al espacio intersticial. Estos canales están localizados en la superficie apical de la célula. (Figura 2).

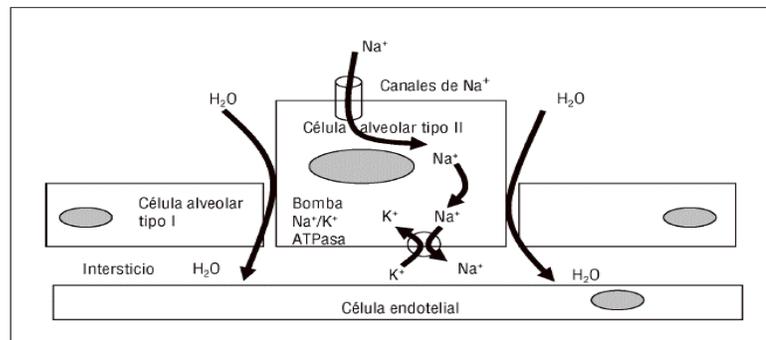


Figura 2. Representación esquemática del epitelio alveolar de la vía aérea distal.

2.- Epidemiología del daño pulmonar agudo.

En 1967, Ashbaugh y col (1) describieron por primera vez una serie de 12 pacientes adultos que presentaron un cuadro de insuficiencia respiratoria grave similar al observado en pacientes recién nacidos con enfermedad de membrana hialina. En este mismo año Petty y Ashbaugh (2) acuñaron el término de Adult respiratory Distress Syndrome, síndrome de insuficiencia

respiratoria del adulto en el idioma español (SIRA), para referirse a este problema pulmonar. A partir de entonces esta enfermedad fue reconocida en forma paulatina como una entidad clínica grave y frecuente en las terapias intensivas de todo el mundo en las que constituye una de las principales causas de hospitalización y una de las complicaciones más frecuentes y temidas en pacientes graves.

Debido a las múltiples causas asociadas a su presentación, se han utilizado una gran variedad de términos para referirse a este padecimiento: pulmón de choque, insuficiencia pulmonar postraumática, síndrome de insuficiencia respiratoria progresiva del adulto (SIRPA), falla respiratoria aguda, atelectasia congestiva, atelectasia hemorrágica, pulmón de bomba, pulmón postransfusión, consolidación pulmonar progresiva, síndrome de pulmón blanco, enfermedad de membrana hialina del adulto, edema pulmonar no cardiogénico, etc. (3).

Los términos más usados en México para referirse a este padecimiento han sido pulmón de choque o SIRPA. Dado que este cuadro, originalmente descrito en pacientes adultos, también se presenta en población pediátrica y algunos de estos términos fueron adaptados a este grupo etario. Por ejemplo, en el pasado en México se utilizó la denominación SIRPAN, para referirse a esta enfermedad (4). Finalmente en 1994 la definición fue determinada por el Consenso Europeo-americano (5) (Cuadro 1) y se propusieron los términos Daño Pulmonar Agudo (DPA) y síndrome de dificultad respiratoria Agudo

(SDRA), siendo este último aplicado a la manifestación más severa de la enfermedad.

3.- Incidencia de daño pulmonar agudo.

Como consecuencia de la diversidad de criterios utilizados para definir el diagnóstico de SDRA, ha sido difícil la documentación de datos confiables sobre su incidencia y mortalidad, tanto en niños como en adultos. Se estima que en los Estados Unidos de Norteamérica ocurren aproximadamente 150 000 casos por año, con una incidencia de 75 casos por cada 100 000 habitantes. (6).

En México se estima una incidencia de 154 casos por cada 1000 egresos en las UCI (7).

Los datos sobre mortalidad indican cifras que varían entre el 40 y 70% (8) en los pacientes internados en las unidades de cuidados intensivos en SDRA.

Cuadro 1. Criterios clínicos establecidos por el Consenso Europeo-Americano.

	Tiempo	Oxigenación	Radiografía de Tórax	Presión en cuña de arteria pulmonar.
DPA	Aparición aguda	$PaO_2/FIO_2 < 300$ mm Hg	Infiltrados bilaterales	<18 mmHg sin evidencia de hipertensión izquierda
SDRA	Aparición aguda	$PaO_2/FIO_2 < 200$ mmHg	Infiltrados bilaterales	<18 mmHg sin evidencia de hipertensión izquierda

Daño pulmonar agudo (DPA); Síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA); Índice de oxigenación, muestra la relación entre la presión de oxígeno arterial y la fracción inspirada de oxígeno (PaO_2/FIO_2).

4.- Patofisiología del daño pulmonar agudo.

El DPA es un síndrome clínico secundario a una lesión pulmonar o extrapulmonar aguda que daña la membrana alvéolo-capilar, con aumento en la permeabilidad vascular favoreciendo la formación de edema pulmonar no cardiogénico, lo que conduce a una insuficiencia aguda hipoxémica (9) (Figura 3 y Cuadro 2).

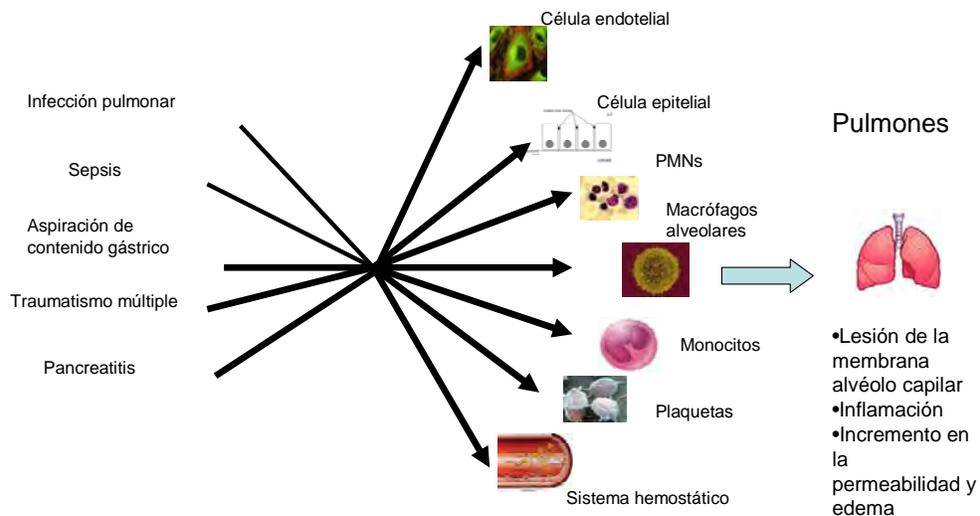


Figura 3. Efectos agudos en DPA/ARDS. Diversas patologías directas e indirectas conducen al desarrollo de DPA, el proceso inflamatorio daña la membrana alveolo-capilar, la cual es el mecanismo patogénico central.

Cuadro 2. Patologías que pueden iniciar DPA.

Directas	Indirectas
Neumonía	Sepsis
Aspiración de contenido gástrico	Traumatismo múltiple
Contusión pulmonar	Pancreatitis aguda
Lesiones por Inhalación	Transfusión
Isquemia- reperfusión	Quemaduras
	CID
	Embolismo graso
	Hepatitis

Inicialmente la descripción de los hallazgos en las autopsias incluía atelectasia, hemorragia y edema pulmonar con membranas hialinas (1); posteriormente otros estudios revelaron microtrombos pulmonares, formación y depositos de fibrina (10). Actualmente estudios experimentales han aumentado el conocimiento concerniente a los mecanismos moleculares de la patofisiología por lo que hoy se sabe que los cambios fisiopatológicos desarrollados a nivel pulmonar originan básicamente las siguientes alteraciones:

4.1 Atelectasia.

La formación de atelectasia durante el DPA ocurre como consecuencia del colapso de pequeñas vías aéreas en el pulmón inflamado. Otro mecanismo es la reabsorción del aire atrapado distalmente a las vías aéreas obstruidas. La obstrucción de las vías aéreas ocurre por secreciones “estancadas” pero también por cambios inflamatorios en la mucosa de las vías aéreas terminales (11). Además, el procedimiento de intubación en pacientes que necesitan ventilación con altas fracciones de oxígeno aumenta la formación de atelectasia debido al inevitable y prolongado periodo de apnea y al aumento en la reabsorción de gas en las vías obstruidas. En la última década la importancia de abrir estas regiones atelectásicas ha tomado mayor importancia (12,13). La ventilación mecánica provoca un repetitivo ciclo de abrir-cerrar de las regiones atelestásicas pulmonares (baro-trauma) esta sobredistensión aumenta la producción de mediadores proinflamatorios pulmonares lo que contribuye en gran medida al daño pulmonar, originando que el tejido pulmonar pueda lesionar a diferentes órganos, posiblemente induciendo falla orgánica múltiple (14).

4.2 Distensibilidad pulmonar.

En las fases tempranas de la lesión pulmonar se encuentra afectada por el edema y en las fases tardías por fibrosis pulmonar. La tendencia al colapso se agudiza por la disminución cuantitativa de la síntesis de surfactante, debido a la agresión de los neumocitos tipo II y a otras anomalías en la cantidad,

composición y metabolismo del resto de la sustancia tensioactiva. Estas zonas atelectásicas del pulmón contribuyen a reducir la distensibilidad del pulmón en su conjunto, pero las zonas del pulmón, no situadas en declive, poseen características mecánicas y de intercambio gaseoso normales. Dada la distensibilidad menor de los pulmones, es necesario que los músculos respiratorios generen altas presiones inspiratorias, con lo que aumenta el trabajo de la respiración. Esta mayor carga mecánica fatiga los músculos respiratorios con la disminución consiguiente de los volúmenes corrientes y el empeoramiento del intercambio gaseoso.

4.3 Anormalidades en el intercambio de gases pulmonares.

La anatomía fisiológica pulmonar determina que la relación de los alvéolos y capilares optimice el intercambio de gases, (oxigenación de la sangre y eliminación de CO_2), es decir, que la sangre que perfunde por los capilares pulmonares sea a través de alvéolos bien ventilados. Esta condición se determina por las siglas V/Q (Ventilación/perfusión). En el DPA esta relación se encuentra afectada determinando básicamente una condición:

- Unidad cortocircuito: Esta condición origina que la sangre pase por la unidad alveolocapilar sin intercambiar gases, específicamente y de forma grave el oxígeno. El cortocircuito está conformado por la fracción de sangre venosa que no participa en el intercambio gaseoso, o dicho en otras palabras, corresponde a la presencia de unidades pulmonares bien perfundidas y no ventiladas (15). La entidad más representativa de esta situación anómala es la

atelectasia. No obstante, otros eventos como el edema pulmonar y el SDRA se comportan como enfermedades de cortocircuito, así no esté presente de manera significativa el colapso pulmonar. La hipoxemia resultante del cortocircuito elevado grave, es una situación de manejo difícil puesto que no responde a la administración de oxígeno suplementario, ni siquiera al 100%. Haciendo al paciente portador de una hipoxemia refractaria (16). La consecuencia más grave de la hipoxemia, es la hipoxia, la que se define como el déficit de oxígeno tisular, problema implicado en la disminución de uno de los componentes indispensables en los procesos de generación de energía. En esta circunstancia, el organismo recurre a procesos alternos de producción de ATP (Anaeróbicos), los que invariablemente generan acidosis metabólica.

Al margen de los problemas locales de la oxigenación deficiente (vasoconstricción pulmonar, aumento de la resistencia vascular pulmonar, incremento en la poscarga del ventrículo derecho), se producen efectos sistémicos, entre los que destacan, las alteraciones del Sistema Nervioso Central (alteración de las funciones superiores de integración cortical) y, alteraciones cardiovasculares de gravedad variable (arritmias).

4.4 Hipertensión arterial pulmonar.

En el DPA la hipertensión arterial pulmonar es frecuente y esta mediada por varios procesos patológicos tales como alteraciones en el tono vasomotor por la liberación de factores constrictores del endotelio tales como endotelina (ET) y mediadores de la cascada del ácido araquidónico. Además, el fenómeno de

vasoconstricción hipóxica pulmonar, la formación de microtrombos con obstrucción de la microvasculatura pulmonar, la deformación de la microvasculatura por compresión que desarrolla el edema intersticial pulmonar y en fases tardías la remodelación arterial pulmonar y fibrosis.

4.5 Edema Pulmonar.

El edema pulmonar se produce, como en todo tejido del organismo, por aumento de la presión intersticial. Clásicamente se ha considerado que el movimiento de los líquidos corporales, en este caso de los pulmones, se regía por factores exclusivamente físicos reflejados en la ecuación de Starling. Este concepto continúa vigente, pero solo para la filtración de líquidos desde el espacio vascular al intersticial.

El modelo reflejado para la ecuación de Starling se limita al equilibrio de las presiones hidrostáticas y oncóticas a nivel de los espacios intravascular y extravascular, de forma que cuando aumenta la presión hidrostática en el espacio intravascular se produce el paso de agua desde éste al extravascular, produciéndose el edema. La ecuación de Starling de los capilares puede expresarse: $Q_f = K_f [(P_c - P_i) - s(p_c - p_y)]$ siendo:

- Q_f , el flujo total de líquido a través de la membrana capilar;
- K_f , el coeficiente de filtración de líquido;
- P_c , la presión hidrostática capilar;
- P_i , la presión hidrostática intersticial;
- s , el coeficiente de reflexión;

- P_c , la presión oncótica capilar (plasmática);
- P_y , la presión oncótica intersticial.

Según esto, el gradiente neto de presión hidrostática ($P_c - P_i$), que desplaza líquido a través de la membrana, y el gradiente neto de presión oncótica, que tiene retenido líquido dentro del espacio vascular ($p_c - p_i$), determina el flujo de líquido a través de las membranas capilares. Por último, el sistema linfático sirve de drenaje, demorando la acumulación del exceso de líquido filtrado. De este modo el aumento de flujo linfático compensa el aumento de desplazamiento de líquido trasvascular.

El coeficiente de filtración de líquido (K_f) representa la cantidad neta de líquido que cruza el lecho capilar para un desequilibrio dado de las fuerzas de Starling. Además de la propia membrana capilar, que puede ser el sitio principal de ingreso de proteínas, el movimiento de líquidos y solutos del espacio vascular hacia los linfáticos está afectado por conductividad hidráulica de la membrana basal vascular, el gel intersticial y la membrana terminal.

El coeficiente de reflexión (s) es una medida de la capacidad de la membrana capilar que sirve como barrera contra el movimiento de proteínas. Se ha calculado, que el (s) promedio es de 0.9 para los lechos capilares sistémicos y 0.7 para los capilares pulmonares, siendo el valor de 1 la impermeabilidad y 0 la permeabilidad total.

La ecuación de Starling asume que en condiciones de normalidad la cantidad de fluido que se filtra en la zona arterial de los capilares pulmonares es similar a la que se reabsorbe en la zona venosa de los mismos.

Edema en el daño pulmonar agudo.

En el DPA el edema no se genera por elevadas presiones hidrostáticas, éste ocurre por aumento de la permeabilidad, originado por un deterioro del endotelio capilar pulmonar que produce una salida de proteínas plasmáticas y líquido de los capilares. Se ha comprobado la aparición en las células epiteliales alveolares de lesiones muy heterogéneas como zonas necróticas, exposición de la lámina basal, edema citoplasmático o formación de membranas hialinas, a este proceso se le conoce como “daño alveolar difuso”. (17).

El edema pulmonar causa varios efectos, desde anormalidades radiológicas hasta alteraciones en los mecanismos de intercambio gaseoso.

La disnea es el síntoma clínico más frecuente en estos casos, pero su subjetividad hace complicado cuantificar la severidad del cuadro clínico. Por lo que una adecuada evaluación de la severidad del daño pulmonar requiere el uso de parámetros más objetivos.

En la actualidad se pueden utilizar diferentes métodos para evaluar la intensidad del edema pulmonar. Algunas técnicas son simples, como la gasometría arterial o la radiografía de tórax, otras pueden ser moderadamente

complejas, como el método del doble indicador, y otras como la resonancia magnética y la TAC.

En experimentación también se han empleado métodos invasivos, donde es necesario la obtención de los pulmones aislados. De estos destaca el método gravimétrico (donde se obtiene las medidas de peso seco, al que hay que restar el peso húmedo y cuantificar los cambios en el peso de los pulmones) y el método histológico.

5. Proceso Inflamatorio en daño pulmonar agudo.

En el DPA/SDRA el proceso inflamatorio representa un arma de dos filos, ya que presenta un delicado potencial entre la reparación de los tejidos y el daño potencial a los mismos. El pulmón es un órgano altamente vascular con arquitectura única, que hace que presente un sistema de defensa muy eficiente con la capacidad de iniciar una respuesta inflamatoria rápida y agresiva. Esta irrefrenable respuesta inflamatoria tiene como blanco al pulmón ocasionando lesión tanto endotelial como epitelial. En este contexto una exagerada respuesta inflamatoria, conduce al DPA/ARDS. Sin embargo en el DPA, el agente agresor puede producir daño directamente y aumentar la permeabilidad de la membrana alveolo-capilar, aún antes de desarrollada la respuesta inflamatoria.

Sin embargo en condiciones de inflamación sistémica, los neutrófilos circulantes se activan, aumentando sus receptores de superficie celular, que

conduce a un aumento en la adhesión en el endotelio pulmonar. La propensión de estas células a dañar es magnificada por las dimensiones de las células circulantes comparadas con la microvasculatura. El diámetro de los capilares pulmonares es de $5.5\mu\text{m}$ mientras que el de los neutrófilos es de $7.5\mu\text{m}$. Por lo tanto los neutrófilos son “aplastados” cuando pasan a través de los capilares pulmonares. Esta posición tan cercana al endotelio genera un microambiente en el cual se aumenta la acumulación de productos de neutrófilos, incrementando el riesgo de lesión endotelial (Figura 4).

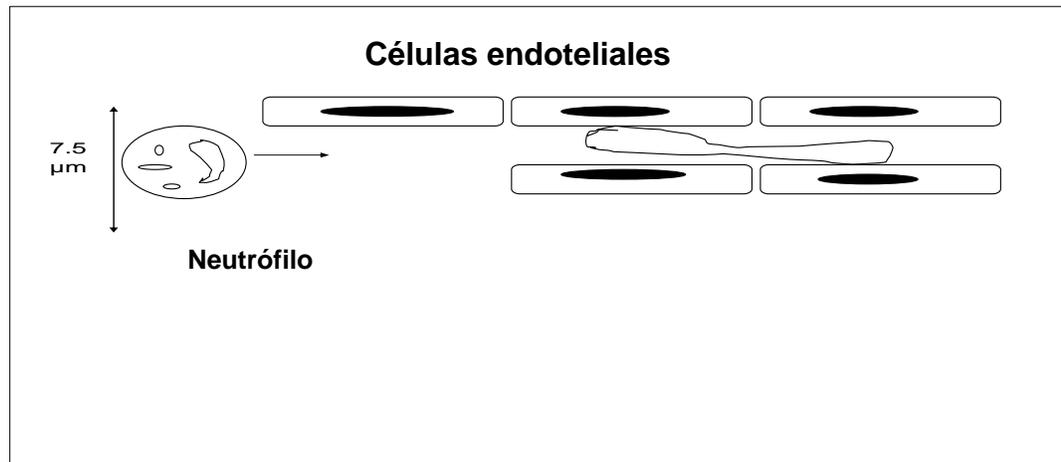


Figura 4. Representación esquemática de los neutrófilos activados deformados y aplastados por su paso a través de los capilares pulmonares. Esto crea un microambiente pericelular restringido con un potencial riesgo de lesión del endotelio pulmonar por los productos de los neutrófilos activados.

Los macrófagos alveolares e intravasculares pulmonares inician la respuesta inflamatoria a nivel pulmonar. Si la lesión es extrapulmonar, hay

activación de la respuesta inflamatoria en el sitio dañado por la lesión, desde donde se producen y liberan los mediadores que pasan entonces por el filtro pulmonar y activan la inflamación (18).

El Factor de necrosis tumoral α (FNT) es inducido por monocitos y macrófagos por endotoxinas, el complejo endotoxina-proteína ligadora de endotoxina, el complemento, leucotrienos (LT), y prostaglandinas (PG). Inicia y/o amplifica la cascada inflamatoria en la sepsis, falla orgánica múltiple (FOM) y el SDRA. Produce secreción secundaria de otros mediadores como las interleucinas (IL) -1, IL-6, IL-8, Factor agregador de plaquetas, prostaglandinas y leucotrienos, aumenta las moléculas de adhesión leucoendotelial, la tendencia a la coagulopatía y la fagocitosis, el daño endotelial y la permeabilidad capilar.

La IL-1 es otro importante mediador de la defensa del huésped y en la enfermedad, potente proinflamatorio con efectos biológicos como la fiebre, la activación y daño de las células endoteliales, aumento de la permeabilidad, hipotensión, choque, leucopenia y activación de los neutrófilos. Promueve la liberación de otras citocinas: FNT, IL-6 y actúa sinérgicamente con el FNT (19). El Factor agregador de plaquetas es quimiotáctico, potente broncoconstrictor, agregador plaquetario, aumenta la liberación de leucotrienos, prostaglandinas y Tromboxanos, la permeabilidad vascular, la adherencia leucoendotelial y la liberación de factor plaquetario 4 y Tromboxano B₂, que producen hipertensión pulmonar e hipotensión sistémica (Figura 5).

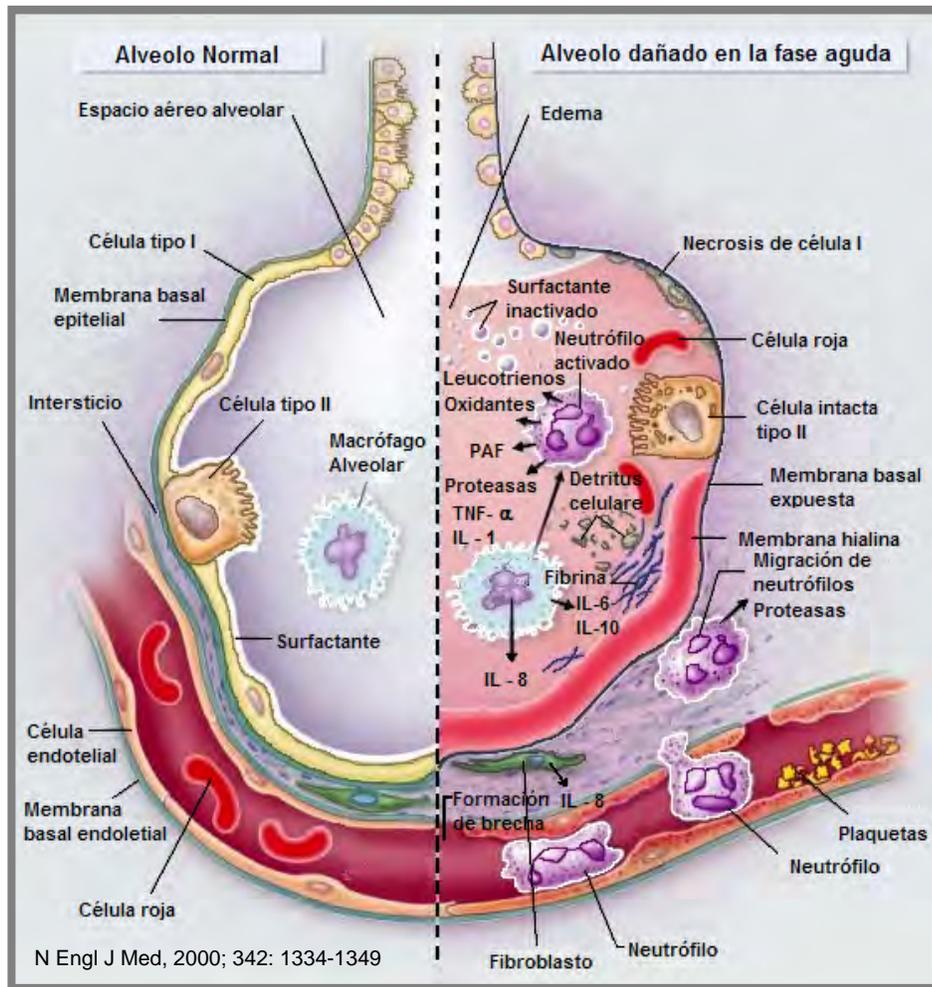


Figura 5. Esquema que muestra el alvéolo normal del lado izquierdo y del lado derecho el alvéolo dañado durante la fase aguda de daño pulmonar agudo. PAF (Factor activador de plaquetas); TNF α (Factor de Necrosis Tumoral alfa); IL-1, 6,8, 10 (Interleucinas 1,6, 8 y 10).

6. El endotelio Vascular.

Durante las últimas dos décadas se han producido grandes avances en el estudio del papel que desarrolla el endotelio en la dinámica vascular. Previamente se creía que el endotelio solo era una barrera permeable a los

iones, moléculas orgánicas y también una zona de efectos metabólicos, sobretodo en la microvasculatura pulmonar (Conversión de angiotensina I en angiotensina II y eliminación de prostaglandinas de la circulación). A pesar de que estos descubrimientos eran de importancia considerable, no se sabía el importantísimo papel del endotelio vascular como un órgano regulador del tono vascular sintetizando y liberador de sustancias vasoactivas, que juegan un papel crítico en la regulación de la hemodinamia de la microcirculación.

Para mantener la permeabilidad de los vasos sanguíneos y la fluidez de la sangre, las células endoteliales sintetizan algunas sustancias activas, incluyendo grandes moléculas como fibronectina y sulfato de heparina, interleucina-1, activador del plasminógeno tisular, varios factores de crecimiento y pequeñas moléculas como prostaciclina, factor relajante derivado del endotelio (EDRF), hoy conocido como oxido nítrico (ON), factor activador de plaquetas y endotelina-1.

La producción de estas sustancias es modulada por cambios en la concentración de mensajeros intracelulares como el AMPc- GMPc-Ca²⁺ y por interacciones entre el endotelio y sus células, plaquetas o constituyentes del plasma.

La fisiopatología del DPA todavía no está completamente descrita, sin embargo, el endotelio pulmonar juega un papel muy importante debido a la alteración de su actividad metabólica, que afecta la homeostasis pulmonar y sistémica.

El endotelio capilar pulmonar constituye una cuarta parte del área de superficie endotelial total corporal y constituye el 40% de todas las células pulmonares; además de poseer actividades metabólicas características, por ejemplo, participa en el tono vascular detectando cambios de presión y de tensión de las paredes, así como también a los estímulos que provocan sustancias vasoactivas liberadas por leucocitos y plaquetas. Entre las principales sustancias vasodilatadoras producidas en él destacan el Óxido Nítrico, prostaciclina, bradicinina. Las sustancias vasoconstrictoras más conocidas son el tromboxano A₂ y la prostaglandina H₂, angiotensina II de acción constrictora de acción directa e indirecta para la liberación de Endotelina (ET-1), esta última es la más potente sustancia vasoconstrictora conocida.

Endotelina y óxido nítrico interactúan entre sí modulando la fisiología endotelial vascular, por lo cual es importante conocer la fisiología de estas sustancias vasoactivas y su relación en las funciones del endotelio vascular.

7. El sistema Endotelina.

La existencia de una sustancia vasoconstrictora derivada del endotelio fue descrita por primera vez por Hickey en 1985 (20). Tres años después el péptido endotelina (ET-1) fue aislado y caracterizado por Yanagisawa (21). Posteriormente se determinó que las endotelinas son una familia de péptidos de 21 aminoácidos de las cuales se conocen tres diferentes isoformas (ET-1, ET-2 y ET-3) que contienen dos puentes disulfuro (Cis1-cis15 y Cis3-cis11),

que les confieren una estructura tridimensional con forma de espiral cónica y aunque muestran propiedades similares, bioquímica y biológicamente están codificados por tres genes diferentes localizados en los cromosomas 6, 1 y 20 respectivamente y su expresión está regulada de forma diferente según los órganos y tejidos. Tienen una estructura parecida al veneno de serpiente *Actractspic Engaddensis*, llamado sarafotoxina. (22) (Figura 6a y 6b).

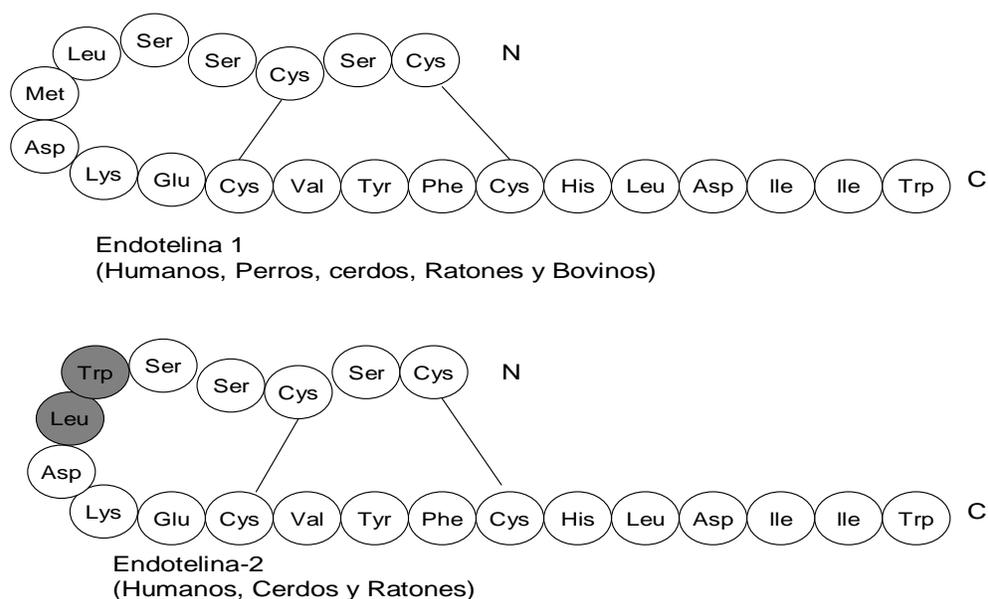
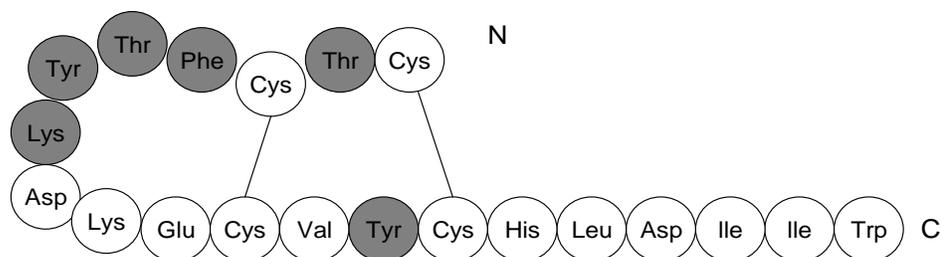


Figura 6a. Estructura y homología de las endotelinas, cadenas peptídicas de 21 aminoácidos ET-1 y ET-2.



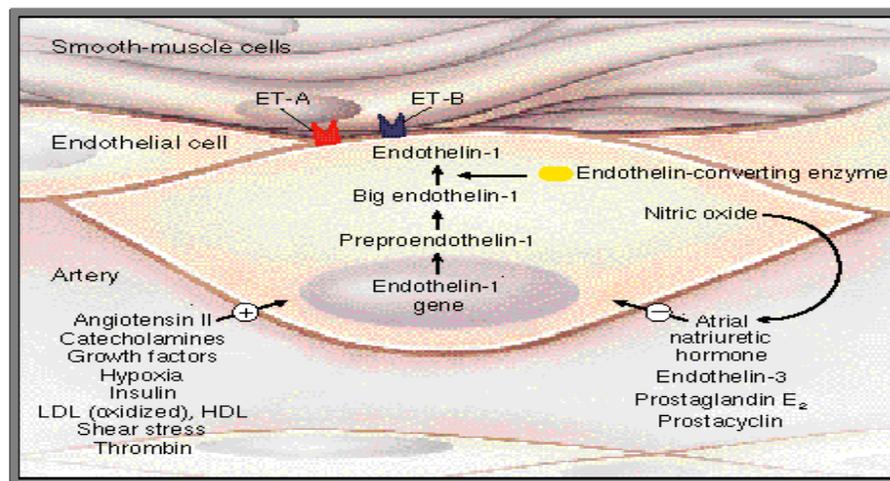
Endotelina-3
(Humanos, Cerdos, Ratas y Conejos)

Figura 6b. Estructura y homología de las endotelinas, cadenas peptídicas de 21 aminoácidos ET-3.

La ET-1 es sintetizada principalmente por el endotelio, además de producirse en células del músculo liso vascular, pulmón, corazón, riñón, hígado y cerebro. (23, 24, 25). La ET-1 es la isoforma más predominante e importante de las tres estructuras peptídicas y es 10 veces más potente que la angiotensina.

7.1 Síntesis de la Endotelina.

La síntesis de endotelina está primariamente regulada a nivel transcripcional (mRNA). La transcripción de endotelinas puede estar influenciada por diversos factores como endotoxina, vasoconstricción, trombina, hipoxia, insulina, citocinas y factores de crecimiento (26, 27). La ET-1 se produce continuamente, (28) pero también se almacena en gránulos de las células endoteliales y se libera en cuestión de minutos ante estímulos generados por hipoxia, isquemia o estrés por fricción (29). La producción de ET es inhibida por el péptido natriurético atrial, estrógenos y prostaglandinas e indirectamente por heparina y vía ON por estrés por fricción (30) (Figura 7).



N Engl J Med. 1995; 333: 356-363

Figura 7. Esquema de la síntesis de endotelina en la célula endotelial.

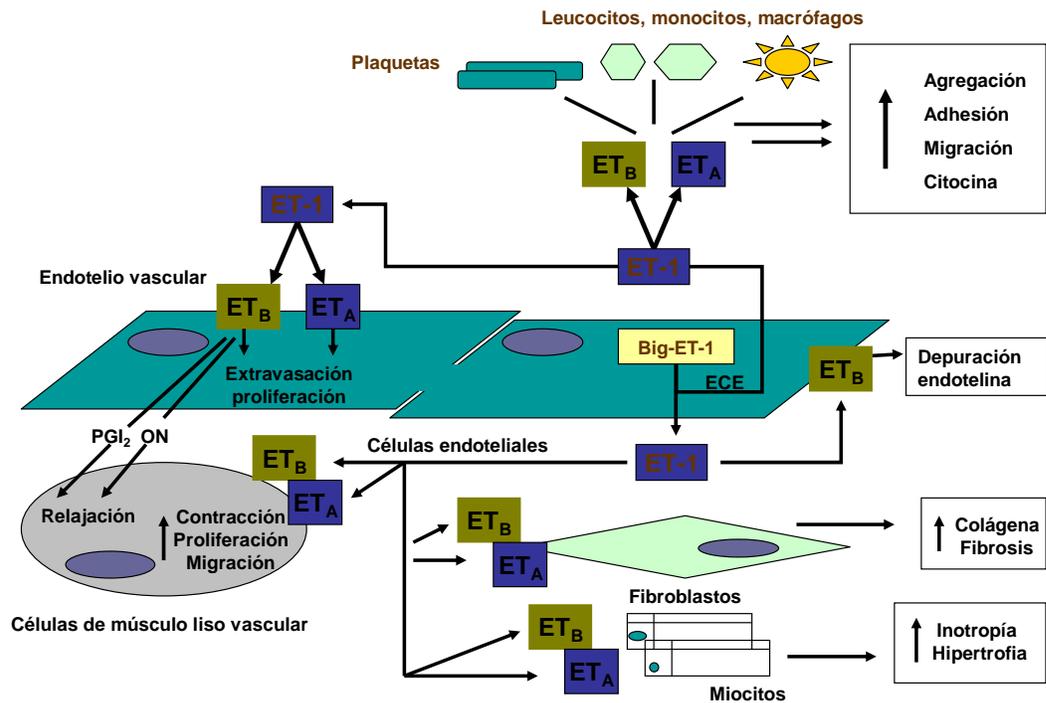
La naturaleza de estos péptidos deriva de sus grandes precursores, denominados preproendotelinas (203 a 212 aminoácidos); los cuales serán transformados posteriormente a las grandes endotelinas (big endothelin) de 38 a 41 aminoácidos (31). La protólisis de las grandes endotelinas a pequeñas endotelinas, por la enzima convertidora de la endotelina (ECE), es un paso necesario para que estos péptidos se transformen en moléculas biológicamente activas de 21 aminoácidos. El proceso de biosíntesis de ET-1 es el más caracterizado; este proceso se desarrolla en el citosol de las células endoteliales. La ET actúa localmente como una hormona paracrina y en condiciones patológicas solo pequeñas cantidades son liberadas a la circulación, pero en ciertas condiciones como sepsis los niveles circulantes se incrementan dramáticamente.

7.2 Receptores para Endotelina.

En mamíferos se han identificado dos subtipos de receptores de endotelinas denominados tipo A (ET_A) y tipo B (ET_B) ambos pertenecen a la superfamilia de receptores acoplados a proteína G, (32) a través de los cuales se medían los efectos de la endotelina. El ET_A es altamente específico para la ET-1 y está ampliamente distribuido en las células del músculo liso vascular. La unión de ET-1 al receptor ET_A produce la mayoría de los efectos vasoconstrictores de ese péptido. Ambos receptores se encuentran en el músculo liso vascular y median la contracción. Los receptores ET_B también localizados en las células

endoteliales median la vasodilatación por liberación de ON y prostaciclina. Este subtipo de receptor también es responsable de la depuración de ET-1 circulante vía endocitosis. El pulmón es el principal sitio de depuración de ET-1 (cerca del 80% de la ET-1 circulante en un solo pasaje a través de la circulación pulmonar). La Et-1 tiene igual afinidad por ambos tipos de receptores. Los receptores para ET se encuentran presentes en una gran variedad de tipos celulares en diversos órganos donde median diferentes efectos.

Ambos tipos de receptores activan a la Proteína G y fosfolipasa C iniciando una cascada de eventos mediados principalmente por inositol trifosfato y diacilglicerol. Activando canales de calcio en el retículo sarcoplásmico y una gran variedad de membranas celulares se unen a los canales de calcio provocando un incremento dramático de calcio citosólico. El incremento en el calcio induce contracción de los miofilamentos y vasoconstricción. Los receptores ET_B también activan a la fosfolipasa A con la subsecuente producción de prostaglandinas y tromboxanos, generando vasoconstricción (33). Por otra parte la estimulación de receptores ET_B libera prostaciclina e induce producción de ON el cual media la vasodilatación (Figura 8).



Masaki T. Historical review: Endothelin. Trends Pharmacol Sci 2004; 25:219-224.

Figura 8. Efectos biológicos de la ET-1 en diversos tipos celulares.

En adición, el incremento del calcio y el diacilglicerol contribuyen a la activación de la proteína cinasa C, la cual es un factor potencial para el incremento en la permeabilidad capilar pulmonar, además de mediar la actividad mitógena de la ET-1 (34, 35). Se sabe que la ET-1 activa a la Rho-kinasa A, la cual contribuye al reordenamiento del citoesqueleto en las células del músculo liso vascular (34) y posiblemente las propiedades de migración de las células endoteliales sean inducidas por estos cambios en el citoesqueleto, llevando también al incremento en la permeabilidad.

7.3 Endotelinas y Permeabilidad.

El papel de la ET-1 como modulador de la permeabilidad capilar no se conoce completamente. Diversos reportes sugieren que el incremento en la permeabilidad puede ocurrir directamente por los receptores ET_A o indirectamente por la liberación de sustancias que incrementan la permeabilidad (36, 37, 38). Sin embargo claramente la ET-1 está involucrada en la modulación de la permeabilidad de la microvasculatura aunque los efectos puedan depender del lecho capilar específico y de la patofisiología. Además se conoce la asociación entre la ET-1 y la permeabilidad sugiriendo que la ET-1 es quimioatrayente para monocitos y neutrófilos, estos hallazgos soportan la importancia de la ET-1 en estados inflamatorios.

7.4 Endotelina y pulmón.

El pulmón es el sitio donde se produce la mayor cantidad de ET-1. Aunque su producción se atribuye principalmente a células endoteliales se ha demostrado que diferentes tipos celulares en diferentes órganos pueden producir este péptido. En el pulmón la ET-1 es producida en el endotelio por células alveolares tipo II, macrófagos alveolares, epitelio bronquial y células del músculo liso vascular. La producción pulmonar de ET-1 es muy importante en estados patológicos como el asma y la fibrosis pulmonar (39, 40). Además la Et-1 está involucrada en la remodelación de la vasculatura pulmonar en hipertensión y en hipoxia crónica (41). Estos efectos de la ET-1 son responsables de su actividad mitógena. Además, se ha demostrado que las

células del músculo liso vascular pueden producir ET-1 por lo que se sugiere que éste péptido tiene un papel importante en los estados proliferativos en DPA (42, 43). El incremento en los niveles plasmáticos de ET-1 se ha reportado en pacientes con sepsis y DPA (44). Recientemente además se demostró altos niveles plasmáticos de ET-1 asociados con el incremento de agua extravascular en pacientes con sepsis. Considerando estas propiedades de la ET-1 queda muy claro el potencial de contribución en DPA, por lo cual es importante investigar el papel de la ET-1 en modelos experimentales de DPA.

8. Óxido Nítrico (ON).

En 1980 Furchgott y Zawdzki usando tiras de aorta en un baño de órganos descubrieron que el endotelio era esencial para el efecto vasodilatador de la acetil-colina. Evidenciaron que este efecto era debido a una sustancia a la que denominaron factor relajante derivado del endotelio (EDRF) (45). En 1987 Palmer y Moncada demostraron que este factor era el ON (46). El ON es un gas incoloro, escasamente soluble en agua y fácilmente oxidable. La molécula de ON tiene un peso molecular de 30 daltons. Contiene un electrón no apareado, en su capa exterior y debido a ello posee las características de un radical, lo cual explica su elevada reactividad y su tendencia a la unión con hemoproteínas reducidas. Su vida media es de 3-6 segundos, siendo el nitrito (NO₂) el producto más abundante de su catabolismo.

El Oxido Nítrico (ON) es un factor dilatador derivado del endotelio. Este vasodilatador endógeno también inhibe la adherencia y agregación plaquetaria, proliferación de células del músculo liso e interacciones célula endotelial-leucocito. El ON una vez formado difunde hacia las células adyacentes (47, 48) donde activa a la enzima guanidilciclaza (Gc) la cual provoca un aumento intracelular de Guanidin mono fosfato cíclico (GMPc), para ello se requiere la reducción del hierro (Fe^{++} del hemo). El incremento de GMPc activa una proteinquinasa que fosforila las cadenas de miosina produciéndose relajación del músculo liso vascular (Figura 9).

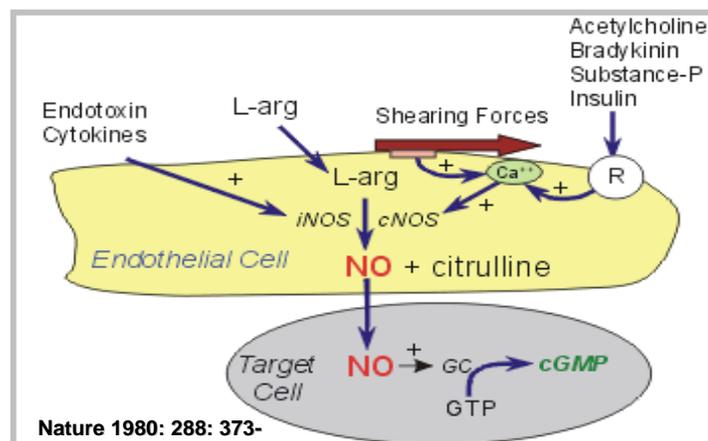


Figura 9. Representación esquemática que muestra la formación de ON por la célula endotelial. L-arg (L-arginina); iNOS (Oxido nítrico sintasa inducible); eNOS (Óxido Nítrico Sintasa constitutiva); ON (Óxido Nítrico); Ca^{++} (Calcio); GC (Guanidilciclaza); cGMP (Guanosin monofostato cíclico); GTP (Guanosin trifosfato).

El sustrato para la síntesis del ON es la L- arginina. La enzima que cataliza la formación del N a partir de L-arginina es la oxido nítrico sintasa (NOS); una dioxigenasa que existe en varias formas. La NOS cataliza la oxidación del átomo de nitrógeno de uno de los terminales de guanidino de la L-arginina generando citrulina y eliminando ON y anión superóxido. Todas las isoformas enzimáticas requieren L-arginina, oxígeno, nicotinamida adenina dinucleótido hidrógeno fosfato (NADPH) como sustratos y flavinmononucleótido (FMN), grupo hemo y tetrahidrobiopterina (BH4) como cofactores (Figura 10).

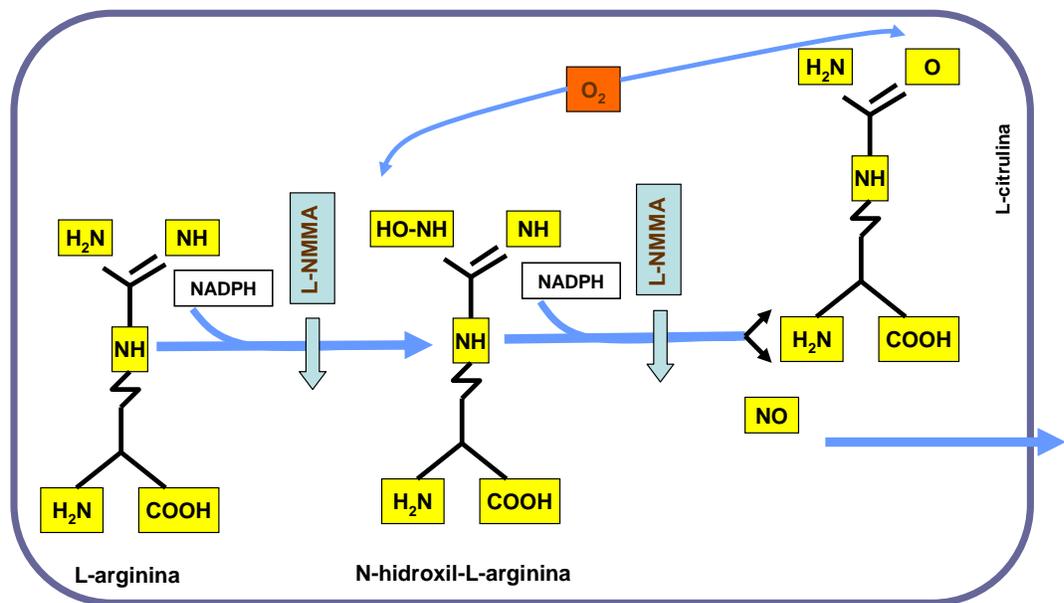


Figura 10. Formación de óxido nítrico a partir de L-arginina.

La familia de isoformas de la NOS se divide principalmente en isoforma constitutiva (cNOS) e isoforma inducible (iNOS). La cNOS requiere el cofactor Ca^+ para unirse a la calmodulina y así activarse (Ca^+ dependiente). Se conocen dos subtipos de ésta neuronal-NOS I /nNOS y endotelial –NOS III/ eNOS. Recientemente se ha aislado una cuarta isoforma a partir de hepatocitos humanos: iNOS hepática. La diferencia en la estructura bioquímica de estas enzimas radica en el terminal NH_2 . Mientras que el terminal COOH confiere la similitud entre ellas y la citocromo P459 reductasa.

El terminal nitrógeno guanidino de la L-arginina es transformada a ON por una oxidación. Se requieren cofactores: NADPH, BH_4 . El ON estimula la guanilciclase de la célula transformándose en GMP en GMPc .

Entre los factores activadores de cNOS se encuentran: acetilcolina, bradicinina, leucotrienos, factor agregador de plaquetas, aminoácidos, iones de Ca^+ , estímulo eléctrico, mastocitos, PMN y algunas neuronas. Como factores inhibidores de cNOS se han descrito al $\text{FNT}\alpha$. Factores activadores de iNOS: endotoxinas (lipopolisacaridos de las membranas celulares bacterianas) y citocinas ($\text{FNT}\alpha$, $\text{FNT}\beta$, IL-1). Los inhibidores de iNOS: glucocorticoides, citocinas ($\text{TGF}\beta$, IL-4, IL-10 etc). El L-NAME, L-NNMA tienen efecto inhibidor inespecífico sobre NOS.

Efectos biológicos del ON.

La fisiología del ON es extremadamente compleja, ya que incluye numerosas reacciones potenciales ya sea como regulador, protector o citotóxico.

Probablemente la ambivalencia del ON es la cuestión más desconocida hasta ahora y la que suscita más controversia. Esta dualidad de función se manifiesta en prácticamente todos los campos en los que está implicado. Según el lugar donde se produce, el entorno bioquímico y la concentración local de ON presente o generada, puede actuar como mensajero y en la regulación de muchos procesos fisiológicos, citoprotector contra el estrés oxidativo o reaccionar como un potente citotóxico capaz de desencadenar múltiples procesos patológicos.

9. Medidas Terapéuticas en DPA.

Hasta la fecha no existe tratamiento disponible para revertir directamente los trastornos de la permeabilidad vascular asociados al DPA. Las medidas terapéuticas están encaminadas a minimizar los factores de riesgo junto a un tratamiento de sostén dirigido a mantener el intercambio gaseoso, la perfusión tisular y el metabolismo aeróbico mientras se espera la resolución del DPA (49). Sin embargo, para tratar de revertir los problemas asociados al DPA también se han establecido muchos protocolos terapéuticos entre los que destacan la ventilación mecánica: cuyo principal objetivo es aliviar el trabajo

respiratorio, mejorar el intercambio gaseoso, actuar sobre la base fisiopatológica con un mínimo de complicaciones, adaptar el volumen y la presión adecuados a cada paciente, FIO₂ no tóxicas y evitar el daño inducido por el ventilador. Otras estrategias terapéuticas incluyen la utilización de un numeroso grupo de medicamentos entre los que se destacan los siguientes:

- Antiinflamatorios esteroides; El papel de los corticosteroides en DPA, ha sido tema de debate en la literatura por diversas décadas. Estudios anteriores no han podido demostrar efectos benéficos utilizando altas dosis de esteroides para el tratamiento de DPA en etapas tempranas. Sin embargo estudios recientes sugieren que el tratamiento a bajas dosis de esteroides por tiempo prolongado puede ser útil, pero la duración del tratamiento y dosis no se han establecido, actualmente sólo están indicados en la fase tardía (Fibrótica) de dicha afección (50, 51, 52, 53).
- Surfactante exógeno; los ensayos clínicos con su uso son escasos y controvertidos, que si bien han podido en pequeñas series demostrar cierto beneficio, permanecen sin determinar su valor de disminuir la mortalidad (54, 55, 56).
- La indometacina, un inhibidor de la síntesis de Tromboxano B₂, que mejora la oxigenación en neumonía de origen bacteriano (57).
- Ketoconazol, como inhibidor de la síntesis de tromboxanos e inhibición de leucotrienos, pero no se ha establecido que mejore el funcionamiento pulmonar ni la sobrevivencia (58).

- Prostaglandina E1, metabolito derivado de la cascada del ácido araquidónico bloquea la agregación plaquetaria, causa vasodilatación y modula la respuesta inflamatoria, en estudios en humanos el fármaco no modifica el intercambio gaseoso, días ventilador, morbilidad y mortalidad (59, 60, 61).

- ON inhalado ha sido utilizado en el tratamiento mejorando las alteraciones de Ventilación-perfusión, produciendo vasodilatación pulmonar y efectos antiproliferativos (62, 63, 64). Además en la circulación pulmonar, la administración de ON inhalado previene la acumulación de neutrófilos y la disfunción endotelial vascular en DPA producido por isquemia-reperfusión.

En algunos estudios el ON inhalado tuvo propiedades antiinflamatorias por la disminución de infiltración de neutrófilos en DPA inducido por sepsis, pero se necesitan investigaciones para determinar las indicaciones, dosis y resultados finales con su uso (65).

Aunque la hipertensión pulmonar es una de las principales características, sorprendentemente pocos estudios ha sido dirigidos a la reducción de la hipertensión pulmonar o particularmente a la presión capilar pulmonar. Se ha demostrado que el sistema Endotelina (ET-1) tiene un papel primordial en los desórdenes hipertensivos. Incluyendo al DPA. La eficacia del uso de antagonistas de los receptores ET ha sido comprobada para reducir la hipertensión pulmonar. Además, en estudios experimentales se ha visto la capacidad de reducir la hipertensión pulmonar (66, 67).

En los últimos años se ha propuesto la utilización de otros fármacos como fuentes alternas potenciales de tratamiento para el DPA.

9.1 Arginina.

La L-arginina (ácido 2-amino-5 guanidino-pentanoico) es considerada un aminoácido (aa) no esencial bajo condiciones fisiológicas, pero se convierte en un aa condicionalmente esencial en situaciones de estrés y tiene un papel importante en el metabolismo intermediario de los pacientes críticos y tanto el metabolismo de la arginina así como su disponibilidad está afectada en pacientes críticos (68, 69).

La L-arginina está disponible en el cuerpo por síntesis endógena (vía L-citrulina conversión que ocurre en el riñón), degradación de proteína endógena y dieta rica en proteína (dieta solo contribuye del 20-25% del aporte total de arginina). La arginina es un prominente intermediario en la síntesis de poliaminas (crecimiento celular y proliferación) y síntesis de prolina (cicatrización de heridas y síntesis de colágeno) y es el único sustrato biosintético para la producción de ON vía eNOS, iNOS y nNOS. El ON es una molécula de señalización potente que influencia virtualmente cada célula de los mamíferos. La arginina también sirve como un potente modulador de la respuesta inmune vía proliferación y diferenciación de los linfocitos (70). Así como también presenta acción bactericida vía Arginina-ON (71).

Como ya se mencionó, mientras que la síntesis en novo y el aporte en la ingesta están reducidos en pacientes críticos, hay un incremento en la demanda en estos pacientes y esta dado principalmente por una “up regulation” de arginasa, siendo recientemente el foco de atención por su importancia en la

reducción de los niveles de ON, presumiblemente por reducción de la L-arginina disponible (72).

La pérdida o deficiencia de ON derivado del endotelio en DPA tiene un papel importante en el tono muscular liso ya que favorece la contracción, además una deficiencia de ON representa una exagerada lesión vascular asociada con neutrófilos ya que el ON derivado del endotelio funciona como un modulador de la adhesión de los neutrófilos a las células endoteliales (73). En cambio la administración exógena de L-arginina estimula la vía ON-GMPc, atenuando la disfunción vasomotora en diversos modelos de lesión vascular.

Por lo tanto, se debe considerar un nuevo potencial terapéutico de la L-arginina en DPA.

9.2 Propofol.

Recientemente se ha descrito que el propofol (2,6- diisopropilfenol) además de ser un agente anestésico, sedante/hipnótico de rápida metabolización, utilizado en las unidades de cuidados intensivos, con gran aceptación a nivel mundial, debido a su rápida metabolización y pronta recuperación del paciente (74), inhibe la activación y migración de los neutrófilos (75, 76), disminuye la agregación plaquetaria (77) y la liberación de citocinas proinflamatorias (78, 79, 80), actúa como antioxidante (81, 82), modula la actividad endotelial de Oxido Nítrico (83) y a dosis elevadas atenúa el DPA por endotoxemia (84, 85, 86) todo esto sugiere que pueda ser utilizado para atenuar el DPA.

10. Modelo de DPA inducido por Ácido Oleico (AO).

Muchos modelos animales han sido utilizados para estudiar esta importante entidad clínica, uno de los más importantes es en el que se utiliza ácido oleico debido a que provoca muchas similitudes biológicas y patológicas presentes en el humano (87), éstas son: la presencia de una fase exudativa, proliferativa y fibrótica, reacción inflamatoria, secuestro de células circulantes, incremento de la permeabilidad alveolar e hipertensión pulmonar (88).

Originalmente el AO se utilizó como un modelo de embolismo graso, su uso como inductor de DPA se conoció después de que Ashbaugh y Usawa lo utilizaran para producir un modelo de edema pulmonar no cardiogénico (89).

Actualmente el AO se utiliza como modelo para las consecuencias del DPA debido a que no necesita una respuesta inflamatoria que inicie el daño alveolar. Sin embargo, a pesar de su amplia utilización el modelo de DPA inducido por AO no ha podido ser estandarizado (90), debido a que una sola inyección intravenosa produce aumento en la permeabilidad vascular tanto a dosis bajas como altas, administrado en bolo, fraccionado o en infusión continua, diluido con etanol o saponificado con solución salina. Cada una de estas variantes altera la extensión y severidad del daño lo que provoca diferentes consecuencias patológicas (89).

II. Justificación.

El Daño pulmonar agudo (DPA) constituye una patología de alta morbimortalidad en las Terapias Intensivas y ocurre como resultado a una gran variedad de lesiones al pulmón. La defensa del organismo frente a una agresión celular y humoral es un delicado sistema cuyo equilibrio puede verse afectado por la enfermedad. Leucocitos, macrófagos, linfocitos, plaquetas, células endoteliales se activan, iniciando una serie de acontecimientos que pueden resultar en curación o agravar el daño inicial. El pulmón por sus características histológicas y funcionales es un órgano con gran potencial para resultar afecto y una importante fuente de mediadores inflamatorios que pueden contribuir al fallo de órganos a distancia. A pesar de los múltiples avances que han existido en el manejo ventilatorio de estos pacientes, la estrategia óptima de ventilación y las terapias adjuntas para pacientes con DPA y SDRA están aún por definirse, las mismas han cobrado una importancia capital en los cuidados intensivos modernos, teniendo en cuenta que por esta razón puede prolongarse la estancia dentro de las unidades de terapia Intensiva. El DPA se caracteriza por hipoxemia severa que amenaza la vida del paciente debido a alteraciones en la relación ventilación perfusión. Los resultados fundamentales de esta alteración es la formación de atelectasias que aparecen secundariamente a la inflamación del tejido pulmonar afectado y este proceso inflamatorio en general no está

restringido solamente al sistema respiratorio sino que pueden verse afectados otros órganos así como aparecer compromiso hemodinámico. Por lo tanto Debido a que actualmente no existe ninguna medida específica para tratar el DPA, resulta de vital importancia encontrar medidas profilácticas y/o terapéuticas que atenúen el DPA.

III. Hipótesis.

La utilización de propofol y L–arginina promoverá un estado antiinflamatorio, antiagregante y antitrombótico del endotelio, que permitirá atenuar las lesiones en el DPA.

IV. Objetivos.

La presente tesis ha sido planteada hacia un objetivo general y una serie de objetivos específicos derivados del primero:

1. Objetivo General

Determinar los cambios hemodinámicos, gasométricos, radiográficos, macroscópicos, microscópicos, la expresión de ET-1, y de receptores para ET-1 (ET_B) por inmunohistoquímica, producidos en un modelo experimental canino de DPA inducido por ácido oleico, tratado con propofol y L- arginina.

2. *Objetivos Específicos*

En los grupos de estudio I (Testigo); II (Ácido oleico); III (tratamiento con Propofol) y IV (tratamiento con L-arginina):

- 2.1** Evaluar los cambios hemodinámicos
- 2.2** Evaluar los cambios gasométricos
- 2.3** Valorar los cambios radiográficos
- 2.4** Valorar los cambios macroscópicos
- 2.5** Valorar los cambios microscópicos
- 2.6** Determinar la expresión de ET-1 y ET_B en Tejido Pulmonar

V. Material y Métodos

1. Diseño del Estudio

1.1 Características Generales.

Se trata de un estudio experimental, prospectivo, longitudinal, clasificado de acuerdo a Cohan en: Diseño Experimental en Bloques Balanceados, realizado íntegramente en la Unidad de Cirugía Experimental del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Ismael Cosío Villegas". (INER) y aprobado por el Comité de bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (UNAM) y del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

2. Animales de Experimentación.

Se utilizaron 24 perros mestizos sanos, adultos, sin importar el sexo, con un peso entre 15 y 20 Kg. El empleo del perro en este tipo de modelo está lo suficientemente documentado en la literatura científica, dadas las similitudes anatómicas y funcionales con la especie humana.

Todos los animales se mantuvieron en las mismas condiciones ambientales. Estuvieron confinados en jaulas individuales con un área de piso de 90 cm de ancho x 3.5 m de largo y una altura de 2.70 m alto con comederos y bebederos individuales localizados en la puerta frontal a una distancia del piso de 40 cm

para evitar contaminación con excretas, con disposición de agua y alimento ad libitum. Asimismo se encontraban protegidos de las condiciones climáticas extremas y siempre estuvieron bajo la supervisión de un Médico Veterinario Zootecnista. Todos los animales fueron tratados de acuerdo a las Especificaciones Técnicas para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (91). Y de la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals de los Estados Unidos de Norteamérica (92).

2.1 Criterios de inclusión

Se incluyeron animales clínicamente sanos, que no presentaron antecedentes patológicos durante su estancia en el bioterio del INER y previos al procedimiento o con antecedentes de alguna cirugía.

2.2 Criterios de eliminación

Todo animal con signos clínicos que no fueran provocados por el procedimiento fue eliminado del estudio.

3.- Consideraciones Éticas

El estudio fue conducido de acuerdo a los lineamientos de investigación en animales de Laboratorio, (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals de

los Estados Unidos de Norteamérica) de los Estados Unidos de Norteamérica y también por lo descrito en la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999). Asimismo fue revisado y aprobado por el comité de Bioética y el comité Científico del INER y de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UNAM.

4.- Grupos de estudio

Los animales fueron divididos en 4 grupos de estudio incluyendo al grupo control:

Grupo I (n=6)	Testigo
Grupo II (n=6)	Inducción de DPA con AO
Grupo III (n=6)	Inducción de DPA con AO y tratamiento con Propofol
Grupo IV (n=6)	Inducción de DPA con AO y tratamiento con L-arginina

Protocolo de Estudio

5.- Preparación del Modelo Experimental

5.1 Anestesia

Cada experimento se inició con 24 horas de ayuno para sólidos y de 12 horas para líquidos de los animales y con el pesaje de los mismos.

Posteriormente tras la cateterización de una vena periférica (Safena izquierda) mediante un angiocatéter se les administró en una inyección intravenosa premedicación e inducción anestésica consistente de una mezcla de clorhidrato de tiletamina y zolazepam (Zoletil 50 Virbac S.A. Guadalajara, México) 8 mg/kg IV Fentanilo (Janssen, México) 0.02mg/kg IV, atropina (Atropisa, PISA, Guadalajara, México) 0.02 mg/kg IV, acepromacina (Calmivet Vétoquinol S.A., Cedex, Francia) 0.02 mg/kg IV.

Posterior a esto los animales fueron colocados sobre la mesa de cirugía en posición decúbito dorsal y se intubaron con una sonda orotraqueal, conectada a un ventilador de volumen (Harvard Apparatus, Boston MA, USA) con un vaporizador (Isotec 3 Ohmeda). La anestesia se mantuvo durante todo el estudio con isoflurano al 1.5% (Laboratorios PISA, Guadalajara, Jalisco, México) (Figura 11).

Acto seguido se procedió a la tricotomía y lavado con jabón quirúrgico de la región cervical ventral, la región inguinal derecha, y región torácica, finalmente se realizó la antisepsia de la zona con yodo povidona (Dermodine Solución, Dermodex S.A. de CV.).

Además recibieron un aporte de líquidos intravenosos a razón de 10 ml/kg/h de solución Hartman (Laboratorios PISA S.A. de C.V. Guadalajara, Jalisco, México).

En todos los animales el régimen ventilatorio se controló a lo largo de todo el procedimiento, y se aplicaron los siguientes parámetros:

- Volumen corriente: 10 ml/Kg de peso corporal

- Frecuencia Respiratoria: 20 respiraciones por minuto
- Fracción inspirada de oxígeno (FiO_2): 100%

A continuación se procedió a la monitorización y colocación de los distintos catéteres, realizándose el registro basal de los parámetros.

5.2 Cateterismos

Mediante disección quirúrgica se colocaron catéteres de polivinilo de una sola luz de 30 cm. de longitud (Cordis Corp, Johnson & Johnson, CA, USA) en la arteria y vena femoral derecha, para el registro de las presiones arteriales sistémicas (PAS) con un monitor de electrocardiografía (Datacospe Passport, New Jersey, USA), infusión de AO para inducción del DPA, toma de muestras sanguíneas para gasometrías que se realizaron con un gasómetro (AVL Compact 2, Blood gas analyzer) y para la administración de Propofol (Diprivan, AstraZeneca, Milán, Italia) en el grupo III y L- arginina (Sigma-aldrich, Steinheim, Germany) en el grupo IV (Figura 11).

A través de la vena yugular derecha se dirigió a la arteria pulmonar un catéter de termodilución de 5F (Swan Ganz, Standard Thermodilution Balloon Catheter, Edwards Lifesciences, Ontario, Canadá), para el registro de gasto cardiaco (Hemodynamic Profile Computer Spectramed model SP-1445, Oxnard, CA-USA), presiones pulmonares (PAP) y presión venosa central (PVC) con el monitor de electrocardiografía (Figura 11).

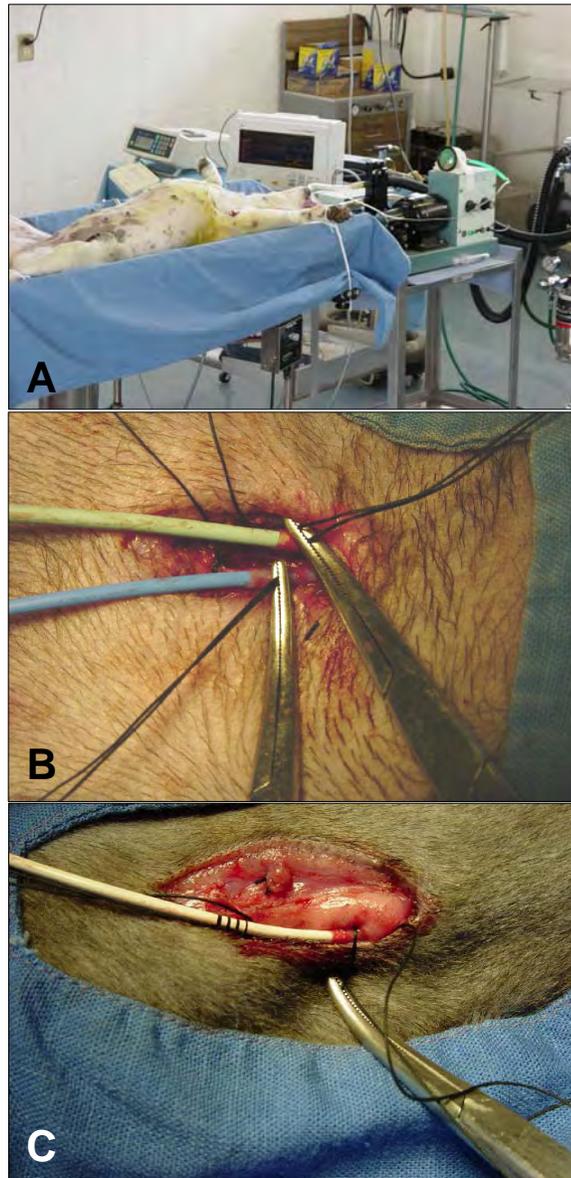


Figura 11. Fotografías que muestran: A) al animal de experimentación colocado sobre la mesa de cirugía conectado al ventilador y monitor cardíaco, B) inserción de catéteres femorales arterial y venoso derechos para determinación de parámetros hemodinámicos y gasométricos, Fotografía que C) inserción del catéter Swan Ganz en vena yugular derecha para determinación de parámetros hemodinámicos.

El catéter Swan Ganz de 70 cm de longitud, con un balón en la punta de 0.5 cm³ de capacidad y tres luces: una para inflar el balón, otra con apertura en el extremo distal (puerto distal) y la tercera con apertura lateral a 15 cm del extremo (puerto proximal). Se introduce con la ayuda del balón inflado (que es arrastrado por la corriente sanguínea) y del registro de las presiones intravasculares (aurícula derecha, ventrículo derecho, arteria pulmonar y posición de oclusión).

5.3 Determinaciones

Las determinaciones de los parámetros hemodinámicos, gasométricos y plasmáticos fueron realizadas en los siguientes tiempos:

0	Previa a la inducción del Daño pulmonar
1 ^a .	15 minutos (inmediata a la administración del AO)
2 ^a	30 minutos (Posterior a la administración del AO)
3 ^a .	45 minutos (Posterior a la administración del AO)
4 ^a .	60 minutos (Posterior a la administración del AO)
5 ^a .	75 minutos (Posterior a la administración del AO)
6 ^a .	90 minutos (Posterior a la administración del AO)

7 ^a .	105 minutos (Posterior a la administración del AO)
8 ^a .	120 minutos (Posterior a la administración del AO)
9 ^a .	135 minutos (Posterior a la administración del AO)
10 ^a	150 minutos (Posterior a la administración del AO)
11 ^a	165 minutos (Posterior a la administración del AO)

A los 165 minutos, después de la última determinación, se procedió a realizar la eutanasia de los animales con sobredosis de Pentobarbital Sódico (Anestesal, Pfizer S.A. de C. México) Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Después se practicó esternotomía y se tomaron muestras de tejido, para hacer la evaluación histológica y determinar la expresión de ET-1 y ET_B por Inmunohistoquímica, además se tomaron los lóbulos pulmonares caudales derecho e izquierdo para cuantificar el edema pulmonar mediante análisis gravimétrico.

5.4 Inducción del Daño pulmonar Agudo

Para la inducción del DPA en los grupos II, III y IV posterior a la medición de los valores hemodinámicos, gasométricos y radiográficos basales, se administró AO (cis -9- ácido octadenoico; Sigma Aldrich, Germany) a dosis de 0.09mL/kg, en una solución (1:1) de AO y etanol diluido en cbp 10 ml de dextrán 40 (Rheomacrodex, PISA, S.A. DE C.V., Guadalajara JAL, México).

Este volumen fue administrado intravenosamente con un flujo constante de 0.5ml/min., a través del catéter femoral venoso con el puerto localizado en la vena cava, durante un periodo de 20 minutos seguido por un lavado del catéter con 10 ml de solución salina, con una bomba de infusión (Syringe Pump model 351, Sage Instruments, Division of Orion Research incorporated, Cambridge, Mass USA)

Se consideró que había daño pulmonar agudo cuando se presentó:

1. Hipoxemia ($\text{PaO}_2/\text{FIO}_2 < 300$).
2. Presión de la arteria pulmonar en cuña (PAWP) ≤ 18 .
3. Infiltrados alveolares bilaterales en placa simple de tórax (5).

6.- Tratamiento

- EL grupo III recibió propofol (Diprivan, AstraZeneca, Milán, Italia) 10 mg/kg/hr durante 60 minutos antes de la infusión de AO para determinar si éste atenúa el DPA producido por AO. Esta dosis de propofol fue seleccionada de acuerdo al reporte de dosis altas utilizada por Hyun (93).
- El grupo IV recibió L- arginina (Sigma-aldrich, Steinheim, Germany) 0.125g/min por 120 minutos (94) administrados en 250ml de SSF por vía IV 60 minutos antes después de la infusión de AO para determinar si la L- arginina atenúa el DPA producido por AO.

7. Evaluación

7.1 Evaluación Hemodinámica

Algunos de estos parámetros se obtuvieron mediante medición directa y otros se derivaron de éstos con la aplicación de fórmulas matemáticas.

Parámetros medidos:

- **Frecuencia Cardíaca (FC).** Expresada en latidos por minuto
- **Presión Arterial Sistólica (PAS), Diastólica (PAD) y Media (PAM).** Obtenidas mediante el catéter colocado en la arteria femoral derecho. Se expresó en Milímetros de mercurio (mmHg).
- **Presión venosa Central (PVC).** Mediante el catéter situado en la yugular derecha. Se expresa en mmHg.
- **Presión Arteria Pulmonar Sistólica (PAPS), Diastólica (PAPD), Media (PAPM),** Mediante el catéter Swan Ganz con el balón desinflado se expresa en mmHg.
- **Presión de Arteria Pulmonar en Cuña (PAWP).** Como medida de estimación de la presión capilar pulmonar, se obtuvo al inflar el balón del extremo del catéter Swan Ganz. Se expresa en mmHg.
- **Gasto Cardíaco (GC).** Se determinó mediante la técnica de termodilución. El indicador frío (5 ml de solución salina al 0.09% entre 0 y 5°C se inyectaron a través del puerto proximal del catéter venoso colocado en la vena cava superior. La señal térmica era detectada por el termistor colocado en el extremo distal del catéter. Se expresó en litros por minuto.
- **Cortocircuito (QS/QT).** Para determinar la ventilación/Perfusión. Se reportó en %.
- **Resistencias Vasculares Pulmonares y Resistencias Vasculares Sistémicas (RVP, RVS).** Parámetros derivados, expresados en $\text{dinas/segundo/cm}^5$

7.2 Evaluación Gasométrica

Se tomó 1 ml de sangre arterial y venosa con jeringas heparinizadas y se procesaron inmediatamente en el analizador de gases (AVL Compact 2, Blood gas analyzer) y se obtuvieron los siguientes parámetros:

- **Presión arterial y venosa de oxígeno (PaO_2), (PvO_2).** Expresada en milímetros de mercurio (mmHg)
- **Presión arterial y venosa de Dióxido de Carbono ($PaCO_2$), ($PvCO_2$),** en mmHg.
- **pH.** Representa el estado de homeostasis ácido base del medio interno. Sin unidades.

7.3 Evaluación Radiológica

Se realizaron radiografías simples de tórax en proyección ventrodorsal antes de la inducción del DPA, 60 y 150 minutos después de la administración del AO para valorar el patrón alveolar pulmonar. La presencia de imágenes con opacidades se cuantificó de acuerdo a la extensión de éstas y se reportó en una escala del 0 al 4.

Grado 0	Sin opacidades
Grado 1	Opacidades del 25%
Grado 2	Opacidades del 26 al 50%

Grado 3	Opacidades del 51-75%
Grado 4	Opacidades del 76 al 100%

El grado fue determinado de manera independiente por tres investigadores y se obtuvo un promedio.

7.4 Evaluación Macroscópica.

Al concluir el tiempo de estudio, los animales se sometieron a eutanasia con sobredosis de Pentobarbital Sódico (Anestosal, Pfizer S.A. de C.V. México) (91), se realizó esternotomía para valorar la presencia o no de edema y/o hemorragia pulmonar.

7.5 Evaluación Microscópica

Se tomaron muestras de los lóbulos pulmonares y se fijaron en formaldehído al 10%, se incluyeron en parafina, se les realizaron cortes de 4 μ y se tiñeron con hematoxilina-eosina (H&E). Se analizaron en microscopia de luz para determinar la formación de edema, colapso alveolar, hemorragia, congestión, membranas hialinas, infiltrado de neutrófilos y formación de microtrombos. Los resultados fueron clasificados en cuatro grados: Grado 0: histología normal; Grado 1: leve; Grado 2: Moderado; Grado 3: Severo. (95)

7.6 Determinación de Edema pulmonar

Los lóbulos pulmonares caudales frescos derecho e izquierdo de cada animal fueron tomados para la cuantificación del edema pulmonar mediante

análisis gravimétrico: relación de peso pulmón húmedo/pulmón seco (H/S) los pulmones fueron pesados y colocados en una estufa para su desecación a temperatura constante (60-65°C) durante 15 días. Y fue calculado así:
Ganancia de Peso del pulmón = (Peso del pulmón final (PH)- Peso del pulmón inicial (PS))/ Peso del pulmón inicial.

7.7 Evaluación Inmuhistoquímica.

Determinación de la expresión de ET-1 y ETB.

Las muestras fueron tomadas de tejido pulmonar después de la eutanasia de los animales. Se realizaron cortes de 3 micras y se montaron en las laminillas silanizadas, se desparafinaron durante 20 minutos a 80 °C y se deshidrataron mediante transferencia en xilol 5 minutos a alcohol absoluto durante 1 min., después se colocaron en la cámara de recuperación de antígenos con buffer de citratos pH: 6 para ET-1 y para receptores ETB TRIS-HCL pH: 10 y se metieron al horno de microondas 5 minutos a punto de ebullición, se dejó enfriar y se lavaron con TBST 3 veces por 3 minutos. La peroxidasa endógena se removió con suero bloqueador y peróxido de hidrógeno durante 10 min., se lavó nuevamente con TBST. Una vez eliminada la peroxidasa endógena, la determinación se realizó utilizando el sistema Biotina-Streptavidina-peroxidasa, (Vectastain Universal Quick Kit, Burlingame, CA), las secciones de tejido fueron incubadas con el anticuerpo primario (Monoclonal Antibody RDI Research Diagnostics, Inc ANTI-Endothelin Receptor A & B, Mouse anti-Endothelin 1 Receptor y Endothelin-1) diluido en

un buffer (suero bloqueador) durante 24 horas a 4°C, pasado este tiempo fueron lavadas nuevamente con TBST 3 lavados de 3 minutos cada uno y se procedió a la incubación con el segundo anticuerpo biotilnado universal (Vectastain Universal Quick Kit, Burlingame,CA) 10 minutos, lavándose al final 3 tiempos 3 minutos cada tiempo, fueron incubadas con streptavidina/peroxidasa (Vectastain Universal Quick Kit Burlingame,CA) por 10 minutos y se lavaron como ya se describió, se utilizó AminoetilCarbazol (AEC substrate Pack Biogenex, San Ramón CA, USA) como revelador durante 5 minutos y finalmente se trataron con Hematoxilina para virar el contraste.

La expresión de ET-1 y ETB-r en tejido pulmonar fue evaluada usando un método semicuantitativo. Se consideró una escala de 0 a 3:

Grado 0	Ausencia de tinción
Grado 1	Tinción positiva asociada con <10% de las células
Grado 2	Presencia de tinción del 10% a 30% de las células
Grado 3	Tinción del > 30% de las células.

VI. Análisis de datos

Los datos fueron expresados como media \pm desviación estándar. El análisis de la varianza (ANOVA) se utilizó para analizar el nivel de significación tanto entre los grupos como entre los diferentes tiempos de medida (ANDEVA de doble vía). Si existía significación estadística se aplicaba análisis de comparaciones múltiples Dunnett. El análisis de la microscopia, inmunohistoquímica y radiología se evaluó usando la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.

El análisis estadístico se realizó mediante el programa estadístico SPSS versión 15.0 (SPSS inc. Chicago Illinois). Se consideró estadísticamente significativo un valor de p menor de 0.05 ($p < 0.05$).

VII. Resultados.

Todos los animales sobrevivieron al tiempo de estudio. Después de realizar las evaluaciones hemodinámica, gasométrica y radiográfica se observó que el DPA se desarrollo en el 100% de los grupos II, III y IV 60 minutos después de la administración de AO.

1.- Hallazgos Hemodinámicos.

Los parámetros hemodinámicos medidos tales como: (FC, GC, PAD, PAS, PAM y PAPS, PAPD y PAWP) en todos los grupos permanecieron estables durante el tiempo de estudio (Cuadros 3 , 4, 5, 6).

Cuadro 3. Resultados de la Frecuencia Cardiaca (latidos.min) en los cuatro grupos.

Tiempo de evaluación Minuto	Testigo Grupo I	AO Grupo II	Propofol Grupo III	L-arginina Grupo IV
0	112±15.46	120±24.48	100.2±16.06	101.8±16.45
15	115.33±13.95	144.5±49.89	116.4±13.5	93±14.31
30	118.67±15.92	134±37.01	118±21.6	117.6±48
45	118.17±18.33	139.83±50.54	117.6±17.17	102.32±10.84
60	115.5±14.25	109.33±5.27	119.8±21.32	101.4±10.9
75	119±11.41	124±19.07	117.6±18.31	108.2±11.32
90	111.67±15.68	114.67±18.56	119±17.86	102.4±10.23
105	112.5±12.34	112±14.88	119±14.63	100.2±11.84
120	107.67±12.4	114.67±23.59	122.4±16.77	100±13.47
135	111.33±9.95	119.5±12.66	123±19.46	98±12.18
165	113±9.83	124±41.27	129±17.39	98.4±12.9

Promedios ± DES. p=NS

Cuadro 4. Resultados del Gasto Cardíaco (L. min) en todos los grupos.

Tiempo de evaluación Minuto	Testigo Grupo I	AO Grupo II	Propofol Grupo III	L-arginina Grupo IV
0	2±0.9	1.5±0.3	1.9±0.6	1.9±0.9
15	1.9±0.5	1.1±0.2	1.7±0.5	1.1±0.2
30	2.3±0.9	1.2±0.3	2.2±1.3	1.5±0.8
45	2.4±0.9	1.4±0.5	2.2±1.4	1.5±0.6
60	2.4±1.1	1.6±0.8	2±1.5	1.5±0.7
75	2.5±0.3	1.7±0.8	2.1±1.6	1.6±0.81
90	2.5±1.3	1.7±0.7	2.1±1.8	2±1.0
105	2.2±1.4	1.6±0.8	2.6±2.1	1.9±1.1
120	1.9±1.1	1.7±0.6	2.1±1.4	1.4±1.0
135	2.2±1.3	1.7±0.6	2.1±1.1	1.9±1
150	2.1±1.4	1.4±0.4	2.1±1.1	1.8±0.7
165	2.1±1.3	1.2±0.4	2±1.1	1.7±0.7

Promedios ± DES. p=NS

Cuadro 5. Resultados de la Presión Arterial Media (mm Hg) en todos los grupos.

Tiempo de evaluación Minuto	Testigo Grupo I	AO Grupo II	Propofol Grupo III	L-arginina Grupo IV
0	57.83±12.7	78±23.42	69±7.3	61.8±7.29
15	55±14.07	68±14.61	59.8±20.09	64.8±21.47
30	56.66±12.89	73±23.18	67.6±18.47	74.6±21.7
45	55.83±12.12	70.33±21.26	70.4±25.44	64.6±9.3
60	62.16±13.79	75.5±28.54	70.8±21.64	64.6±12.09
75	59.5±15.73	64.5±26.48	64.33±19.68	63.6±11.5
90	64.5±12.07	73.5±20.44	67.2±28.58	68.2±15.92
105	64.33±13.55	67.5±24.18	69±31.87	66.2±7.8
120	62±11.52	64.66±15.61	69±32.88	62.6±19.08
135	70.16±13.01	63±19.79	71.8±28.01	59.6±15.97
150	56.66±10.34	73±19.41	67.6±17.28	57±12.46
165	68.16±10.08	61±26.99	64.6±14.5	53.8±13.98

Promedios ± DES. p=NS

Cuadro 6. Resultados de la Presión de oclusión de Arteria Pulmonar (mm Hg) en los cuatro grupos.

Tiempo de evaluación Minuto	Testigo Grupo I	AO Grupo III	Propofol Grupo III	L-arginina Grupo IV
0	5.6±1.5	6.6±1.6	5.8±2.5	6.4±1.6
15	6.8±2.1	7±1.2	7.2±3.3	5.4±2.8
30	7.1±1.8	7.1±2.4	6±2.1	7.2±1.7
45	7.1±0.98	7.6±2.1	6.8±2.1	5.4±1.5
60	7.6±1	7±1.4	6.8±2.7	6.2±2.4
75	7.3±1.7	8.3±3	5.8±2.3	6.6±1.5
90	7.6±1.8	8.3±2.5	5.8±2.1	6.8±2.4
105	7.1±1.6	7.8±2.4	6.4±2.7	7.2±2.16
120	7.6±1.8	7.8±2.4	6.6±2.07	8.8±1.3
135	8.1±2.3	7.5±3.7	7±1.8	8.8±1.3
150	7.5±2.4	7.6±2.3	6.8±2.1	8.8±1.4
165	7.5±2.4	7.8±3.1	6.8±2.1	8.8±0.83

Promedios ± DES. p=NS

Hemodinámicamente en los grupos II, III, se observó incremento de la PAPM a partir de los 15 minutos posteriores a la administración de AO rebasando los límites de referencia, sin embargo a partir del minuto 90 se mostró incremento importante que se mantuvo hasta el final del estudio en comparación con el grupo control (ANDEVA $p < 0.05$). Al comparar entre los grupos II y III esto no fue significativo ($p = NS$ ANDEVA). El grupo IV mostró una disminución de la PAPM a

partir del minuto 45 que se mantuvo hasta el final del estudio. (P = NS ANDEVA).
(Cuadro 7).

Cuadro 7. Resultados de la Presión Media de Arteria Pulmonar (mm Hg) en los cuatro grupos.

Tiempo de evaluación Minuto	Testigo Grupo I	AO Grupo II	Propofol Grupo III	L-arginina Grupo IV
0	12.5±2.3	12.83±1.9	12.4±4.7	12.6±2.5
15	13.33±2.5	15.66±3.3	14.4±6.1	13±3.2
30	13.83±1.4	15±4.4	18.2±8.8+	13.8±2
45	14±1.7	15.16±3.3	16.6±7.2*	13.4±2.07
60	15±2.8	17.66±6.2*	17±8.8*	14.6±2.3
75	14.83±1.4	16.83±4.7*	16±7.3*	14.6±1.8
90	15±2.4	17.33±4.2*	15.8±7.7*	14±2.5
105	15.16±2.6	17.16±4*	17.4±8.5*	13.8±2.6
120	14.16±2.9	17.66±3.6*	17.6±8.6*	14.8±3.2
135	16.16±3.1	17.33±4.2*	18±8.4*	15.4±3.2
150	14.66±3	16.66±4.5*	18.8±9.1*	15.4±3.6
165	15.33±2.5	16.16±3.9*	18.2±8.3*	15.6±3.1

Promedios ± DES. *P<0.05

Las RVP también presentaron incremento significativo ($p < 0.01$ ANDEVA, Dunnet) en los grupos II y III vs. Grupo I, a los 15 minutos posteriores a la administración del AO y este incremento se mantuvo hasta el final del estudio. Cuadro 1. Al comparar entre los grupos II y III no se observó diferencia ($p = NS$,

ANDEVA). El grupo IV tuvo un incremento a partir del minuto 15, pero a partir del minuto 75 la PVR disminuyó aproximándose sin alcanzar a los valores del grupo I. ($p = \text{NS ANDEVA Dunnet}$) vs Grupo I. Sin embargo hubo diferencia estadísticamente significativa al comparar entre los grupos III y IV a partir del minuto 90 ($p < 0.01 \text{ ANDEVA}$) (Cuadro 8).

Cuadro 8. Resultado del Índice de Resistencias Vasculares Pulmonares (Dinas/sec/cm⁵) en los cuatro grupos.

Tiempo de evaluación Minutos	Testigo Grupo I	AO Grupo II	Propofol Grupo III	L-arginina Grupo IV
0	224.66±91.33	275.66±100.94	372.4±121.04	189±52.54
15	227.16±118.38	598.5±288.64*	671±329.96*	431±85.32
30	183.83±67.87	441.16±173.02*	514.2±89.03*	344.2±113.32
45	193.66±111.88	421.83±201.72	553.6±219.08*	392±201.85
60	174.5±59.11	471.33±250.74*	492.4±120.41*	365.8±120.65
75	188.5±88.63	399.33±239.71	533±201*	279.6±98.8
90	183.33±63.14	366.83±147*	603.14±156.08*	267.6±114.07
105	221±93.08	450.16±155.13*	525.4±147.53*	233±127.03
120	234.83±114.42	395±96.75	473.2±131.04*	276±164.52
135	229.33±71.73	380.6±156.74	556.4±160.59*	236.4±106.75
150	234±94.84	482.16±280.63	514±197.78*	243±98.54
165	246.16±86.55	419.5±165.54	585.4±175.44*	252.4±101.93

Promedios ± DES. *P<0.05

Las RVS se incrementaron significativamente ($p < 0.05$ ANDEVA Dunnet) en los Grupos II y III a partir del minuto 15 hasta el minuto 75 (Cuadro 9).

Cuadro 9. Resultado del Índice de Resistencias Vasculares Sistémicas (Dinas/sec/cm⁵) en los cuatro grupos.

Tiempo de evaluación Minuto	Testigo Grupo I	AO Grupo II	Propofol Grupo III	L-arginina Grupo IV
0	1428.66±851.6	3301.6±1070.2*	3021±911.1*	1891.4±298.2
15	1424.5±610.9	4356±1996.1*	3360.8±1201.7*	2978.8±1284.3
30	1197.5±505.4	3663.16±186.5*	2925±1819	3033±1606.5
45	1264.33±707.1	3504±1684.7*	2516.8±1151.4	2805.2±1120.5
60	1378.83±449.8	3011.66±1548.4*	2690.4±1079.9	2788.8±877
75	1319.83±653.5	2785.16±1389.9*	2666.4±1067.2*	2312.6±541.8
90	1516.83±827.7	2705±1446.3	2495.6±888	2136.6±212.7
105	1596.83±762.2	3003±1923	2514.83±1026.37	2296.8±756.4
120	1794±700.8	2588.33±1558.8	2286±805.27	2384.8±689.6
135	1789±705.39	2543.33±1284.9	2721.2±864.12	1898.6±658.1
150	1962.5±920.9	2656±1391.1	2498.8±772.2	2498.8±644.3
165	1904.16±838.5	2464.5±960.32	2425.8±1002.5	1781±646.6

Promedios ± DES. *P<0.05

En los grupos II, III y IV los QS/QT también se incrementaron significativamente vs. grupo I ($p < 0.05$ ANDEVA, Dunnet), después de la administración de AO y se mantuvieron durante todo el estudio. Al comparar este incremento de los grupos tratados con AO, se observó que los grupos III y IV fueron significativamente mayores que el II a partir de los 90 minutos posteriores a la aplicación del AO ($p < 0.05$ ANDEVA, Dunnet) (cuadro 10).

Cuadro 10. Resultados de los cortocircuitos QS/QT (%) en los cuatro grupos.

Tiempo de evaluación Minuto	Testigo Grupo I	AO Grupo II	Propofol Grupo III	L-arginina Grupo IV
0	9.83 ± 9.7	21.3 ± 5-9	10.4 ± 3.8	26.4 ± 40.8
15	8.83 ± 6.4	25.1 ± 23.7	25.4 ± 20.1	26.8 ± 39.3
30	8.33 ± 6.4	23.3 ± 23.2	30.6 ± 19.2	28 ± 34.7
45	12.83 ± 11.5	32.6 ± 28.0	32.8 ± 15.4	44.6 ± 29.2
60	12.5 ± 12.6	45.3 ± 35.6	31 ± 13.4	52.6 ± 24.1
75	15.5 ± 12.4	41 ± 24.1	47.6 ± 22.2	55 ± 30.5
90	15.5 ± 12.1	43.5 ± 22.0	50.4 ± 22.7	59 ± 29.1
105	15 ± 11.1	46.3 ± 23.4*	52.4 ± 21.8*	64 ± 16.6*
120	16 ± 10.0	48 ± 24.1*	52.2 ± 23.1*	65.8 ± 16.9*
135	10 ± 13.8	56.1 ± 29.5*	56.16 ± 25.6*	68.8 ± 28.7*
150	15.1 ± 12.0	51 ± 24.8*	53.6 ± 25.4*	67.6 ± 11.6*
165	15.6 ± 11.6	52.3 ± 22.3*	49.2 ± 29.5*	68.8 ± 11.9*

Promedios ± DES. * $P < 0.05$

A partir del minuto 15 la PIM se incrementó en los grupos II, III y IV permaneciendo esta tendencia hasta los 165 minutos, pero este incremento fue mayor en el grupo II *p < 0.05 ANDEVA (Cuadro 11).

Cuadro 11. Resultados de la Presión Inspiratoria Máxima (cm H₂O) en los cuatro grupos.

Tiempo de evaluación Minuto	Testigo Grupo I	AO Grupo II	Propofol Grupo III	L-arginina Grupo IV
0	10.8±3.7	13.5±4.3	14.4±2.7	13.6±4.3
15	10.8±4.4	16±5.3	18.6±4	15.8±2.3
30	11.3±3.3	16.6±5.3	17.2±4.7	16.8±2.4
45	11.5±3.3	17.16±5.6	20.2±5.3	17.8±1.9
60	11±3	18.1±5.5	18.8±4	19.4±4.2
75	11.16±5.3	20.1±5.4	18.8±2.5	19.4±3.1
90	11.16±4.1	22.1±5.4	19.6±2.6	20±3.6
105	11.1±4.7	22.3±5.9	19.6±2.8	20.4±3.5
120	11.16±4.7	23.3±5.9*	20.4±2.8*	20.6±3.5*
135	11.5±4.9	23.8±5.7*	20±3*	22.2±4.6*
150	11.6±4	23.5±5.6*	20±3*	22.4±4.3*
165	11.8±3.9	23.6±5.9*	20±3*	22.4±4.3*

Promedios ± DES. *P<0.05

2. Hallazgos gasométricos

A los 15 minutos después de la administración del AO en los grupos II, III y IV la PaO₂ disminuyó por debajo de sus valores basales en comparación con el grupo I y permaneció durante todo el estudio. Sin embargo la PaO₂ fue menor en el grupo III y IV que en el II ($p < 0.01$ ANDEVA) al final del estudio (Cuadro 12).

Cuadro 12. Resultados de la Presión de oxígeno arterial (mmHg) de los cuatro grupos.

Tiempo de evaluación Minuto	Testigo Grupo I	AO Grupo II	Propofol Grupo III	L-arginina Grupo IV
0	342.66±42.6	349.97±79.58	343.2±43.48	383.2±89.1
15	357.66±135.83	299.66±6.2	225±106.72	335.2±180.1
30	375.33±138.44	240.68±20.94*	163.6±80.92*	303.2±168.4*
45	378.16±129.97	195.91±47.63*	121.6±67.35**	158±139.61**
60	376.66±124.43	147.11±60.79**	113.8±62.09**	101±90.37**
75	380.33±128.97	132.66±44.43**	91.4±72.13**	73±89.1**
90	373.5±66.88	99.28±45.43**	85.2±59.39**	51.6±18.02**
105	363.83±72.56	100.4±37.03**	73.2±39.76**	50.8±16.08**
120	363.6±63.35	91.5±27.7**	82±65.13**	45.6±16.27**
135	371.33±46.65	82.75±50.61**	88±73.44**	45.6±13.27**
150	376.83±32.03	74±54.89**	86±74.92**	46.8±12.31**
165	372±35.23	76.35±51.21**	104.8±8.24**	47.8±13.95**

Promedios ± DES. *P<0.05, **P<0.01

No hubo diferencias estadísticamente significativas en el pH, PaCO₂ (p = NS ANDEVA) en todos los grupos de estudio (Cuadro 13).

Cuadro 13. Resultados del pH arterial en los cuatro grupos.

Tiempo de evaluación Minuto	Testigo Grupo I	AO Grupo II	Propofol Grupo III	L-arginina Grupo IV
0	7.38±0.06	7.37±0.09	7.41±0.03	7.45±0.08
15	7.36±0.07	7.35±0.06	7.35±0.1	7.45±0.07
30	7.35±0.086	7.31±0.094	7.31±0.096	7.43±0.061
45	7.34±0.07	7.28±0.082	7.31±0.084	7.42±0.073
60	7.33±0.07	7.25±0.08	7.35±0.12	7.43±0.071
75	7.3±0.089	7.26±0.082	7.28±0.055	7.41±0.085
90	7.3±0.092	7.26±0.082	7.28±0.041	7.37±0.041
105	7.3±0.057	7.25±0.065	7.27±0.035	7.36±0.042
120	7.31±0.06	7.25±0.062	7.27±0.039	7.35±0.049
135	7.3±0.065	7.23±0.068	7.28±0.048	7.34±0.063
150	7.3±0.067	7.24±0.079	7.28±0.043	7.32±0.086
165	7.3±0.068	7.21±0.087	7.28±0.04	7.32±0.083

Promedios ± DES. p=NS

3. Hallazgos radiológicos.

En ningún animal del grupo I (0%) se observaron cambios radiológicos. A los 60 minutos del estudio, el 100% de los animales de los grupos que recibieron AO mostraron opacidades alveolares periféricas bilaterales difusas y asimétricas con broncograma aéreo, aunque en los grupos II y IV el grado de estas fue grado 3 a diferencia del grupo III en que fueron grado 2 ($p < 0.01$, Kruskal Wallis). Mientras que a los 150 minutos en todos los grupos II, III y IV estas opacidades fueron grado 4 (Figura 12a y 12b).

Evaluación Radiográfica

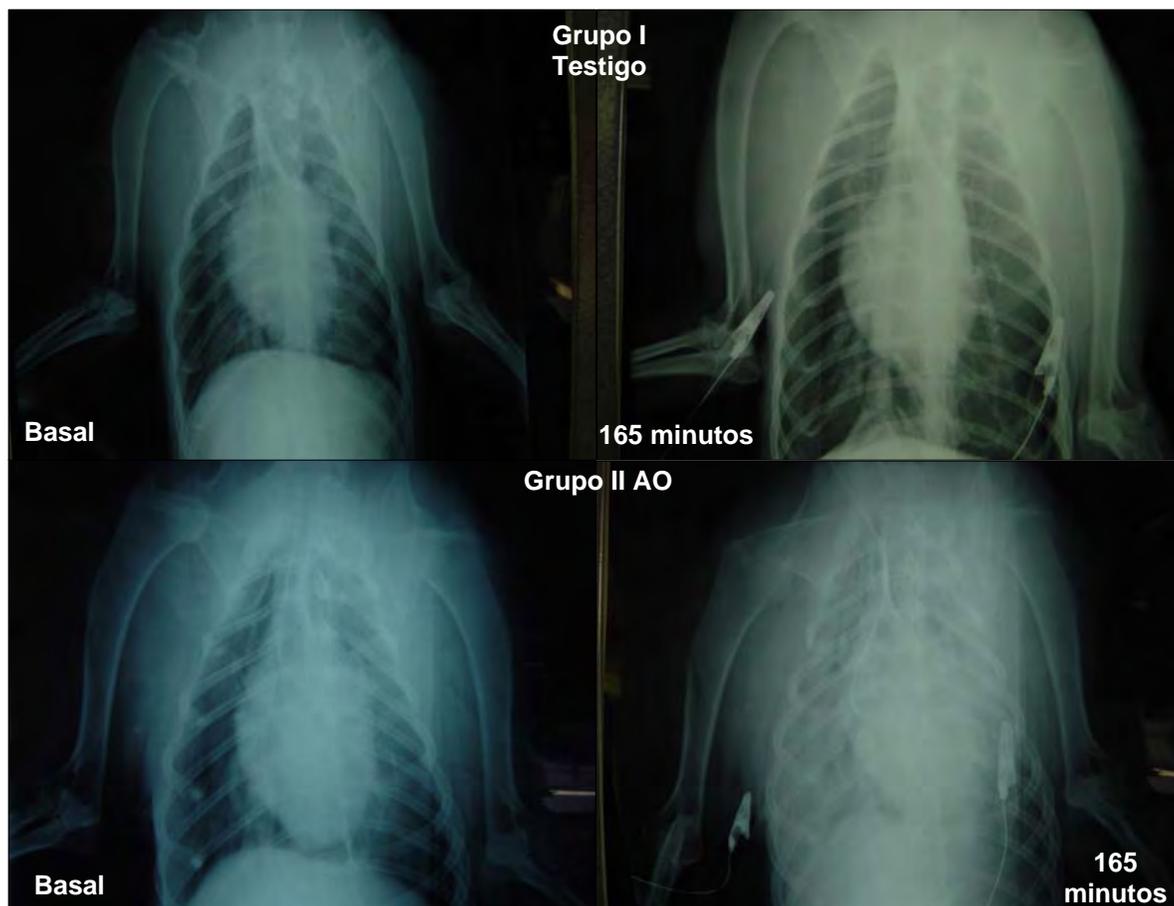


Figura 12a. Fotografías que muestran estudios radiográficos simples de tórax en proyección Ventro Dorsal, basal y al minuto 165 de los grupos de estudio I y II.

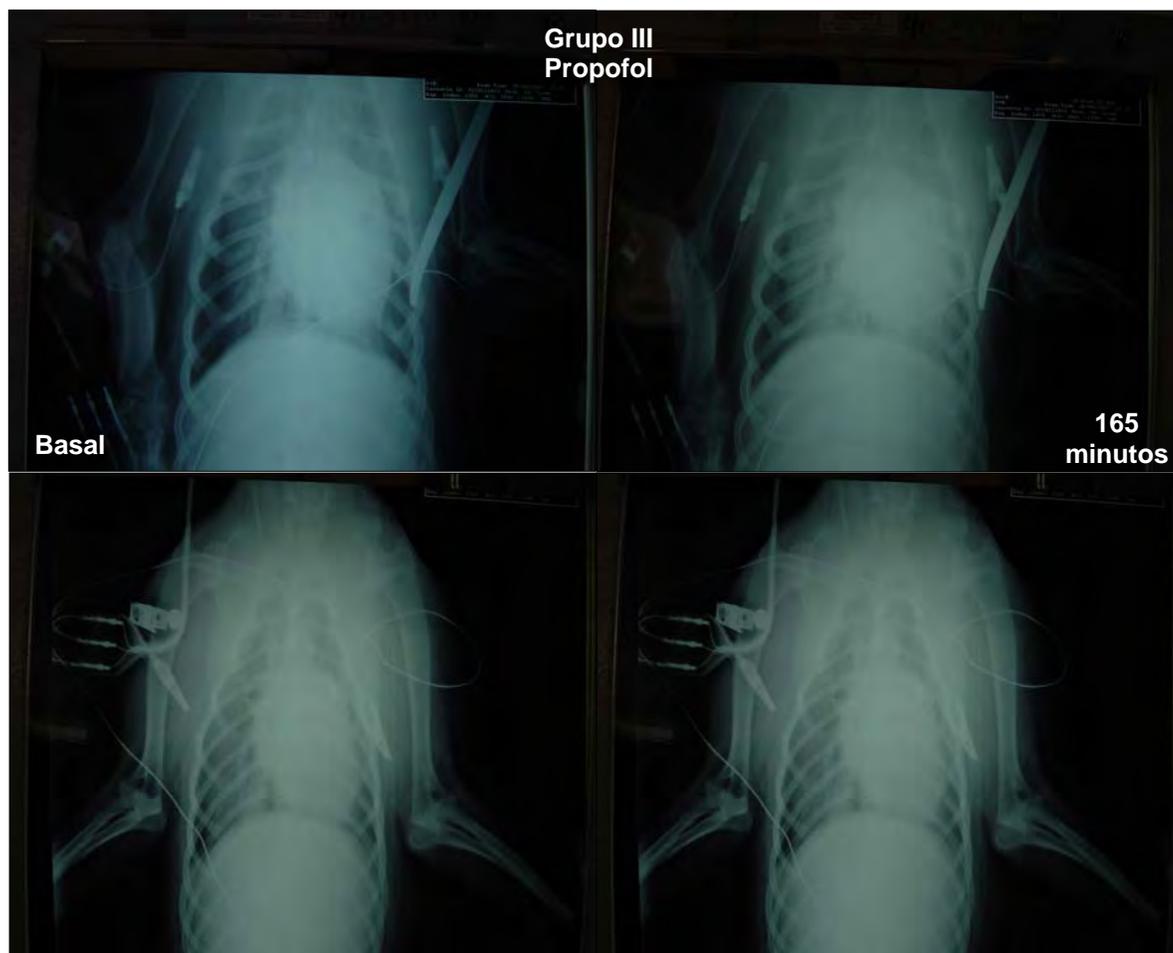


Figura 12b. Fotografías que muestran estudios radiográficos simples de tórax en proyección Ventro- Dorsal, basal y al minuto 165 de los grupos de estudio III y IV.

4. Macroscópicos.

Macroscópicamente todos los animales del grupo I mostraron apariencia normal, mientras que en los grupos II, III y IV en todos los casos se observaron pulmones edematosos de mayor peso que los del grupo I, con zonas consolidadas y hemorrágicas, principalmente en los lóbulos caudales. La tráquea y los bronquios presentaron espuma hemorrágica de moderada a abundante.

(Figura 13)

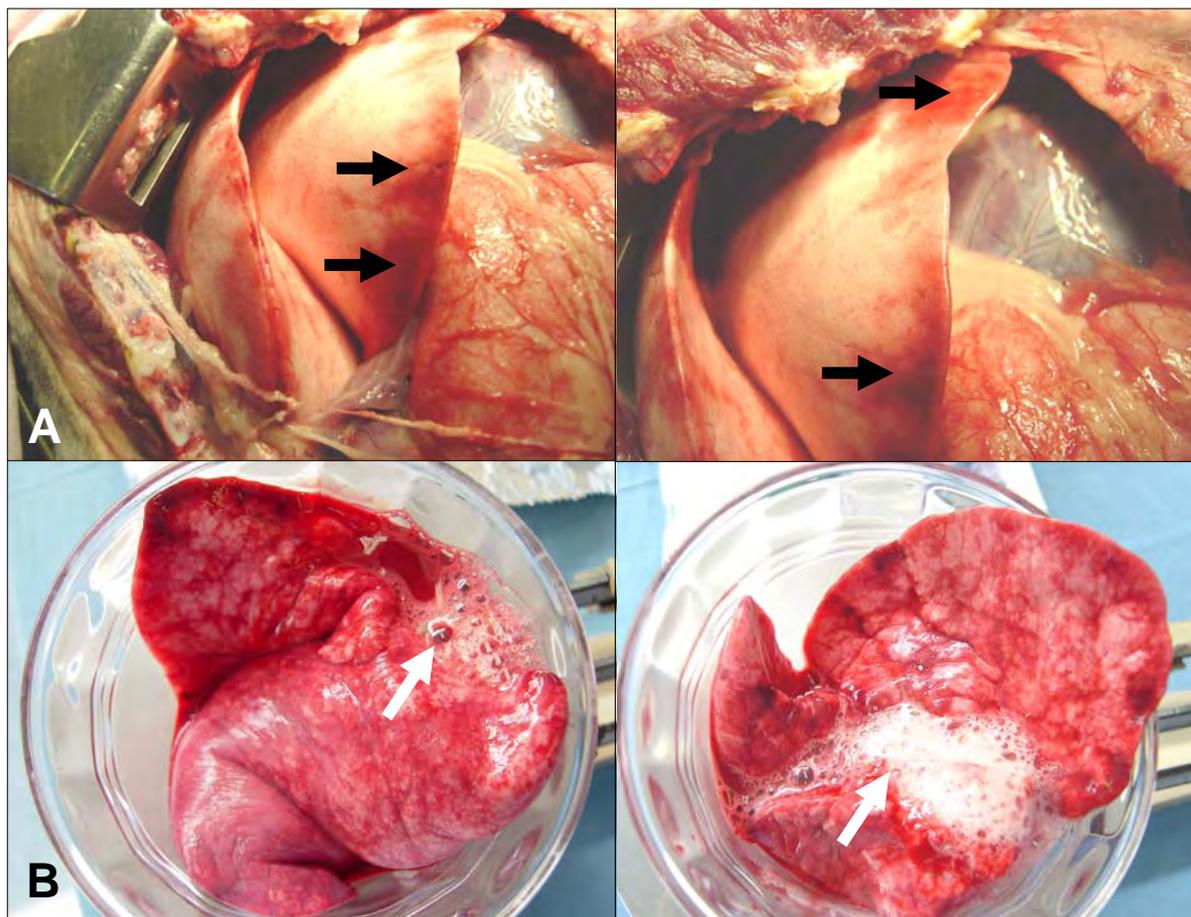


Figura 13. Fotografías que muestran: A) el pulmón izquierdo ventilado de un animal del grupo IV. Presenta zonas hemorrágicas en los bordes pulmonares (flechas) y B) los pulmones de animal del grupo II, con edema (Espuma), atelectasia, y hemorragia (flechas).

5. Hallazgos Microscópicos

Histológicamente el grupo I se observó normal. El grupo II desarrollo colapso alveolar grado 2, edema alveolar grado 3, hemorragia grado 1, infiltración leucocitaria grado 3, microtrombos grado 2. Mientras que en el grupo III se

observó; colapso alveolar grado 1; edema alveolar grado 2, hemorragia grado 3, infiltración leucocitaria grado 0. El grupo IV presentó colapso alveolar grado 2, edema Grado 2, Hemorragia Grado 1, Infiltración de PMN Grado 2, Microtrombos 1. (Figuras 14a y 14b y Cuadro 14).

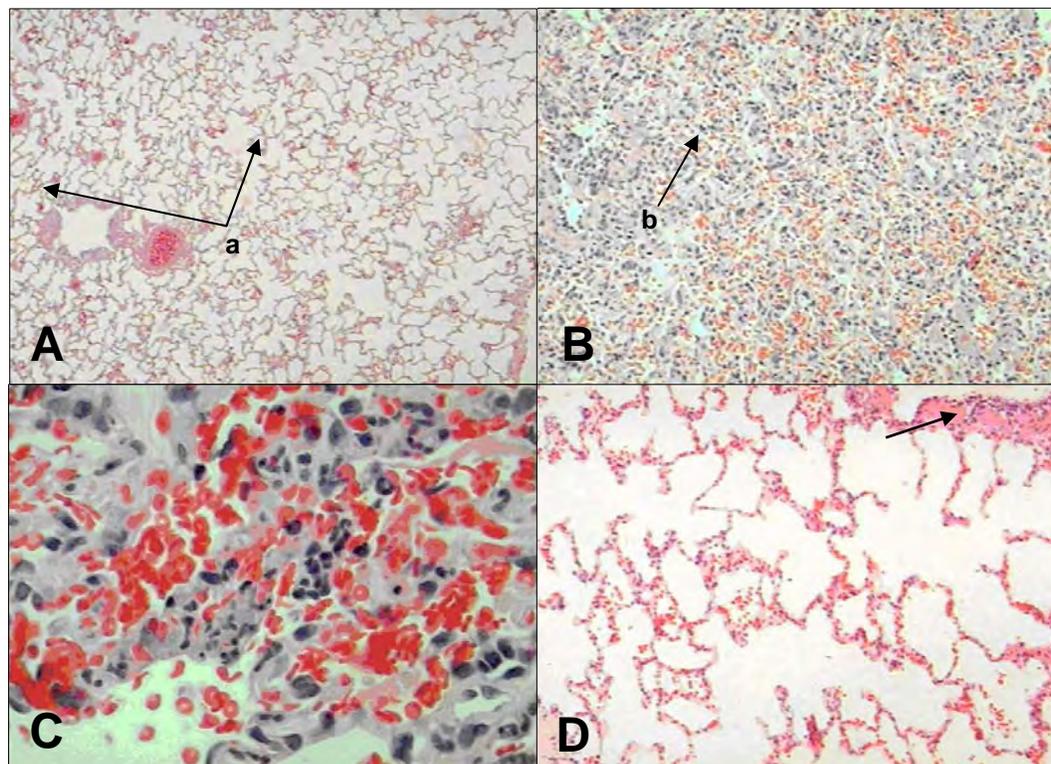


Figura 14a. Micrografías de tejido pulmonar (H&E): A) Histología Pulmonar Normal 10x (Grado 1), B) Colapso alveolar pulmonar en el grupo AO 10x, infiltrado leve de leucocitos y congestión intersticial (Grado 2); a) Lumen alveolar, b) Infiltrado inflamatorio, C) Hemorragia leve (Grado 2) en al grupo AO 40x. D) Congestión (Flecha) e infiltrado intersticial leve.

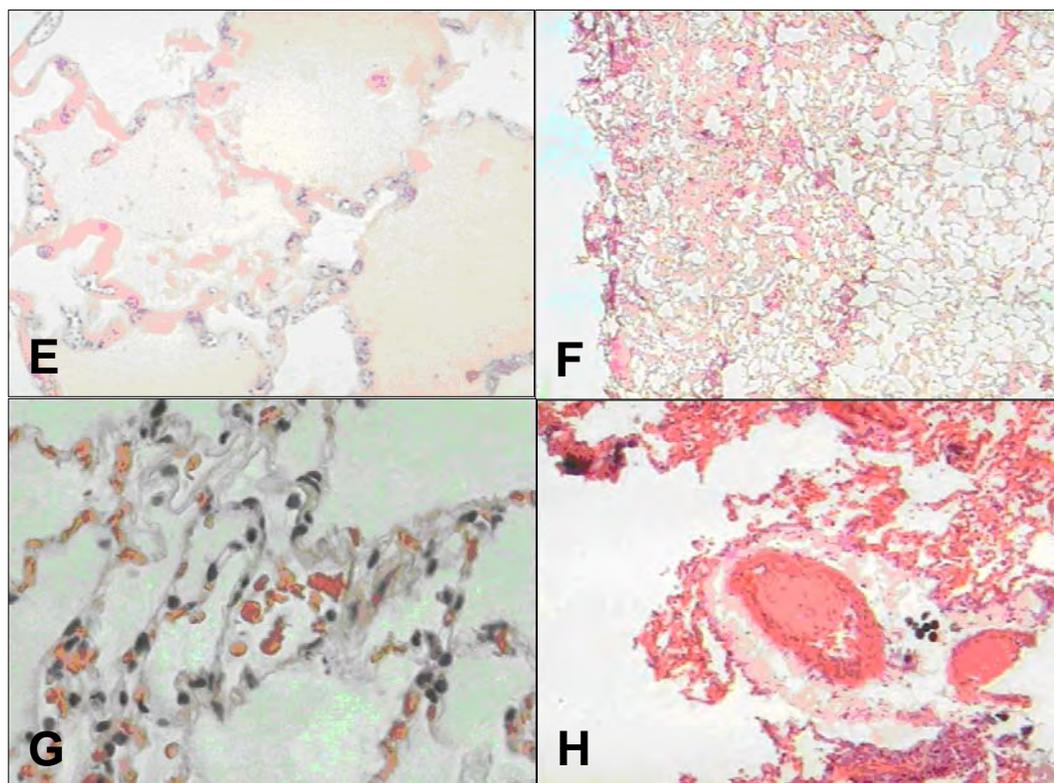


Figura 14b. Micrografías de tejido pulmonar (H&E): E) Edema Alveolar 40X, F) Colapso alveolar y Congestión 10X, G) Destrucción de arquitectura pulmonar 40X, H) Trombo en formación 10x.

Cuadro 14. Muestra medianas de todos los grupos.

	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III	GRUPO IV L-
	TESTIGO	AO	PROPOFOL	ARGININA
Colapso alveolar	0	2	1	2
Edema Alveolar	0	3	2	2
Hemorragia	0	1	3	1
Infiltración PMNs	0	3	0	2
Microtrombos	0	2	0	1
Membranas hialinas	0	2	1	2
Congestión	0	3	2	2

6.- Hallazgos Gravimétricos

Al valorar el peso de los pulmones de los 4 grupos de estudio se observó que los del grupo II, III y IV mostraron mayor peso (127.17 ± 32.34 , 127.36 ± 29.91 g y 107 ± 29.06) respectivamente en comparación con el grupo I (42.08 ± 13.26 g) ($p < 0.01$ ANDEVA Dunnet). Sin embargo el Grupo IV presentó menor peso que los grupos II y III (Figura 15).

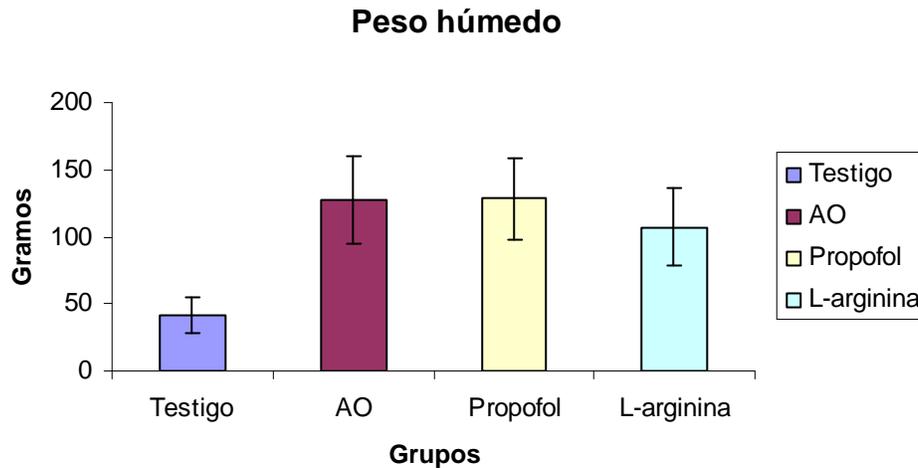


Figura 15. Gráfica que muestra el peso húmedo de los pulmones de todos los grupos $p < 0.05$ ANDEVA.

7. Hallazgos inmunohistoquímicos

El análisis inmunohistoquímico reveló que el 33% de los animales expresaron endotelina 1 (ET-1) en el grupo I Grado 1. En el 83.33% de las muestras de tejido pulmonar de los animales del grupo II mostraron expresión para ET-1 Grado 3. Mientras que en el grupo III y IV el 100% de las muestras mostraron expresión de ET-1, Grado 1. (Figura 16)

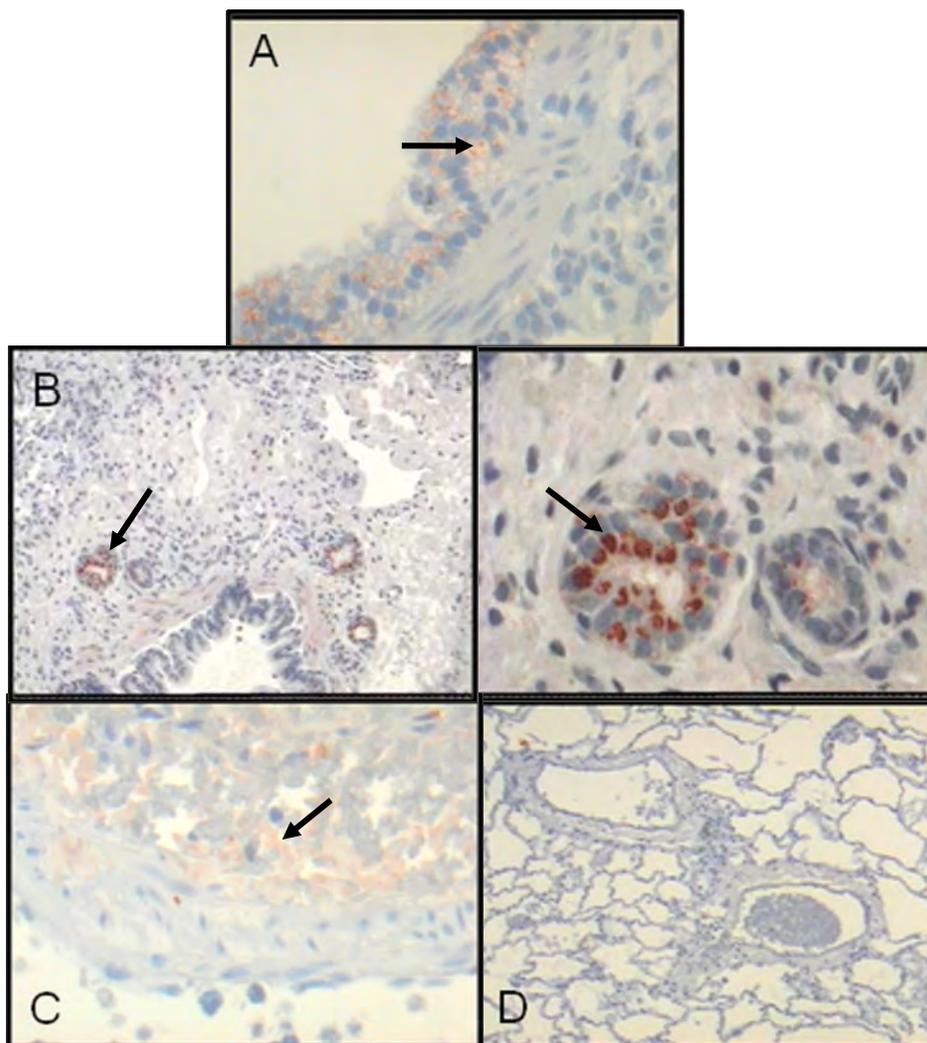


Figura 16. Micrografías de tejido pulmonar (Inmunohistoquímica) que muestran: A) Expresión de Endotelina 1 en epitelio bronquial 40X (Flecha), en un animal del grupo testigo; B) Expresión de Endotelina 1 en glándulas peribronquiales 10 X y 40X en un animal del grupo AO; C) Expresión de Endotelina 1 en endotelio vascular en un animal del grupo propofol 40x y D) Ausencia de expresión de Endotelina 1 en un animal del grupo L arginina 10X.

En todos los casos la expresión de ET-1 se observó en los bronquiolos, células epiteliales alveolares y vasos sanguíneos y se presentó un patrón: citoplasmático difuso. Sin embargo el mayor grado de expresión fue en primer lugar en los bronquiolos, seguido por células epiteliales alveolares y finalmente en el endotelio vascular de los vasos bronquiales.

Con respecto a la expresión ET_B, en el 100% de las muestras de los grupos I y II fueron positivas en el tejido pulmonar, sin embargo el grupo I la expresión fue Grado 1 mientras que el grupo II fue Grado 3; en el grupo III solo el 60% de las muestras estudiadas lo expresaron Grado 1 y el grupo IV solo presentó el 16.66% de expresión Grado 1 (p = NS) (Figuras 17a y 17b).

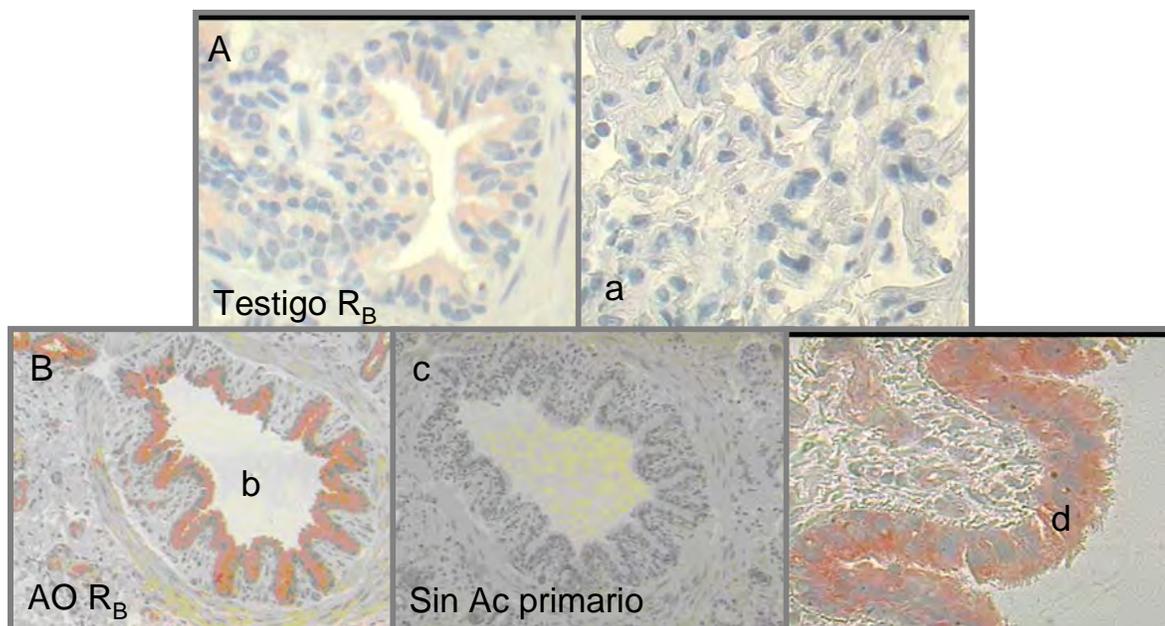


Figura 17a. Microfotografía de tejido pulmonar (Inmunohistoquímica) de ET_B. A) Expresión de ET_B en bronquio 10x en un animal del grupo testigo, a) ausencia de expresión en tejido pulmonar en grupo testigo; B) Expresión de ET_B en bronquio 10x en el grupo AO; b) Lumen bronquial, c) tejido bronquial sin anticuerpo primario, utilizado como control; d) Expresión ET_B, en bronquio 40x.

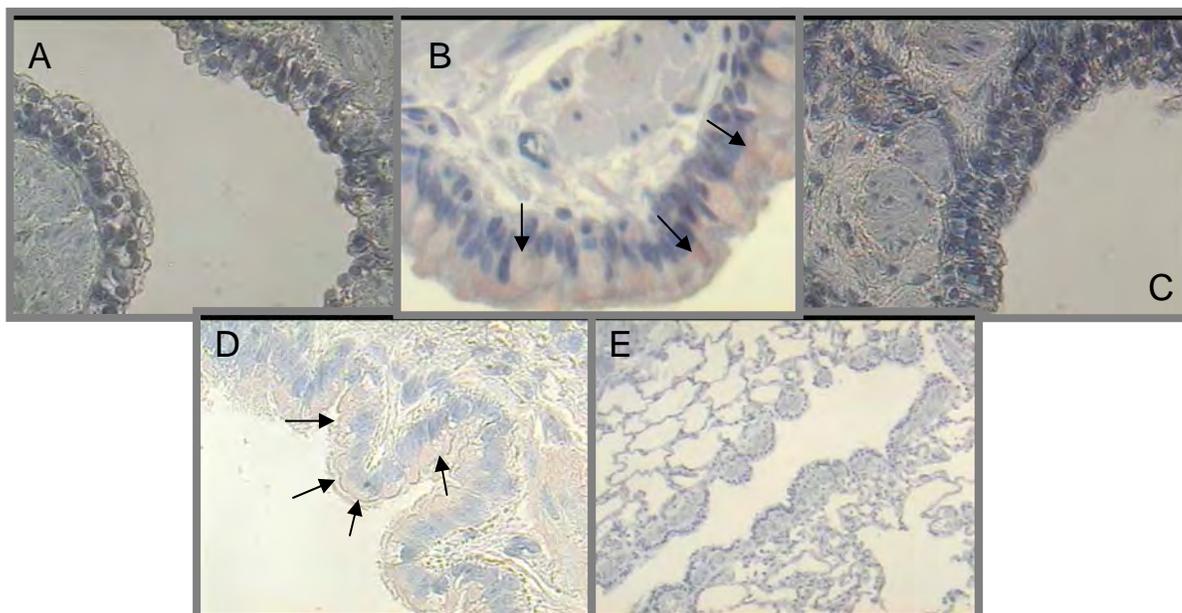


Figura 17b. Micrografías de tejido pulmonar (inmunohistoquímica): A) y C) Ausencia de expresión en epitelio bronquial 10x en un animal del grupo propofol; B) Expresión de ET_B en epiltelio bronquial 40x, grado 1 (flechas); D) Expresión de ET_B en epitelio bronquial 40x en un animal del grupo L-arginina, grado 1 (flechas); E) Ausencia de expresión de ET_B en epitelio alveolar 10x en un animal del grupo L-arginina.

VIII. Discusión

En el presente trabajo se estudiaron los efectos de la administración de propofol y L-arginina, sobre los cambios hemodinámicos, gasométricos, radiográficos, microscópicos e inmunohistoquímicos durante el DPA inducido por ácido oleico en perros. Se incluyó un grupo testigo en el que se demostró la estabilidad de todos los parámetros valorados durante el periodo de duración del estudio.

Para esto se eligió el modelo de DPA inducido por AO, porque es uno de los modelos más utilizados debido a que tiene muchas similitudes patológicas que se presentan en el humano. Estas son la presencia de una fase exudativa, proliferativa, fibrótica, la reacción inflamatoria, el secuestro de células circulantes, el incremento en la permeabilidad alveolar y la hipertensión pulmonar (1, 87, 88).

Debido a que no existe un modelo estandarizado para la producción de DPA con AO en este estudio la técnica empleada fue similar a la descrita por Trawöger (90). Con el modelo descrito se pudo establecer en todos los grupos el mismo grado de severidad del daño y sus consecuencias patológicas cumpliendo con los lineamientos para establecer el diagnóstico según lo establece el Consenso Europeo-Americano (5).

El daño pulmonar inducido por ácido oleico incrementa la permeabilidad vascular pulmonar, originando acumulación extravascular de agua, alteración del tono vascular pulmonar, trabajo cardíaco y alteración de las funciones pulmonares lo que provoca cambios hemodinámicos (96, 97, 98, 99). Algunos autores reportan disminución del índice cardíaco (20-40%) después del AO, (96, 100) aunque pueden haber cambios no significativos, ya que la hemodinamia está influenciada por diversos factores como la técnica anestésica, el manejo de líquidos durante el experimento, el manejo de la acidosis y del ventilador, el grado de hipoxia, la falla ventricular derecha secundaria a hipertensión pulmonar o depresión de la contractibilidad del miocardio.

Hemodinámicamente en este trabajo el incremento en la PMAP a los 15 minutos posteriores a la administración de AO en los grupos con lesión pulmonar fue ocasionado porque la inyección intravenosa de este ácido graso origina lesión endotelial, inflamación y daño al parénquima pulmonar, pero el incremento importante mostrado a los 90 minutos posiblemente fue provocado por los cambios en la permeabilidad vascular pulmonar y a la presencia de edema pulmonar como lo describe Pagnamenta A y col. (101). Sin embargo, la administración del propofol no disminuyó los cambios en la PMAP a diferencia de otros estudios como los realizados por Taniguchi (102), Takao (103), y Chen (104), que mencionan que éste fármaco atenúa los cambios hemodinámicos y el edema pulmonar tanto en los modelos animales de DPA inducido por AO como en DPA por endotoxemia. Las observaciones en este estudio son

contradictorias con estos artículos. La razón de esta discrepancia entre estos reportes, puede ser derivada del uso de diferentes metodologías.

El incremento de la PVR en los grupos II y III fue debido a que el DPA producido por el AO provoca hipoxia y alteración del tono vascular como se ha descrito en otros estudios (105, 106, 107), por lo que en este estudio al relacionar estos hallazgos con el incremento la PMAP, estudio gasométrico y la expresión de ET-1 sugiere que el propofol no evita o atenúa hipoxia producida por el AO.

En el presente estudio, la administración exógena de L-arginina atenuó significativamente el incremento de las resistencias vasculares. La L-arginina es un regulador crítico de la producción de ON endotelial vascular, este aminoácido exclusivo precursor del ON endógeno es transportado dentro de las células del endotelio vascular pulmonar, pero en ausencia de lesión vascular, la L-arginina usualmente no afecta la producción de ON (108). Por lo que una vez que se reconoció la importancia de L-arginina en la producción de ON en estados de lesión vascular, diversos investigadores han mostrado que la administración exógena de L-arginina atenúa la disfunción vasomotora en varios modelos de lesión vascular. Nakanishi (109) demostró que el tratamiento con L-arginina intracoronaria durante la reperfusión mejoró la disfunción endotelial disminuyendo el tamaño del infarto en perros. En un modelo porcino de sepsis, la administración de L-arginina bajo la presión arterial pulmonar y las resistencias vasculares pulmonares (110) Girerd (111) demostró que la administración de L-arginina normaliza la vasorelajación dependiente del

endotelio en vasos de conejo. En un modelo de hipertensión utilizando ratas Chen y Sanders (112) demostraron que la administración de L-arginina incrementó la producción de ON y disminuyó la hipertensión sistémica. Todos estos estudios demuestran que la administración de L-arginina reestablece la producción de ON endotelial en patologías en las cuales se encuentra disminuida.

El incremento en los cortocircuitos de los grupos II, III y IV confirmó la existencia de áreas mal ventiladas por la presencia de edema, hemorragia y colapso alveolar, las cuales evitan el intercambio gaseoso.

Sin embargo el empeoramiento de los Q_s/Q_t en el grupo IV comparado con el grupo II sugiere que durante la hipoxemia secundaria al DPA, el ON liberado desde la célula endotelial atenuó la vasoconstricción pulmonar hipóxica (VPH). Sprague (113) observó que después de la administración de inhibidores del ON endógeno, mejoraba el intercambio gaseoso con redistribución del intercambio gaseoso desde zonas hipóxicas a áreas bien ventiladas. Estos resultados sugieren que el ON endógeno inhibe la VPH y agrava la relación ventilación/perfusión manteniendo el flujo sanguíneo en regiones pobremente oxigenadas. La potenciación de la VPH por el ON se ha demostrado en diferentes modelos de alteración de la relación ventilación/perfusión intrapulmonar como la lesión pulmonar por ácido oleico (114). Por otra parte, la eficacia del ON depende del grado de alteración de la relación ventilación/perfusión predominante, siendo mayor en presencia de shunt. Si el

ON accede y vasodilata áreas con baja relación ventilación perfusión, la PaO_2 puede aumentar, disminuir o no modificarse en absoluto (115).

En este trabajo la presencia de opacidades en el parénquima pulmonar con broncogramas aéreos relacionados con edema pulmonar agudo después de producir el DPA en los grupos II, III y IV, coinciden con los descritos por Scillia P y col (114), Zhou Z (116) que produjeron DPA experimental. Los hallazgos en el grupo III, sugieren que el propofol no atenúo los efectos producidos en el DPA por AO a diferencia de lo reportado por otros autores (117, 118).

La valoración de los gases y equilibrio ácido base demostró que el AO altero la membrana alveolo capilar en los grupos II, III y IV ya que disminuyo la PaO_2 , el pH e incremento la PaCO_2 a causa del edema pulmonar relacionándose con los hallazgos radiológicos y hemodinámicos, sin embargo los resultados en este estudio no coinciden con los reportados en la literatura que mencionan que el pretratamiento con propofol mejora la oxigenación (119).

En la valoración macroscópica los hallazgos fueron iguales a los descritos por Miyazawa y col. (120) quienes en un modelo de DPA, a las dos horas postadministración del, AO observaron edema que incrementó de 2 a 3 veces el tamaño de los pulmones normales así como la presencia de hemorragia en las zonas afectadas y la presencia de espuma sanguinolenta moderada en traquea y coincide por lo reportado por Schuster (121) y Wang (122).

En este estudio el incremento en el peso pulmonar del III indica que el propofol no reduce la lesión alveolo capilar y la formación de edema pulmonar

producido por alteración de la permeabilidad vascular, como lo reporta Hyun (123) quien evaluó los efectos del propofol en DPA en conejos.

Sin embargo la disminución en el peso de los pulmones del grupo IV demuestra que la administración aguda de L-arginina protege los pulmones del incremento en la permeabilidad durante la lesión por ácido oleico. Hinder (124) utilizó un modelo de sepsis para demostrar que la inhalación de ON puede proteger del edema pulmonar asociado con sepsis. Mundy y Dorrington (125) demostraron en pulmones de conejo que la inhibición en la síntesis de ON aumentaba la formación de edema pulmonar. Se sabe además que el ON participa en la regulación del flujo sanguíneo en un gran número de especies y lechos vasculares siendo capaz de cambiar la presión de la microvasculatura que deriva en la formación de edema, aunque también tiene un papel importante en el mantenimiento del balance del líquido pulmonar independientemente del efecto sobre la presión vascular. (Mundy 126). El ON también protege los pulmones lesionados del incremento en la permeabilidad en diversas especies. El ON inhalado en pulmones aislados de conejo disminuyó la permeabilidad vascular causada por peróxido de hidrógeno (126). En pulmones de rata la inhibición de la INOS por L-NAME (Nitro – L-arginina metil ester) durante hiperoxia potenciaron la lesión (127). Moore (128) demostró que el ON previno el daño a la microvasculatura (medido por incremento en la permeabilidad) después de daño por isquemia-reperfusión en los pulmones de cerdos de guinea. El mecanismo por el cual el ON estabiliza la permeabilidad microvascular todavía no es muy clara. Se sabe del efecto directo e indirecto del

ON sobre el endotelio y epitelio. El cual puede actuar directamente sobre las uniones intercelulares por estimulación de GMPc (Guanosin monofosfato cíclico) el cual causa relajación celular. Y hay evidencia de que esto puede estrechar las uniones intercelulares y disminuir la permeabilidad (129). Alternativa o adicionalmente el ON tiende a estabilizar los mastocitos y estas células están asociadas a la liberación de mediadores como la histamina que incrementan la permeabilidad vascular.

La presencia de infiltrado leucocitario en el grupo II reveló que el AO produce lesión endotelial y daño al parénquima pulmonar similar a la fase exudativa de SDRA como lo describió Beilman (87).

En este estudio se demostró que el propofol evita la activación leucocitaria como lo reportaron Hofbauer (75) y Chen (86). Taniguchi mostró que la administración de propofol en un modelo de ratas endotoxémicas inhibió la infiltración de neutrófilos en el pulmón, debido a los efectos inhibitorios del propofol sobre la liberación de FNT e interleucina- 6. Estos experimentos utilizaron dosis de 10mg/kg/hr. Otros investigadores han reportado la inhibición de las funciones de los neutrófilos por el propofol *in Vitro*. Mikawa mostró que el propofol inhibe la fagocitosis y la producción de especies reactivas al oxígeno por los neutrófilos. Nuestros hallazgos confirman que *in vivo* el propofol reduce la infiltración de neutrófilos en perros en DPA inducido por ácido oleico. A pesar del potencial efecto benéfico del propofol como agente antiinflamatorio en el presente estudio no se presentó mejoría en la PaO₂ comparada con el grupo II. La probable razón a estos hallazgos es que usamos FiO₂ de 1 y el tiempo de

evaluación fue muy corto. Otra importante causa podría ser la dosis utilizada, en este estudio fue de 10mg/kg/hr, sin embargo Chu chia- Hsiang (85) utilizando un modelo de DPA en ratas inducido por endotoxemia utilizó propofol a dosis de 30 y 60mg/kg/hr y demostró que se atenúo el DPA evaluado por cambios en la relación peso húmedo peso seco, ON exhalado, permeabilidad microvascular e histología pulmonar, sin embargo las altas dosis de propofol provocaron alteraciones hemodinámicas. La hemorragia severa que se presentó en el grupo III demuestra que el propofol evita la agregación plaquetaria y este efecto se ha relacionado con la inhibición en la síntesis del tromboxano plaquetario (Tx A₂) y el incremento en la síntesis de ON leucocitario como lo demuestran diversos reportes (77 ,130,131) conduciendo al mayor deterioro observado en el grupo III debido a que el propofol promovió un estado hemorrágico pulmonar que a su vez disminuyó la PaO₂ y aumentó los QS/QT, ocasionando una mayor repercusión clínica.

El grupo IV demostró que la administración exógena de L-arginina antes del desarrollo de DPA atenúa el infiltrado leucocitario asociado a lesión vascular, como ha sido previamente reportado (132). Muchos investigadores han demostrado la importancia del ON derivado del endotelio como un importante mecanismo de defensa que protege el endotelio de la lesión mediada por neutrófilos. Usando anillos de arteria coronaria de gato sujetos a isquemia-reperusión, Lefer, Ma (133) y Ma (134) encontraron una asociación entre la disminución de la producción basal de ON y el desarrollo de vasoconstricción patológica después de la lesión vascular. Carey (135) y Siegfried (136) también

demonstraron atenuación de la disfunción del endotelio vascular después de isquemia – reperfusión usando donadores de ON. Kubes (137) reportó incremento en la adhesión de leucocitos en arteria mesentérica felina después de la administración de inhibidores de la producción de ON (N-nitro L-arginina metil ester y N-monometil- L- arginina), sugiriendo que el ON derivado del endotelio puede ser un importante modulador en la adherencia de leucocitos. El ON inhalado también ha mostrado que previene la acumulación de neutrófilos en el pulmón en DPA producido por isquemia- reperfusión mesentérica. Los resultados en el presente estudio demuestran que la administración exógena de L-arginina previene la acumulación de neutrófilos asociada con DPA.

La presencia de ET-1 y ET_B en el grupo I se explica porque la ET-1 es sintetizada por diferentes tipos celulares y no sólo por células endoteliales. La ET-1 actúa sobre músculo liso de arterias pulmonares y bronquiales así como también en bronquios y parénquima pulmonar. Estas áreas anatómicas fueron revisadas por Barnes (138) y Guembe (139) 38 quienes confirmaron la presencia de ET-1 y ET-3 y sus precursores en el epitelio celular y glándulas submucosales normales.

El daño pulmonar agudo experimental por diferentes causas provoca un incremento en la circulación de ET-1. (140) Simmet y col (141). Demostraron en un modelo de DPA inducido por AO incremento en los niveles plasmáticos de ET-1 a partir del minuto 15 pos DPA. El incremento de ET-1 también está relacionado con el incremento en la presión arterial y disminución de la relación

PaO_2/FiO_2 , mientras que la mejoría clínica correlaciona con la disminución de los niveles de ET-1 (142, 143). Por otra parte la ET-1 está también incrementada en pacientes con SDRA, pero no está claro si hay un incremento en la síntesis pulmonar o una disminución en la depuración. En pacientes que murieron por SDRA también se encontró un incremento en la expresión inmunohistoquímica de ET-1 en el endotelio vascular, músculo liso, epitelio de la vía aérea y macrófagos alveolares comparados con pulmones de pacientes que no murieron por SDRA. Interesantemente estos mismos pacientes tuvieron una disminución en la expresión por inmunohistoquímica de eNOS e iNOS en el pulmón (144). El SDRA también se caracteriza por la presencia de células inflamatorias en el pulmón, Aunque la ET-1 puede actuar como un modulador inmune, un incremento en la ET-1 puede contribuir al daño pulmonar por inducir la expresión de citocinas incluyendo el factor de necrosis tumoral, IL-6 e IL-8. Estas citocinas a su vez estimulan la producción de otros mediadores inflamatorios lo que conduce a agravar el daño pulmonar. La ET-1 adicionalmente activa los neutrófilos atrapados en el pulmón y aumenta su migración (145). Recientemente Guimaraes (146) mostró que el DPA inducido por AO activa al sistema endotelina, vía activación de receptores ETB, lo cual conduce a la infiltración de neutrófilos circulantes y al aumento de la permeabilidad vascular alveolar.

Otra característica del DPA es la disrupción y disfunción del endotelio vascular pulmonar lo cual lleva a la acumulación de agua en el pulmón. El papel de la endotelina en la formación del edema es incierto. La infusión de ET-1

aumenta la presión de la vasculatura pulmonar pero no se sabe si la ET-1 por si misma incrementa la proteína pulmonar o el transporte de líquido en el pulmón (147).

En el grupo II que presentó un incremento significativo en las RVP la expresión fue mayor y coincide con lo descrito por Galié (39). La ET-1 tiene un papel importante en el desarrollo de la vasoconstricción a través de diferentes mecanismos. Primero el lecho vascular es muy sensible a los efectos vasoconstrictores de la ET-1. Segundo la infusión de ET-1 aumenta las resistencias vasculares en perros. Tercero la ET-1 potencia el efecto vasoconstrictor de la activación simpática y su mismo efecto vasoconstrictor esta potenciado por una disminución en la síntesis de ON.

El presente estudio muestra evidencia del incremento en la expresión de ET-1 y ET_B en el DPA inducido por ácido oleico en el perro.

IX. Conclusiones

- La infusión de Ácido Oleico (0.09ml/kg) resultó en la formación de daño pulmonar agudo con hipoxemia sostenida e hipertensión pulmonar.
- Se desarrolló incremento en la permeabilidad endotelial con acumulación de líquido en el espacio alveolar.
- Comprobamos que el modelo de DPA inducido por AO causó cambios histológicos similares a los de la fase exudativa de ARDS.
- Las características de la fase exudativa incluyen edema intraalveolar, hemorragia, leucoaglutinaciones y trombos de fibrina.
- La infusión de AO promovió la disfunción endotelial pulmonar, originando sobreexpresión de ET-1 y ET_B.
- El pretratamiento con propofol promovió la presencia de hemorragia alveolar e intersticial.
- En el pretratamiento con Propofol disminuyó histológicamente la presencia de infiltrado inflamatorio.
- La administración de L-arginina disminuyó el edema pulmonar y probablemente inhibió el fenómeno de vasoconstricción hipóxica pulmonar.

XIV. Referencias

1. Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE. The acute respiratory distress in adults. *Lancet*.1967; 2: 319-323.
2. Petty TL, Ashbaugh DG, The adult Respiratory distress syndrome: clinical features, factors influencing prognosis and principles of management. *Chest* 1971; 60; 233-9
3. Blaisdell FW, Schlobohm RM. The respiratory distress syndrome: a review.1973, *Surgery*; 74: 251-62.
4. Ortiz MV, Belteton DE, Olvera HC. Síndrome de insuficiencia respiratoria progresiva del adulto en el niño (síndrome pulmón de choque) *Bol. Med Hosp Infant Mex*. 1985; 42:164-168
5. Bernard G. Artigas A. Brigham KL, The American – European Consensus conference on ARDS Definitions, mechanisms, relevant outcomes and clinical trial coordination, *Intensive Care Med*; 20: 225-32
6. Hudson LD. Steinberg KP. Epidemiology of acute lung injury and ARDS. *Chest*. 1999; 116: 74-82
7. Olivar LV, Rivera VR, Chávez LA. Criterios Diagnósticos de síndrome de dificultad respiratoria aguda en México, *Bol Med Hosp Infant Mex*; 2000; 57: 5; 263-269

8. Garber BG, Hebert MD, Yelle JD, Hodder RV, McGowan J. Adult Respiratory distress syndrome: a systematic overview of incidence and risk factors. *Critical Care Med.* 1996; 24: 687-695
9. Gordon D. Rubenfeld, MD, Ellen Caldwell M. S. Incidence and Outcomes of Acute Lung Injury. *N Engl J Med*, 2000; 342: 1301-1308
10. Bone RC. Francis PB, Pierce AK. Intravascular coagulation associated with the adult respiratory distress syndrome. *Am J Med* 1976; 61:585-589.
11. Cox RA, Burke AS, Soejima K, Murakami K. Airway obstruction in sheep with burn and smoke inhalation injuries, *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2003 Sep; 29(3 Pt 1): 295-302
12. Amato MB, Barbas CS, Medeiros DM. Beneficial effects of the “open lung approach” with low distending pressures in acute respiratory distress syndrome a prospective randomized study on mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995; 152:1835-1846.
13. Lachmann B. Open up the lung and keep the lung open. *Intensive Care Med* 1992; 18: 319-321
14. Tousoulis LN, Slutsky AS. Pathogenesis of ventilator-induced lung injury: trials and tribulations, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005; 288: L596-598
15. Cristancho W. Circulación pulmonar y relación ventilación perfusión. En Cristancho W. *Fisiología respiratoria. Lo esencial en la práctica clínica.* 1ra ed. Manual moderno. Bogota Colombia. 2004; 57-81.

16. Premmit RM. Treatment of acute low pressure pulmonary edema in dogs. *J Clin Invest* 1981; 67:409-418.
17. Albertine KH. Ultrastructural abnormalities in increased-permeability pulmonary edema. *Clin Chest Med* 1985; 6: 345-369, Schwarz MA. Acute lung injury: cellular mechanisms and derangements. *Pediatric Respiratory Reviews*; 2001: 2: 3-9
18. Wiener Kronish JB, Gropper MA, Mathay MA. The adult respiratory distress syndrome. Definition and prognosis, pathogenesis and treatment. *Br J Anaesth*, 1990; 65: 107-129
19. Bellingan GJ, Inflammatory cell activation in sepsis. *Br. Med Bull* 1999; 55: 15-29
20. Hickey KA, Rubany G, Paul RJ, Characterization of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothelial cells. *Am J Physiol* 1985; 248(5 Pt 1): 550-556
21. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332:411-415
22. Inohue A, Yanagisawa M, Kimura S. The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 2863-2867.
23. Firth JD, Ratcliffe PJ. Organ distribution of the three rat endothelin Messenger RNAs and the effects of ischemia on renal gene expression. *J Clin Invest* 1992; 90: 1023-1031.

24. Inoue A, Yanagisawa M, Takawa Y, Mitsui Y, Kobayashi M, Masaki T. The human preproendothelin-1 gene. Complete nucleotide sequence and regulation of expression. *J Biol Chem* 1989; 264: 14954-14959.
25. Nunez DJ, Brown MJ, Davenport AP, Neylon CB, Shofield JP, Endothelin -1 mRNA is widely expressed in porcine and human tissues. *J Clin Invest* 1990; 85: 1537-1541.
26. Emori T, Hirata Y, Ohta K, Kanno K, Eguchi S, Imai T, Shichiri M, Marumo F. Cellular mechanism of endothelin-1 release by angiotensin and vasopressin. *Hypertension* 1991; 18: 165-170.
27. Levin ER. Endothelins. *N Engl J Med* 1995; 333: 356-363. Masaki T, Kimura S, Yanagisawa M, Goto K. Molecular and cellular mechanism of endothelin regulation. Implications for vascular function. *Circulation* 1991; 84: 1457-1468.
28. Haynes WG, Endothelins as regulators of vascular tone in man. *Clin Sci (Lond)* 1995; 88: 509-517.
29. Kuchan MJ Shear stress regulates endothelin-1 release via protein kinase C and cGMP in cultured endothelial cells. *American Journal Physiology*. 1993; 264:H150-H156.
30. Yokokawa K, Tahara H, Kohno M, Mandal AK, Yanagisawa M, Takeda T. Heparin regulates endothelin production through endothelium-derived nitric oxide in human endothelial cells. *J Clin Invest* 1993; 92: 2080-2085

31. Rubanyi GM, Polokoff MA, Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology and pathophysiology. *Pharmacol Rev* 1994; 46: 325-415
32. Weigand L., Sylvester JT, Shimoda LA. Mechanisms of endothelin-1-induced contraction in pulmonary arteries from chronically hypoxic rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006; 290: L284-290.
33. Siflinger-Birnboim A, Johnson A. Protein Kinase C modulates pulmonary endothelial permeability: a paradigm for acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 284: L435-451.
34. Filep JG, Sirois MG, Rousseau A, Fournier A, Sirois P. Effects of Endothelin-1 on vascular permeability in the conscious rat: interactions with platelet-activating factor. *Br J Pharmacol* 1991; 104: 797-804.
35. Kuklin V, Kirov M, Sovershaev M, Andreassen T, Ingebretsen OC, Ytrehus K, Bjertnaes L. Tezosentan-induced attenuation of lung injury in endotoxemic sheep is associated with reduced activation of protein Kinase C. *Crit Care* 2005; 9: R211-217
36. Porter LP, McNamee JE, Wolf MB. Endothelin-1 induces endothelial barrier failure in the cat hindlimb. *Shock* 1999; 11: 111-114
37. Clozel M, Salloukh H. role of endothelin in fibrosis and anti-fibrotic potential of bosentan. *Am Med* 2005; 37: 2-12.
38. Finsen F, Christensen G, Lyberg T, Increased Synthesis and release of endothelin-1 during the initial phase of airway inflammation. *Am J Resp Crit Care Med*, 1998; 158: 1600-1606

39. Moloney Ed, Evans TW. Pathophysiology and pharmacological treatment of pulmonary hypertension in acute respiratory distress syndrome. *Eur Respir J* 2003; 21: 720-727.
40. Wort SJ, Woods M, Warner TD, Evans TW, Mitchell JA, Endogenously released endothelin-1 from human pulmonary artery smooth muscle promotes cellular proliferation: relevance to pathogenesis of pulmonary hypertension and vascular remodeling. *Am J Respir Cell Mol boil* 2001; 25: 104-110
41. Kedzierski RM, Yanigisawa M. Endothelin system: the double-edged sword in health and disease. *Anne Rev Pharmacol Toxicol* 2001; 41: 851-876
42. Langleben D, DeMarchie M, Laporta D, Spanier AH, Schlesinger RD, Stewart DJ. Endothelin-1 in acute lung injury and the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 1646-1650.
43. Furchgott RF and Zawadzki V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-376
44. Boscoe JM, Goodwin TA, Amrani M, Endothelins and the lung. *The international journal of Biochemistry & Cell Biology* 2000; 32: 41-62
45. Palmer RMJ, Ferrige AG, and Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327: 524-526.
46. Ignarro LJ. Biosynthesis and metabolism of endothelium derived nitric oxide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1990; 30; 535.

47. Mc Donald LJ, Murad F. Nitric Oxide and cyclic GMP signaling. *Proc Soc Biol Med* 1996; 211 (1): 1-6.
48. Furcgot RF. Studies on endothelium-dependent vasodilation and the endothelium-derived relaxing factor. *Acta Physiol Scand* 1990; 139: 257-270
49. Demling RH. The modern version of adult respiratory distress syndrome. *Ann Rev Med* 1995; 46:193-202.
50. Metz C, Sibbald WJ. Anti-inflammatory therapy for acute lung injury. A review of animal and clinical studies. *Chest*. 1991; 100; 1110-9.
51. Wheeler A, Bernard GR, Schoenfeld D, Methylprednisolone for unresolving ARDS. *JAMA* 1998; 280: 2074
52. Brun-Buisson C, Brochard L. Corticosteroid therapy in acute respiratory syndrome: better late than never? *JAMA* 1998; 280: 182-183
53. Meduri CU, Tolley EA, Chrousos GP, Stentz F, Prolonged methylprednisolone treatment suppresses systemic inflammation in patients with unresolving acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit care Med* 2002; 165: 983-991
54. Spragg Rg. Surfactant therapy in acute respiratory distress syndrome. *Biol neonate*. 1998; 74 (Suppl 1): 15-20.
55. Gary FN et al Surfactant replacement in the treatment of sepsis induced adult respiratory distress syndrome in pigs. *Critical Care Med*. 1996;24(6):1025-33.
56. Baker CS, Evans TW, Randle BJ, Haslam PL. Damage to surfactant-specific protein in acute respiratory distress syndrome. *Lancet* 1999; 353:1232-1237
57. Hanly PJ, Roberst D, Dobson K, Light RB. Effect of indomethacin on arterial oxygenation in critically ill patients with severe bacterial pneumonia. *Lancet*, 1987; 8529: 351-354
58. NIH ARDS network. Ketoconazole does not reduce mortality in patients with de acute distress syndrome. *JAMA*. 2000; 283:1995-2002.

59. Vincent JL, Brase R, Santman F, Sutter PM, McLuckie A. a multi-centre, double-blind, placebo-controlled study of liposomal prostaglandin E1 in patients with acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 2001; 27:1578-1583
60. Silverman HJ, Slotman G, Bone RC, Effects of prostaglandin E1 on oxygen delivery and consumption in patients with de adult respiratory distress syndrome. Results from the prostaglandin E1 multicenter trial. The prostaglandin E1 study group. *Chest* 1990; 98: 405-410
61. Holcroft JW. Prostaglandin E1 and survival in patients with de adult distress syndrome. A prospective trial. *Ann Surg.* 1986; 203:371-378.
62. David NC, Steven HA. Inhalational nitric oxide in pulmonary parenchymal and vascular disease. *J. Lab Clin Med.* 1996; 127:530-539,
63. Lowson SM, Inhaled alternatives to nitric oxide. *Anesthesiology*; 96: 1504-1513
64. Lundin S, European study group of inhaled nitric oxide, Inhalation of nitric oxide in acute lung injury: results of a European multicentre study. *Intensive care medicine*, 1999; 25: 911-919.
65. Walley KR, McDonald TE, Higashimoto Y, Hyashi S, Modulation of proinflammatory cytokines by nitric oxide in murine acute lung injury. *Am J Respir Crit care Med*, 1999; 160: 698-704
66. Ling Wang, Du Ming zhu, Xiao Su, Chun Xue Bai, Acute Cardiopulmonary effects of a dual-endothelin receptor antagonista on oleic acid-induced pulmonary arterial hypertension in dogs. *Experimental Lung research*, 2004; 42: 31-42

67. Wanecek M, Oldner A, Rudehill A, Sollevi A, Alving K, Weitzberg E. Cardiopulmonary dysfunction during porcine endotoxine shock is effectively counteracted by the endothelin receptor antagonist bosentan. *Shock* 1997; 7: 364-370.
68. Morris SM Jr. Recent advances in arginine metabolismo. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2004; 7: 45-51. Satriano J. Arginine pathways and the inflammatory response: interregulation of nitric oxide and poliaminas: review article: *Amino Acids*. 2004; 26:321-329
69. Zhou Minhao, Martindale Robert G. Arginine in the critical care setting. *J Nutr*. 2007; 137: 1687S-1692S.
70. Morris SM Jr. Recent advances in arginine metabolismo. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2004; 7: 45-51.
71. Marin VB, Rodriguez-Osiac L, Schlessinger L, Villegas J, Lopez M, Castillo-Duran C. Controlled study of enteral arginine supplementation in burned children: impact on immunologic and metabolic status. *Nutrition*, 2006; 22: 705-712
72. Luiking YC, Poeze M, Dejong CH, Ramsay G, Deutz NE. Sepsis: an arginine deficiency state? *Crit Care Med*. 2004; 32: 2135-2145
73. Sheridan BC, McIntyre R, Meldrum DR, Fullerton DA, L-arginine attenuates endothelial dysfunction in endotoxin-induced lung injury. *Surgery*. 1999; 125: 33-40
74. Booke M. The effects of propofol on hemodynamics and renal blood flow in healthy and septic sheep. *Anesth analg*. 1996;82:738-743

75. Hofbauer R, Frass M., Salfinger H. Propofol reduces the migration of human leucocytes through endothelial cell monolayers. *Critical care Medicine* 1999; 27: 1843-1847
76. Mikawa K, Akamatsu H, Nishina K, Propofol inhibits human neutrophil functions. *Anesthesia Analgesia* 1998; 87: 695-700
77. Aoki H, Mizobe T, Nozuchi S, Hiramatsu N, In vivo and In Vitro studies of inhibitory effect of propofol on human platelet aggregation. *Anesthesiology*. 1998 Feb; 88(2):362-370.
78. Taniguchi T, Kanakura H. Yamamoto K Effects of propofol on hemodynamic and inflammatory responses to endotoxemia in rats. *Crit Care Med* 2000; 28: 1101-1106,
79. Taniguchi T, Kanakura H. Yamamoto K Effects of posttreatment with propofol on mortality and cytokine responses to endotoxin-induced shock in rats. *Crit Care Med* 2002; 30:904-907
80. Galley H.F, Dubbels AM, Webster NR. The effect of midazolam and propofol on interleukin 8 from human polymorphonuclear leukocytes. *Anesthesiology*. 1988; 88: 362-370
81. Irina VB, Visintine DJ, B. Gunnerson H, Paisansathan Ch, L.Baughman V, et al, Propofol Attenuates Lung Endothelial injury Induced by Ischemia-Reperfusion and Oxidative Stress. *Anesth Analg* 2005; 100: 929-936.
82. De la Cruz JP, Sedeño G, Carmona JA, Sánchez de la Cuesta F. The In Vitro Effects of Propofol on Tissue Oxidative stress in the Rat. *Anesth Analg* 1998; 87: 1141-146

83. Petros AJ, Bogle RG, Pearson J. Propofol stimulates nitric oxide release from cultured porcine aortic endothelial cells. *Br. J Pharmacol* 1993; 109: 6-7
84. Takao Y, Mikawa K, Nishina K, Obara H, Attenuation of Acute Lung Injury with Propofol in Endotoxemia. *Anesth Analg.* 2005; 100:810-816.
85. Chia-Hsiang Chu, Liu D, Hsu Yung-Hsang, Lee Kuan-Chiao, Chen IH, Propofol exerts protective effects on the acute lung injury induced by endotoxin in rats. *Pulmonary Pharmacol & Therapeutics*, 2007; 20 (5): 503-512
86. Chen Hsing I, , Nan-Kuang Hsieh, Shang Jyh Kao et al. Protective effects of Propofol on acute lung injury induced by oleic acid in conscious rats. *Crit Care Med* 2008; Vol 36, 4:1214-1221
87. Beilman G. Pathogenesis of oleic-induced lung injury in the rat: distribution of oleic acid during injury and early endothelial cell changes. *Lipids* 1995; 30:817-823.
88. Shuster DP, ARDS: Clinical lessons from the oleic acid model of acute lung injury. *Am J Resp Crit Care Med* 1994; 149:245-260.
89. Ashbaugh DG, Uzawa T, Respiratory and hemodynamic changes after injection of free fatty acids. *J Surg Res* 1968; 8: 417-423.
90. Trawöger R. A Standardized method of oleic acid infusion in experimental acute respiratory failure. *Scand J Clin Lab Invest* 2001; 61:75-82.
91. Guía para el Cuidado y Uso de 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

92. National Institutes of Health U.S.A. 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.
93. Hyun KS, Jeong Il Choi, Jong Tae Park, Effects of Propofol on Endotoxin-induced Acute Lung Injury in Rabbit, J Korean Med Sci 2004; 19: 55-61
94. Piatti PierMarco, Fragasso Gabriele, Monti D. Lucilla, Setola Emmanuela, Lucotti Pietro. Acute Intravenous L- Arginine Infusion Decreases Endothelin-1 Levels and Improves Endothelial Function in Patients With Angina Pectoris and Normal Coronary Arteriograms, Circulation January 28, 2003
95. Koksel O, Kaplan MB, Ozdulger A, Tamer L. Oleic acid-induced lung injury in rats and effects of caffeic acid phenyl ester. Experimental Lung Research, 2005; 31: 483-496
96. Schuster DP, Trulock EP. Correlation of changes in oxygenation, lung water and hemodynamics alter oleic acid-induced acute lung injury in dogs. Crit Care Med 1984; 12:1044-8.
97. Prewitt RM, Wood LDH. Effect of sodium nitroprusside on cardiovascular function and pulmonary shunt in canine oleic acid pulmonary edema. Anesthesiology 1981; 26: 121-5.
98. Hofman WF, Ehrhart IC, Granger WM, Miller DA. Sequential cardiopulmonary changes alter oleic-acid injury in dogs. Crit Care Med 1985; 13:22-7
99. Motohiro A Furukawa T, Yasumoto K, et al Mechanisms involved in acute lung edema induced in dogs by oleic acid. Eur Surg Res 1986; 18:50-57
100. Boiteau P, Ducas J, Schick U. Pulmonary vascular pressure-flow relationship in canine oleic acid pulmonary edema. J Appl Physiol 1986; 251: H1163-70

101. Pagnamenta A, Bouckaert Y, Wauthy P. Continuous versus pulsatile Pulmonary Hemodynamics in canine oleic acid lung injury. *Am J Res Crit Care Med*, 2000; 162 (3): 936-940.
102. Taniguchi T, Kanakura H, Yamamoto K Effects of propofol on hemodynamic and inflammatory responses to endotoxemia in rats. *Crit Care Med* 2000; 28: 1101-6,
103. Takao Y, Mikawa K, Nishina K, Obara H, Attenuation of Acute Lung Injury with Propofol in Endotoxemia. *Anesth Analg*. 2005; 100:810-6.
104. Chen Hsing I, Nan-Kuang Hsieh, Shang Jyh Kao et al. Protective effects of Propofol on acute lung injury induced by oleic acid in conscious rats. *Crit Care Med* 2008; Vol 36, 4:1214-1221
105. Falta biblio
106. Kafi SA, Scillia P, Melot C, Et al: Abnormal pulmonary vascular tone in canine oleic acid lung injury. *Crit Care Med*, 2002; 30: 1565-1569
107. Leeman M, Lejeune P, Clozel J, Cachiery JL, Melot C, Naeijie R: Nature of pulmonary hypertension in canine oleic acid pulmonary edema. *J Apply Physiol*, 1990; 69:293-298.
108. Sheridan BC, Robert MD, McIntyre C. L-arginine attenuates endothelial dysfunction in endotoxin-induced lung injury. *Surgery*. 1999; 125; 33-40
109. Nakanishi KJ, Vinten-Johansen DJ, Lefer Z, Fowler DS. Intracoronary L-arginine during reperfusion improves endothelial function and reduces infarct size. *Am J Physiol*. 1992; 263; H1650-H1658.

110. Rudinsky BA, Bell R. The effects of intravenous L-arginine supplementation on systemic and pulmonary hemodynamics and oxygen utilization during Group B streptococcal sepsis in piglets *J Crit Care*. 1994; 9; 34-36.
111. Girerd XJ, Hirsch AT, Cooke JP. L-arginine augments endothelium-dependent vasodilation in cholesterol-fed rabbits. *Circ Res*. 1990; 67; 1301-1308.
112. Chen PY, Sanders PW. L-arginine abrogates salt sensitive hypertension in Dahl/Rapp rats. *J Clin Invest*. 1991; 88; 1559-1567
113. Sprague RS, Thiemermann C, Vane JR. Endogenous endothelium-derived relaxing factor opposes hypoxic alveoli in anesthetized rabbits. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992; 89:8711-8715.
114. Putensen C, Räsänen J. Effect of endogenous and inhaled nitric oxide on the ventilation-perfusion relationships in oleic-acid lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994;150: 330-336
115. Hopkins SR, Johnson EC, Richerson RS. Effects of inhaled nitric oxide on gas exchange in lungs with shunt or poorly ventilated areas. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997; 156: 486-491.
116. Scillia P, Abdel KS, Mélot C, Keyzer C, et al Oleic Acid-induced Lung injury: Thin Section CT Evaluation in dogs *Radiology* 2001; 219: 724-731
117. Zhou Zhaohui, Kozlowski J, Schuster P Physiologic, biochemical, and Imaging Characterization of Acute Lung Injury in Mice. *American Journal of respiratory and Crit Care Med*, 2005 ; 172: 344-355

118. Chia-Hsiang Chu, Liu D, Hsu Yung-Hsang, Lee Kuan-Chiao, Chen IH, Propofol exerts protective effects on the acute lung injury induced by endotoxin in rats. *Pulmonary Pharmacol & Therapeutics*, 2007; 20 (5): 503-12
119. Chen Hsing I, , Nan-Kuang Hsieh, Shang Jyh Kao et al. Protective effects of Propofol on acute lung injury induced by oleic acid in conscious rats. *Crit Care Med* 2008; Vol 36, 4:1214-1221
120. Miyazawa T, Nakagawa H, Hiramoto M, Arita K, Hiramoto T, Nishida O: Ultrastructural study on the alveolar-capillary injury with pulmonary edema induced by oleic acid in dogs. *Hiroshima J Med Sci*, 1981; 30: 183-190
121. Shuster DP, ARDS: Clinical lessons from the oleic acid model of acute lung injury. *Am J Resp Crit Care Med*, 1994;149: 245-260.
122. Wang HM, Bodenstein M, Markstaller K, Overview of the Pathology of Three widely used animals models of acute lung Injury. *Eur Surg Res*, 2008; 40: 305-316.
123. Hyun KS, Jeong Il Choi, Jong Tae Park, Effects of Propofol on Endotoxin-induced Acute Lung Injury in Rabbit, *J Korean Med Sci* 2004; 19: 55-61
124. Hinder F, Stubbe HD, Van Aken, Waurick R, Booke M. Role of nitric oxide in sepsis-associated pulmonary edema. *Am J Resp Crit Care Med*, 1999: 159: 252-257.
125. Mundy AL, Dorrington KL. Inhibition of nitric oxide synthesis augments pulmonary oedema in isolated perfused rabbit lung. [Br J Anaesth](#). 2000 Oct;85(4):570-6

126. Poss WB, Timmons OD, Farrukh IS, Inhaled nitric oxide prevents the increase in pulmonary vascular permeability caused by hydrogen peroxide. *J Appl Physiol.* 1995; 79: 86-891.
127. Garat C, Jayr C, Eddahibi S, Laffon M. effects of inhaled nitric oxide or inhibition of endogenous nitric oxide formation on hyperoxic lung injury. *Am J Resp Crit Care Med.* 1997; 155: 1957-1964. 127
128. Moore TM, Khimenko PL, Wilson PS, Taylor AE. Role of nitric oxide in lung ischemia and reperfusion injury. *Am J Physiol.* 1996; 271: H1970-1977
129. Oliver JA endothelium-derived relaxing factor contribuyes to regulation of endotelial permeability. *J Cell Physiol* 1992; 151:506-511.
130. De la Cruz JP, Páez MV, Carmona JA, Propofol inhibits in vitro platelet aggregation in human whole blood. *Anesth Analg,* 1997;84: 919-24
131. De la Cruz JP, Páez MV, Carmona JA, Antiplatelet effect of the anesthetic drug propofol: influence of red cells and leucocytes. *Br. J Pharmacol,* 1999; 128, 1538-44
132. Sheridan C. Brett, McIntyre CR, Meldrum RD. L-arginine prevents lung neutrophil accumulation and preserves pulmonary endotelial function alter endotoxin. *Am J Physiol lung Cell Mol Physiol* 274:337-342.
133. Lefer AM, Ma XL. Decreased basal nitric oxide release in hypercholesterolemia increases neutrophil adherence to rabbit coronary artery endothelium. *Arteriocler: Thromb.* 1993; 13: 771-776.
134. Ma XL, Weyrich AS, Lefer DJ, Lefer AM, Disminished basal nitric oxide and exogenous L-arginine on EDRF activity in fetal pulmonary circulation. *Am J Physiol. (Heart Circ Physiol 33)* 1993; 264: 403-412
135. Carey C, Siegfried XL, Ma AS, Lefer AM. Antishock and endothelial protective actions of a donor in mesenteric ischemia and reperfusion. *Circ. Shock.* 1992; 38: 209-216

136. Siegfried MR, Carey C, Ma XL, Lefer AM. Beneficial effects of SPM-5185, a cysteine-containing NO donor in myocardial ischemia-reperfusion. *Am. J Physiol.* 1992; 263 (Heart Cir Physiol 32): H771-H777
137. Lim SC, Adams AB, Simonson DA, et al: **Transient hemodynamic effects of recruitment maneuvers in three experimental models of acute lung injury.** *Crit Care Med* 2004 32: 2378-2384.
138. Barnes PJ. Endothelins and pulmonary diseases. *J Appl Physiol.* 1994; 77: 1051-1059.
139. –
140. Michael JR, Markewitz BA. Endothelins and the lung. *Am J Resp Crit Care Med*, 1996; 154: 555-581.
141. Simmet T, Pritzie S, Thelen KI and Peskar BA Release of endothelin in the oleic acid-induced respiratory distress syndrome in rats. *Eur J Pharmacol* 1992; 211,319-322
142. Langleben, D. Demarchie M, Laporta D, Spanier AH, Schlesinger RD and Stewart DJ Endothelin 1 in acute lung injury and the adult respiratory distress syndrome in rats. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148, 1646-1650.
143. Mitaka C, Hirata Y, Nagura T, Tsunoda Y, Amaka K: Circulating endothelin-1 concentrations in acute respiratory failure. *Chest*, 1993; 104: 476-480
144. Albertine KH, Wang ZM, Michael JR. Expression of endothelial nitric oxide synthase, Inducible nitric oxide synthase, and endothelin-1 in lungs of subjects who died with SDRA. *Chest*; 1999; 111:101S-102S
145. Fagan AK, McMurtry FI, Rodman MD. Role of endothelin-1 in Lung disease. *Resp Res*; 2001; 2: 90-101.
146. Guimaraes CL, Endothelin ETB receptor-mediated mechanisms involved in oleic acid-induced acute lung injury in mice. *Clinical Science*, 2002; 103: Suppl 48,34OS-344S