

# Confiabilidad de la presión arterial sistémica determinada por un método no invasivo en ratas normotensas

PEDRO LORENZO FLORES CHÁVEZ\*

LUIS EFRÉN SANTOS MARTÍNEZ†

RAÚL MARTÍNEZ MEMÍJE\*

SALVADOR CORTÉS TENORIO\*

GUSTAVO SÁNCHEZ TORRES§

OSCAR INFANTE VÁZQUEZ\*

\* Departamento de Instrumentación Electromecánica, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez (INC).

† Departamento de Cardioneumología, INC.

§ Departamento de Farmacología, INC.

Trabajo recibido: 10-IX-2007; aceptado: 01-XI-2007

## RESUMEN

Dentro del proceso de validación es muy importante la repetición con métodos considerados como estándar de oro. Previamente presentamos un método no invasivo para determinar la presión arterial

**Palabras clave:** Parámetros fisiológicos, métodos no invasivos, presión arterial sistémica, presión arterial pulmonar, ratas Wistar.

**Key words:** Physiological parameters, non-invasive methods, systemic arterial pressure, pulmonary artery pressure, Wistar rats.

sistémica (PAS) en ratas que, a diferencia de otros, es novedoso, factible y de bajo costo. En este trabajo valoramos el grado de acuerdo entre la PAS determinada de manera invasiva y el método no invasivo.

**Material y métodos:** Mediante un diseño de concordancia, estudiamos 10 ratas Wistar normotensas, de tres meses de edad y de 250 a 300 g de peso. Bajo sedación se determinó simultáneamente la PAS por los dos métodos.

**Análisis estadístico:** Los datos se expresaron con media  $\pm$  DE. La magnitud de la concordancia se obtuvo mediante el coeficiente de correlación intraclass y el procedimiento de Bland y Altman para la diferencia media con ambos métodos. Una  $p < 0.05$  se consideró estadísticamente significativa.

**Resultados:** Las presiones arteriales sistólicas con el método invasivo vs. no invasivo fueron similares  $111.43 \pm 14.94$  vs.  $112.73 \pm 15.19$ ,  $p < 0.467$ , las diastólicas  $84.94 \pm 14.44$  vs.  $88.35 \pm 15.67$ ,  $p < 0.272$ ,

## ABSTRACT

During the validation process, repeatability by gold standard methods is very important. Previously, we have tested a non-invasive method to determine the systemic arterial pressure in rats; unlike others, this method is new, feasible and of low cost. In this work we evaluated the degree of agreement between the arterial pressure determined by the invasive way and with our non-invasive method.

**Methods:** A concordant design was undertaken to study 10 three month old normotensive, 250 to 300 g bodyweight Wistar rats. Under sedation, the arterial pressure was determined simultaneously by both methods.

**Results:** The systolic arterial pressures obtained with invasive vs. non-invasive methods respectively were similar:  $111.43 \pm 14.94$  vs.  $112.73 \pm 15.19$ ,  $p < 0.467$ , and diastolic  $84.94 \pm 14.44$  vs.  $88.35 \pm 15.67$ ,  $p < 0.272$ . Intraclass correlation coefficient for the systolic arterial pressure was 0.966 (0.86, 0.99) and diastolic 0.898 (0.585, 0.974). Mean differences  $\pm$  standard deviation and its respective limits of agreement for systolic arterial pressure were  $-1.3 \pm 5.4$  (+9.5, -12.1) and diastolic  $-3.41 \pm 9.20$  (+14.99, -21.81).

**Conclusion:** This non-invasive method reproduces the systemic arterial pressure in a reliable way in

respectivamente. El coeficiente de correlación intraclase para la presión arterial sistólica fue 0.966 (0.86, 0.99) y la diastólica 0.898 (0.585, 0.974). La diferencia media  $\pm$  DE y sus respectivos límites de acuerdo de la presión arterial sistólica  $-1.3 \pm 5.4$  (+9.5, -12.1) y la diastólica  $-3.41 \pm 9.20$  (+14.99, -21.81).

**Conclusión:** El método no invasivo reproduce de manera confiable la PAS en ratas normotensas. Se estudian las posibilidades de modificar el diseño con el fin de estimar la presión de arteria pulmonar.

normotensive rats. We study the possibilities to modify our design and apply it to the pulmonary circuit.

## INTRODUCCIÓN

La forma más confiable de obtener parámetros fisiológicos en animales de experimentación es introducirles catéteres o electrodos para obtener registros diversos, como el de la presión arterial sistémica (PAS), electrocardiograma (ECG), frecuencia respiratoria (FR), pulso e incluso concentraciones de gases o enzimas del torrente sanguíneo.<sup>1-4</sup> Estos métodos tienen sus desventajas, costos elevados y la necesidad de introducir cuerpos extraños al organismo, que los hacen menos idóneos por tener que emplearlos en animales frágiles como las especies menores,<sup>3</sup> específicamente en estudios crónicos que requieren de diversas intervenciones en el tiempo que ameritan la sobrevivencia del animal de experimentación.<sup>5,6</sup>

Los métodos no invasivos (MNI) comerciales actuales, aunque ofrecen márgenes de error mínimo, permiten obtener registros tan confiables como los obtenidos por métodos invasivos (MI), pero son costosos.<sup>6</sup> En nuestro medio, previamente presentamos un novedoso MNI para medir la presión arterial (PA) en ratas que es factible, simple y de bajo costo.<sup>7</sup>

El proceso de validación de la PA con un MNI en estudio requiere que sean probados al mismo tiempo contra un procedimiento "estándar de oro" como lo es la determinación invasiva de la PA, o el compararlos contra un sistema comercial probado y previamente validado.<sup>8</sup>

Para continuar nuestra línea de estudio y con el proceso de validación del MNI, realizamos el presente trabajo para conocer la concordancia entre dos métodos (MI vs. MNI) en ratas con PAS normal. El MNI será modificado para utilizarlo en un futuro próximo en la determinación de la presión arterial pulmonar (PAP).

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para conocer el grado de acuerdo en la determinación de la PAS entre un MI y un MNI en ratas con PAS normal se diseñó un estudio de concordancia.<sup>9</sup> El estudio se realizó en el Departamento de Instrumentación Electromecánica del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, Ciudad de México. Este protocolo fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética Animal de la institución.

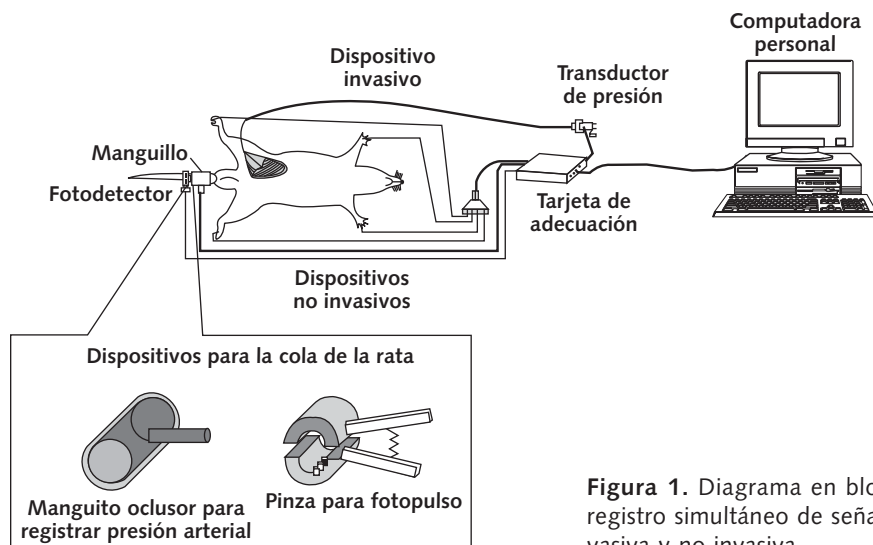
### Sujetos experimentales

Se utilizaron 10 ratas sanas de la cepa Wistar de tres meses de edad, ambos sexos y de 250 a 300 g de peso.

A cada rata se le realizó simultáneamente la determinación de la PAS con ambos métodos. Para la captura de datos se usó el equipo para detección de parámetros fisiológicos de forma no invasiva en ratas,<sup>7</sup> al que se le adicionó un módulo para registro invasivo de la PA.

### Preparación del sujeto experimental

Previo a la colocación de catéteres, las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico intraperitoneal con dosis única de 0.55 mg/kg de peso corporal.<sup>7</sup> Una vez anestesiada se le inmovilizó en la mesa de cirugía en decúbito dorsal, sujetando las cuatro extremidades (Figura 1). Pasados 15 minutos de la aplicación del anestésico, se aisló una de las arterias femorales y se le colocó un catéter de 0.5 mm de diámetro. Para evitar trombosis del catéter se utilizó heparina diluida al 20% que se inyectó a través del mismo, previo a su introducción a la arteria.<sup>7</sup> Una vez colocado el caté-



**Figura 1.** Diagrama en bloques del módulo para el registro simultáneo de señales de presión arterial invasiva y no invasiva.

ter, por medio de una válvula de tres vías, se hizo pasar flujo hacia un transductor de presión para tener el registro de la señal de presión.

Se obtuvo registro de ECG mediante la colocación de clips metálicos con gel para ECG en cada extremidad de la rata, por ser menos traumáticos, y sobre los clips se conectaron las pinzas al cable del electrocardiógrafo.<sup>7</sup>

La señal hemodinámica, el ECG y los datos del MNI se obtuvieron en tiempo real con el programa de captura de señales hemodinámicas experimentales SIEVART,<sup>10</sup> programa que ya ha sido validado en caninos.<sup>11,12</sup>

1. **Método invasivo:** El transductor de presión se calibró a presión atmosférica (0 mmHg) y se acotó un registro basal que se utilizó como referencia. Se cambió la vía hacia el catéter femoral y se obtuvo la señal de la PA. Para determinar el valor de la presión, se colocó el cursor del programa en el lugar de interés para obtener su valor en milímetros de mercurio (mmHg). Esta señal es posible ubicarla en el canal 2 del programa, la morfología de ésta es una línea ondulante donde la presión sistólica invasiva (PSI) representa la cima de la onda y la presión diastólica invasiva (PDI) la porción más baja de la onda (valle), (Figura 2).
2. **Método no invasivo:**<sup>7</sup> El equipo cuenta con dos dispositivos para medir la PAS de forma indi-

recta, y clips metálicos que se colocan en cada extremidad para adquirir la señal del ECG:

- a. Uno de los dispositivos es un manguito neumático que se coloca en la cola de la rata, que al inflarse con aire ocluye la circulación sanguínea y al desinflarlo paulatinamente deja pasar otra vez la sangre.
- b. El segundo dispositivo es un detector de fotopulso pletismográfico (FPP) adaptado a manera de pinza semicircular que se fija en la cola, enseguida del manguito (Figura 1).

#### Procedimiento para la determinación de la PA

Ya obtenida la señal de la PAS de manera invasiva, se procedió a capturar simultáneamente el registro no invasivo de ella, utilizando el manguito neumático que se fijó a la base de la cola de la rata, que al inflarse entre 280 a 300 mmHg, interrumpe momentáneamente la circulación sanguínea en la zona, misma que se restableció al desinflarse paulatinamente con una válvula colocada en el circuito neumático. El FPP se obtuvo de la pinza especial con detectores de pulso que se colocó en la cola junto al manguito (Figura 1).

El programa SIEVART permitió ver las señales en tiempo real y simultáneo de ambos métodos que se capturaron en un archivo de respaldo para

su análisis posterior, haciendo primero un registro basal de prueba.

Se puso pausa al programa para aumentar la presión del manguito, lo que hizo desaparecer el pulso. Se quitó la pausa y se observó en la pantalla cómo la presión bajó gradualmente por acción de una válvula de desinflado, hasta llegar a 0 mmHg (Figura 2).

Para determinar la PAS con el MNI se requirió de tres señales, la señal del FPP (canal 1), la señal de presión de sistema (canal 3), y una de las dos señales siguientes: ECG o la señal del fotopulso oscilométrico (FPO) (canal 0 y 4, respectivamente) (Figura 3). Después de descomprimir paulatinamente la presión en el manguito que oprimió la cola de la rata, el FPP reapareció haciendo oscilar la señal del canal 1, el cursor se colocó en donde las oscilaciones iniciaron y, sin desplazar el cursor, se cambió al canal 3 de presión, lo que indicó la PAS en mmHg, correspondiente a la presión arterial sistólica no invasiva (PSNI) en ese punto, (Figura 2). Para la PA diastólica se utilizó el

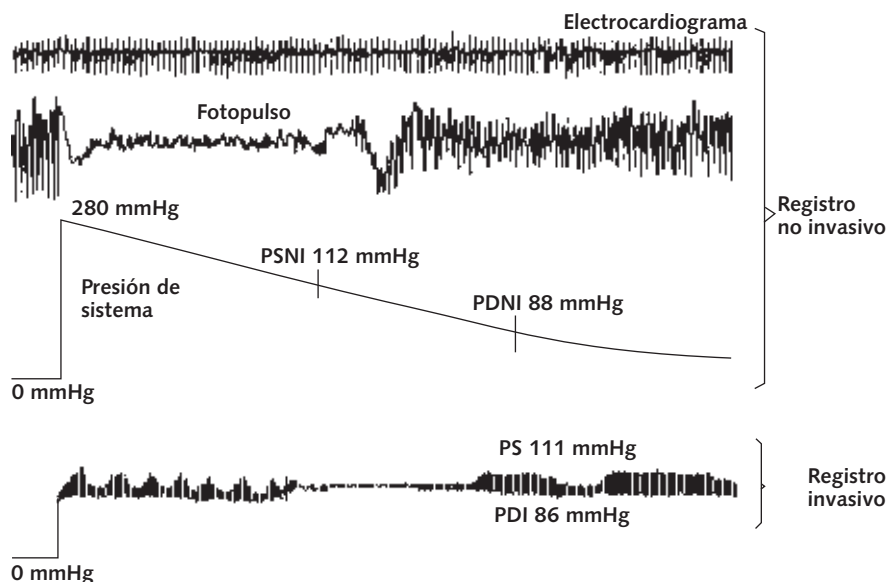
canal 1 y el canal 0 (ECG) o el canal 4 (FPO). Al comprimir la cola de la rata, la onda pulsátil del FP sufrió un desfaseamiento con respecto a los complejos del ECG o el FPO, el cual volvió a su estado inicial (previo a la compresión) al empalmarse nuevamente las señales; en este punto de empalme se colocó el cursor y se trasladó al canal de presión 3 para determinar el valor de la presión diastólica no invasiva (PDNI), (Figura 2).

Terminadas las mediciones, las ratas fueron sacrificadas con sobredosis de anestésico a razón de 100 mg/kg de peso según las normas y legislación actual para el sacrificio de animales de laboratorio.<sup>13</sup>

### Descripción del equipo<sup>7</sup>

Una mesa de cirugía para mantener a las ratas con temperatura controlada a 37.5°C (temperatura normal) y contrarrestar el efecto hipotérmico de la anestesia.<sup>14</sup> Con la finalidad de obtener la señal invasiva de forma simultánea, se adicionó un

250

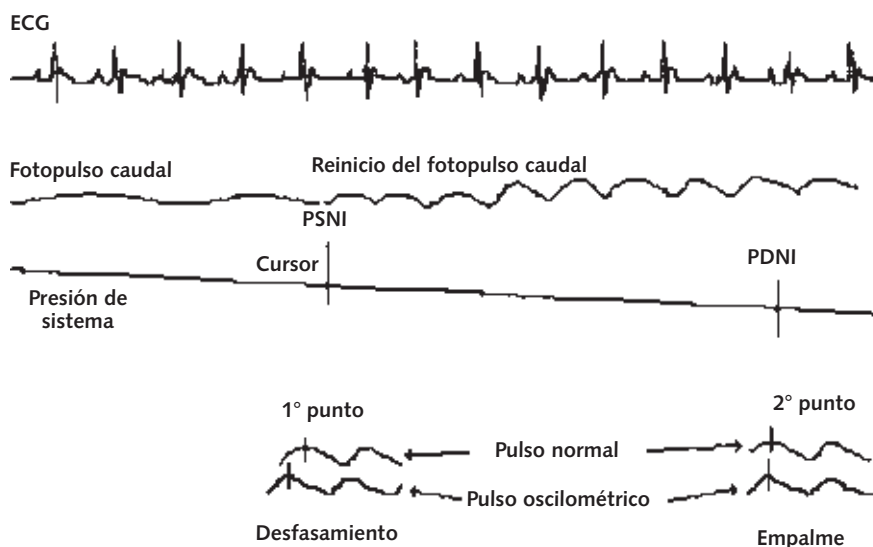


**Figura 2.** Registro simultáneo de la PAS con los dos métodos. Se presentan los trazos simultáneos obtenidos por los dos métodos, los tres primeros trazos superiores corresponden al electrocardiograma, fotopulso caudal y presión de sistema, respectivamente; el último trazo corresponde al registro del catéter al transductor de presión, y sus valores son determinados únicamente del trazo. En el método no invasivo se necesitan al menos tres señales para obtener sus valores. Como se observa, los valores de las presiones arteriales, sistólica y diastólica son determinados de diferente manera en cada método.

módulo electrónico con un transductor de presión marca "Biosensor International", modelo 4812AD al equipo utilizado para medir parámetros fisiológicos, lo que permitió medir la PAS a partir de un catéter.<sup>15</sup> Los circuitos se conectaron a una tarjeta de adecuación y a un convertidor de analógico a digital que cuenta con ocho canales de 10 bits a 30  $\mu$ s de tiempo de conversión por canal. Para el registro del ECG se utilizó un arreglo resistivo de Wilson que pasa la señal a un amplificador de instrumentación con rechazo a modo común de 86 dB a 60 Hz y una ganancia de 25. La señal pasa a un filtro para banda con frecuencia de corte de 0.05 a 150 Hz, y una amplificación de 40 para un total de 1000 en la señal del ECG. Los dispositivos para la detección del FPP utilizaron un led (del inglés *light emitted diode*) emisor de luz roja (665 nm) y un led infrarrojo (940 nm). La luz reflejada por ambos leds es recogida por un fotodetector. Éstos se alojan en la pinza de diseño curvo construida en nylamid que se fijó a la cola de la rata.

El manguito neumático para registro de la PAS en ratas es un segmento metálico tubular de 12 mm de diámetro x 20 mm de largo, al que se le agregaron una cámara elástica y dos tapas laterales como seguro; a su vez, cuenta con un conector para manguera de 1/4 de pulgada para comunicarla al circuito neumático que registra la presión en el sistema a través de un transductor marca Motorola modelo MPX 2050. Se obtienen los FPO por medio de filtros electrónicos de 1.5 a 30 Hz.

**Análisis estadístico:** Los datos se expresan con media  $\pm$  DE. La correlación entre los dos métodos se realizó con el método de los momentos-productos de Pearson y el coeficiente de determinación ( $R^2$ ). Se graficó la correlación mediante gráfico disperso y línea de tendencia; para la magnitud de la concordancia se calculó el coeficiente de correlación intraclase (CCI) con su respectivo intervalo de confianza al 95% en paréntesis; para la diferencia entre las determinaciones de las presiones entre los dos métodos se



**Figura 3.** Determinación de la PAS con el método no invasivo. Trazos desglosados de los registros no invasivos para la determinación de la PSNI y de la PDNI. Al comprimir la cola de la rata, el FPP desaparece; cuando reaparece (1° punto) el cursor se ubica en este lugar, y para cuantificar la PSNI en mmHg se cambia al canal de presión de sistema. En este mismo punto, el FPP también presenta un desfaseamiento con respecto al pulso oscilométrico (PO) o el electrocardiograma. Al desinflar el manguito, las señales de FPP y FPO vuelven a empalmarse (2° punto); en este lugar de empalme se coloca el cursor para cuantificar en el canal de presión de sistema la PDNI en mmHg.

utilizó la prueba t de Student para muestras pareadas. Finalmente, para analizar la dispersión de la media entre los dos métodos se usó el análisis de Bland y Altman.<sup>9</sup> Se consideró estadísticamente significativa una p de  $< 0.05$ .

## RESULTADOS

Los datos se obtuvieron del monitor de la computadora personal. Fueron revisados y analizados en el archivo de respaldo previamente generado en cada estudio.

Las presiones arteriales sistólicas y diastólicas con ambos métodos fueron similares. La PSI  $111.43 \pm 14.94$  vs. PSNI  $112.73 \pm 15.19$ ,  $p < 0.467$ ; la PDI  $84.94 \pm 14.44$  vs. PDNI  $88.35 \pm 15.67$ ,  $p < 0.272$ ; la frecuencia cardiaca (FC)  $362.40 \pm 49.50$  latidos/

minuto, (lat/min); y la FR  $96.60 \pm 19.98$  respiraciones/minuto, (resp/min). Los valores normales<sup>7</sup> reportados de la FC y de la FR son 300-500 lat/min, 85 resp/min, respectivamente.

El coeficiente de Pearson obtenido para la PAS sistólica con ambos métodos fue de 0.936,  $p < 0.0001$ , Figura 4A, y coeficiente de determinación ( $R^2$ ): 0.88; para la PA diastólica 0.816,  $p < 0.004$ , Figura 4B, y la  $R^2$ : 0.67 (Figura 1). El CCI entre los dos métodos para la PAS sistólica fue 0.966 (0.86, 0.99) y para la PA diastólica 0.898 (0.585, 0.974).

La diferencia media  $\pm$  DE y sus respectivos límites de acuerdo obtenidos del análisis de Bland y Altman fueron: PSI-PSNI  $-1.3 \pm 5.4$  (+9.5, -12.1), Figura 5A, PDI-PDNI  $-3.41 \pm 9.20$  (+14.99, -21.81), Figura 5B.

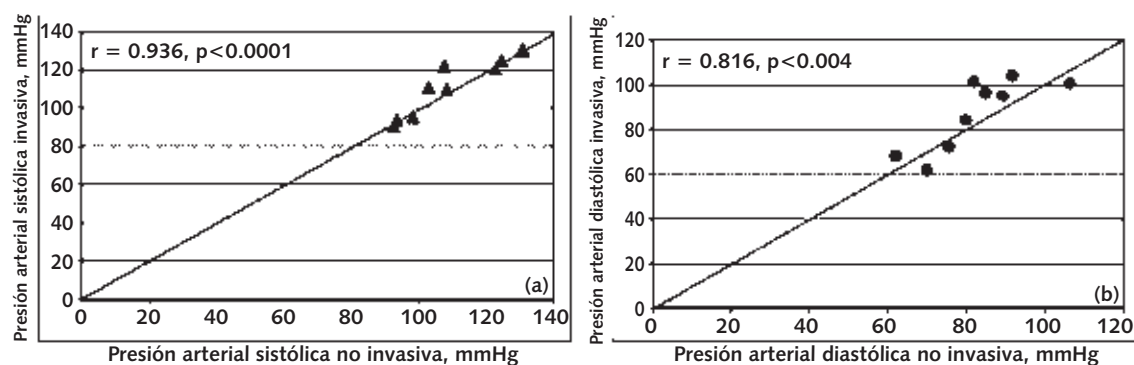


Figura 4. Gráfica dispersa de la correlación entre la PAS invasiva y no invasiva, sistólica (a) y diastólica (b).

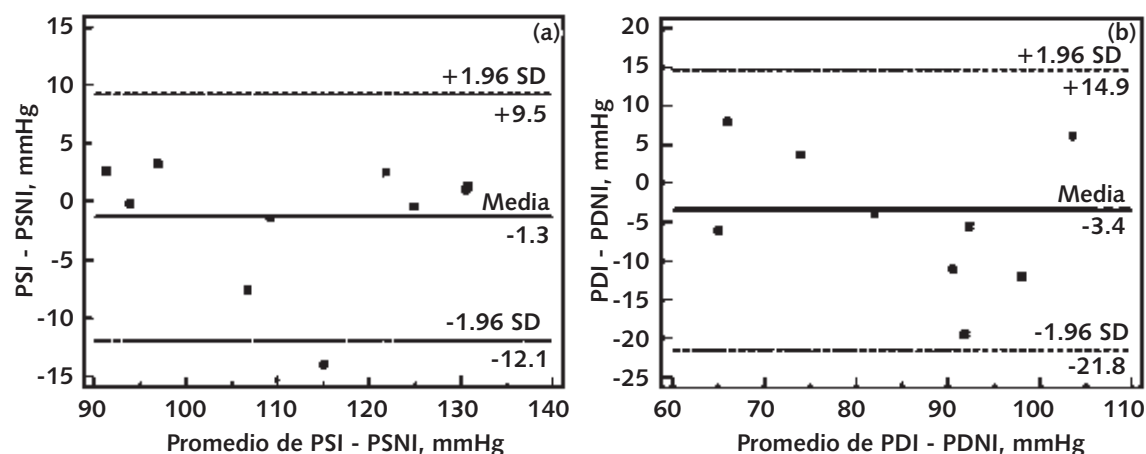


Figura 5. Procedimiento de Bland y Altman para las presiones arteriales con los métodos invasivo y no invasivo, sistólica (a), y diastólica (b).



## DISCUSIÓN

La medición indirecta de la PA es otro método usado frecuentemente para el monitoreo de animales de laboratorio, pero puede no ser exacto ni fidedigno cuando los animales se mueven por cualesquier razón.<sup>16</sup>

El efecto anestésico puede alterar los parámetros fisiológicos de la rata, específicamente de la PAS, donde los valores pueden ser menores a los reportados en la literatura.<sup>17</sup> No ocurre lo mismo con la FC, la cual incrementa ligeramente con el pentobarbital sódico,<sup>16</sup> efecto no observado en nuestro estudio.

Los MNI ofrecen ventajas con respecto a los MI ya que son menos traumáticos y no se utilizan anestésicos ni tranquilizantes, lo que mejora los resultados de los protocolos de farmacocinética pues no se alteran las lecturas que son de gran valor para la investigación.<sup>18</sup> En este estudio, la PSNI y la PDNI mantuvieron una buena concordancia con el MI, como se espera en un buen MNI. La FC y la FR se mantuvieron muy similares a lo reportado en la literatura.<sup>7</sup> La temperatura es otro parámetro que puede ser afectada con el uso de anestésicos.<sup>17</sup> Para este trabajo la temperatura no se registró con fines descriptivos, pero se mantuvo en condiciones normales, (37.5 °C).

La manipulación de la rata con otros MNI puede causar alteraciones en la respuesta cardiovascular, como el aumento en la PAS, FC y FR, provocados por sustos, ruidos, tensión; el efecto es la reducción o cese de las pulsaciones de la arteria caudal, por lo que algunos autores consideran que el método de medición en la cola frecuentemente subestima la PA en ratas normotensas y sobrestima la presión arterial en ratas hipertensas.<sup>17,18</sup>

Este estudio justifica probar el método a diferentes valores de PAS, esto es, en condiciones de hipotensión e hipertensión arterial. Una vez conocidos los datos, es posible modificar el diseño con el fin de estimar la PAP.

## CONCLUSIÓN

El MNI reproduce de manera confiable la PA en ratas normotensas, y representa un paso para modificar el diseño y aplicarlo a fin de estimar la PAP.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la MVZ., Verónica Graullera Rivera y al MVZ., Carlos Tena Betancourt del Departamento de Bioterio del INC por su colaboración para la realización de este trabajo.

## REFERENCIAS

1. Deten A, Millar H, Zimmer HG. *Catheterization of pulmonary artery in rats with an ultraminiature catheter pressure transducer*. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2003;285:H2212-H2217.
2. Clayton P. *Research techniques in the rats*. Springfield, Illinois: Charles C Thomas;1982.
3. Chu V, Otero JM, Lopez O, Morgan JP, Amende I, Hampton TG. *Method for non-invasively recording electrocardiograms in conscious mice*. BMC Physiol 2001;1:6.
4. Sasano C, Honjo H, Takagishi Y, et al. *Internalization and dephosphorylation of connexin43 in hypertrophied right ventricles of rats with pulmonary hypertension*. Circ J 2007;71:382-389.
5. Paddenberger R, Stieger P, von Lilien AL, et al. *Rapamycin attenuates hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling and right ventricular hypertrophy in mice*. Respir Res 2007;24:8-15.
6. Borg E, Viberg A. *Role of heating in non-invasive blood pressure measurements in rats*. Acta Physiol Scand 1980;108:73-75.
7. Flores ChP, Infante VO, Sánchez TG, Martínez MR, Rodríguez RG. *Detección de signos vitales en ratas mediante métodos no invasivos*. Vet Méx 2002;33:179-187.
8. Aubert AE, Ramaekers D, Beckers F, et al. *The analysis of heart rate variability in unrestrained rats. Validation of method and results*. Comput Methods Programs Biomed 1999;60:197-213.
9. Bland JM, Altman DG. *Statistical method for assessing agreement between two methods of clinical measurement*. Lancet 1986; 1:307-310.
10. Gonzáles M, Infante O, Sánchez G, Flores P. *Medición experimental no invasiva de la presión arterial sistémica y de la transmisión del pulso. Reporte preliminar*. Rev Mex Ing Biomed 1994;15:128-129.
11. Flores-Chávez PL, Santos-Martínez LE, Infante-Vázquez O, et al. *Dispositivo hidráulico para la oclusión gradual de la arteria pulmonar en cánidos*. Vet Méx 2005;36:177-187.
12. Santos-Martínez LE, Gotés J, Flores P, et al. *Modificación de un dispositivo hidráulico para el bandaje controlado del tronco de la arteria pulmonar en caninos*. Arch Cardiol Méx 2005;75(Supl 3):10-20.
13. Wolfe TL, Rozmariek CM, Grossblatt M. *Guía para el cuidado y uso de los animales de laboratorio*. National Research Council. National Academy of Sciences 1996;1:1-146. <http://www.nal.usda.gov/awic/pubs/noawicpubs/noawicpubs/careuse.htm>

14. Swoap SJ, Overton JM, Garber G. *Effect of ambient temperature on cardiovascular parameters in rats and mice: a comparative approach*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2004;287:R391-R396.
15. Rodríguez G, Infante O, Valenzuela F, Espinoza L, González C. *Sistema de adquisición de señales fisiológicas*. Rev Mex Ing Biomed 1988;9:25-35.
16. Chiueh CC, Kopin IJ. *Hyperresponsivity of spontaneously hypertensive rat to indirect measurement of blood pressure*. Am J Physiol 1978;234:H690-H694.
17. Lemmer B, Mattes A, Böhm M, Ganten D. *Circadian blood pressure variation in transgenic hypertensive rats*. Hypertension 1993;22:97-101.
18. Baltatu O, Janssen BJ, Bricca G, et al. *Alterations in blood pressure and heart rate variability in transgenic rats with low brain angiotensinogen*. Hypertension 2001;37(2 Part 2): 408-413.

**Correspondencia:**

MVZ. Pedro Lorenzo Flores Chávez,  
Departamento de Instrumentación  
Electromecánica. Instituto Nacional de  
Cardiología Ignacio Chávez. Juan  
Badiano 1, colonia Sección XVI. México,  
DF., 14080. Teléfono 55 73 29 11,  
extensión 1386, fax 55 73 09 26  
Correo electrónico:  
loren\_flo@yahoo.com