

## Neumología y Cirugía de Tórax

Volumen **62**  
Volume

Número **1**  
Number

Enero-Junio **2003**  
January-June

*Artículo:*

Efecto de la hipoxia alveolar moderada sobre la tasa de formación de edema y el transporte de proteínas en un modelo de lóbulo pulmonar canino de edema pulmonar hidrostático, usando métodos de espectrofotometría

Derechos reservados, Copyright © 2003:  
Sociedad Mexicana de Neumología y Cirugía de Tórax, AC

Otras secciones de  
este sitio:

- 👉 Índice de este número
- 👉 Más revistas
- 👉 Búsqueda

*Others sections in  
this web site:*

- 👉 *Contents of this number*
- 👉 *More journals*
- 👉 *Search*



Medigraphic.com



# Efecto de la hipoxia alveolar moderada sobre la tasa de formación de edema y el transporte de proteínas en un modelo de lóbulo pulmonar canino de edema pulmonar hidrostático, usando métodos de espectrofotometría

Andrés Palomar,<sup>1</sup> Rosamelia Fernández,<sup>1</sup> Arturo Gómez,<sup>1</sup> Nora G. Krüll,<sup>1</sup> Rafael Harari,<sup>1</sup> Nancy Gertrudiz,<sup>1</sup> María Luisa Martínez Guerra,<sup>1</sup> Julio Sandoval,<sup>1</sup> Luis Oppenheimer<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Efecto de un nivel moderado de hipoxia alveolar superpuesta sobre la tasa de formación de edema y el transporte de proteínas en un modelo lobar canino de edema pulmonar hidrostático, usando el método de espectrofotometría. Varios mecanismos se han implicado en la génesis del edema pulmonar relacionado con la hipoxia alveolar. En este modelo experimental, estudiamos la formación del edema pulmonar en diferentes fracciones inspiratorias de oxígeno. En 12 lóbulos caninos inferiores izquierdos aislados, perfundidos con sangre y distendidos estáticamente, medimos continuamente la tasa de intercambio de fluido transvascular (Qf) a dos niveles de la fracción inspiratoria de oxígeno (FIO<sub>2</sub>) y a la misma fracción inspiratoria de CO<sub>2</sub>. Qf se determinó en forma continua a partir de los cambios en la transmisión de luz (815 nm) proporcional a los cambios en el hematocrito. Los incrementos de Qf se lograron por cambios en la presión hidrostática (presión capilar 25.2 ± 0.74 cm de H<sub>2</sub>O). Las mediciones de Qf fueron realizadas durante dos condiciones en todos los lóbulos. Normoxia = FIO<sub>2</sub> 21% e hipoxia = FIO<sub>2</sub> 5%. Siete lóbulos comenzaron con normoxia y cinco con hipoxia. Ambas condiciones duraron 30 minutos. **Resultados:** El PaO<sub>2</sub> fue significativamente diferente entre hipoxia (48.28 ± 7.8 mmHg) y normoxia (123 ± 24.1 mmHg). El Qf durante la normoxia fue de 0.469 ± 0.33 y 0.358 ± 0.23 mL/min/100 g durante la hipoxia, P = NS. Qf, evaluado mediante un registro continuo de peso, tampoco fue diferente en ambas condiciones. En un segundo grupo de experimentos utilizando el mismo protocolo, en ocho experimentos calculamos los coeficientes de reflexión de la membrana a las proteínas ( $\sigma$ ), empleando proteínas de plasma coloreadas con azul de Evans y calculando la concentración plasmática por medio de la espectrofotometría a 610 nm. El  $\sigma$  durante la normoxia fue de 0.66 ± 0.17 y 0.63 ± 0.21 en la hipoxia, P = NS. **Conclusión:** En este modelo de edema pulmonar, la hipoxia alveolar no produce ningún cambio significativo en Qf y  $\sigma$ .

**Palabras clave:** Hipoxia alveolar, espectrofotometría.

**ABSTRACT.** Effect of moderate level of superimposed alveolar hypoxia on the rate of edema formation and proteins transport in a canine lobal lobe model of hydrostatic pulmonary edema, using the spectrophotometric method. Several mechanisms have been implicated in the genesis of pulmonary edema related to alveolar hypoxia. In this experimental model, we studied the pulmonary edema formation at different oxygen inspiratory fractions. In 12 isolated blood perfused and statically inflated canine left lower lobes, we measured continuously the rate of transvascular fluid exchange (Qf) at two levels of inspiratory oxygen fraction (FIO<sub>2</sub>) and the same inspiratory CO<sub>2</sub> fraction, Qf was continuously determined from changes in light transmission (815 nm) proportional to changes in hematocrit. We increased Qf by changes in hydrostatic pressure (capillary pressure 25.2 ± 0.74 cm H<sub>2</sub>O). The Qf measurements were performed during two conditions in all lobes. Normoxia = FIO<sub>2</sub> 21% and hypoxia = FIO<sub>2</sub> 5%. Seven lobes started with normoxia and 5 with hypoxia. Both conditions lasted 30 minutes. **Results:** The PaO<sub>2</sub> was significantly different between hypoxia (48.28 ± 7.8 mmHg) and normoxia (123 ± 24.1 mmHg). The Qf during normoxia was 0.469 ± 0.33 and 0.358 ± 0.23 mL/min/100 g during hypoxia, P = NS. Qf as assessed by continuous weight recording was also not different in both conditions. In a second group of experiments using the same protocol, in eight separate experiments we calculated the reflection coefficients of the membrane ( $\sigma$ ), using dyed plasma proteins with Evans blue and calculating the plasma concentration with spectrophotometry at 610 nm. The  $\sigma$  during normoxia was 0.66 ± 0.17 and 0.63 ± 0.21 in hypoxia P = NS. **Conclusion:** In this model of pulmonary edema, moderate alveolar hypoxia does not produce any significant change in Qf and  $\sigma$ .

**Key words:** Alveolar hypoxia, spectrophotometric method.

<sup>1</sup> Departamento Cardiopulmonar del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" y del Departamento de Cirugía de la Universidad de Manitoba, Canadá.

Correspondencia y solicitud de sobretiros:  
Dr. Andrés Palomar, FCCP. Clínica Lomas Altas, Reforma 2608-10. C.P. 11950.  
Tel: 5081-8100. Fax 5081-8295 México, D.F. E-mail: apalomar1@hotmail.com  
Este trabajo de investigación se realizó gracias al apoyo otorgado por CONACYT, proyecto número 3790-M.

## INTRODUCCIÓN

Es bien sabido que el intercambio de fluidos a través de la membrana endotelial está dado por la ecuación de Starling  $J_v = K_f (P_{mv} - P_{pmv}) - \sigma (\pi_{mv} - \pi_{pmv})$ .<sup>1,2</sup> También se sabe que las fuerzas y los mecanismos implicados en la génesis del edema son mucho más complejos, in-

cluyendo el papel del drenaje linfático y otros mecanismos de protección, y también la interacción con otros factores vasoactivos concomitantes que se encuentran presentes durante la formación del edema.<sup>3-5</sup>

La hipoxia alveolar por debajo de 70 mmHg es un estímulo poderoso para alterar el tono vascular, produciendo vasoconstricción y, por lo tanto, es capaz de modificar estas fuerzas hidrostáticas. De hecho, el factor hidrostático debido a la vasoconstricción hipóxica se ha implicado como uno de los mayores factores patogénicos en el edema pulmonar de las alturas.<sup>8-11</sup> El papel aislado de la hipoxia alveolar en la formación del edema, sin embargo, no se ha llegado a comprender completamente. En tanto que la mayoría de los estudios han demostrado una significativa influencia de la hipoxia alveolar en la formación del edema,<sup>1,5,8,10,11</sup> otros estudios han mostrado poco o ningún cambio en la magnitud del edema pulmonar, o bien un decremento en la tasa de formación del edema en presencia de vasoconstricción hipóxica debida a un área de superficie vascular disminuida. En el presente estudio, investigamos si grados moderados de hipoxia alveolar, tales como los observados en el establecimiento clínico del edema pulmonar hidrostático, pueden influir en un modelo de edema pulmonar hidrostático en un lóbulo canino aislado.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Preparación de los animales y establecimiento de los circuitos.** Se anestesiaron con pentobarbital sódico (30 mg/kg iv) perros mestizos de sexo indistinto y con un peso de entre 20-30 kg, se intubaron y ventilaron a través de un tubo endotraqueal con un ventilador de volumen (C.F. Palmer London), a un volumen corriente de 10 a 15 mL/kg y a 12 inspiraciones/min. Se colocó un catéter en la vena femoral para infundir fluidos y drogas, y otra cánula en la arteria femoral, a partir de la cual se sangró posteriormente al animal. Se practicó una toracotomía lateral izquierda a través del quinto espacio intercostal izquierdo, y una vez que se ingresó en la cavidad torácica, se agregaron 2 cm de H<sub>2</sub>O de presión espiratoria final a la línea espiratoria, se aisló el lóbulo inferior izquierdo junto con la arteria lobular; antes de que los vasos fueran canulados se heparinizó a los animales (500 UI/kg). La arteria lobar se canalizó luego con una cánula silástica de 0.5 cm de diámetro, que posee un catéter de polietileno de 0.2 cm colocado de forma lateral para registrar la presión de afluencia de la arteria pulmonar (Pa), que permitió el llenado de forma inversa a partir de los vasos, con cuidado de no permitir la introducción de burbujas de aire. Luego se abrió el pericardio, se introdujo una cánula combinada con las mismas características que la previa, a través del apéndice atrial izquierdo. Luego, los animales fue-

ron desangrados a través del catéter de la arteria femoral, y la sangre obtenida se utilizó para la separación del plasma y la perfusión del lóbulo; posteriormente, se aplicó una inyección de cloruro de potasio para ocasionar el paro cardiaco. Se introdujo la cánula en la vena pulmonar inferior para recolectar el retorno venoso y registrar la presión venosa (Pv), el bronquio principal del lóbulo inferior izquierdo se canuló con un conector recto. Luego, el lóbulo canulado se extirpó de la cavidad torácica, se seccionó cuidadosamente el exceso de tejido y se colocó el lóbulo en una malla. En proximidad, tres almohadillas espumosas circulares, de 3 cm de diámetro, cada una con una cuerda a través del centro se aseguraron a la superficie del lóbulo con un adhesivo de cianoacrilato. Luego se amarraron las cuerdas de forma conjunta con el hilo en posición colgante, y el lóbulo se suspendió de un transductor de fuerza para realizar mediciones de peso.

El circuito de perfusión se establece del siguiente modo (*Figura 1*), desde un depósito, la sangre se impele hacia la cánula arterial usando una bomba de infusión continua a 150 mL/min, pasando previamente a través de un sistema de calentamiento que consiste de un baño térmico de 40° C, manteniendo la temperatura de la sangre cercana a los 37° C. Después de lograr la perfusión del lóbulo, la sangre regresa al depósito a través de la cánula venosa. En el depósito, se evitó la sedimentación de los glóbulos rojos mediante un mezclador graduado. Se interponen en el circuito dos detectores espectrofotométricos antes de que éste llegue al lóbulo. Se registraron continuamente la Pa y la Pv en un osciloscopio fotográfico a través de catéteres llenos de solución salina; las cánulas se conectaron en su extremo distal a transductores de Statham de presión diferencial para obtener la presión de entrada (Pe) y la presión de salida (Ps). La presión capilar (Pc) se calcula mediante la fórmula de Gaar, de la manera siguiente:  $Pc = Ps + [0.4 (Pe - Ps)]$ .<sup>4</sup> Las señales de presión se calibraron de tal modo que 10 cm de agua correspondiesen a 1 voltio, estas señales se almacenan en una computadora personal que calcula y grafica continuamente los resultados en pantalla. El lóbulo es distendido estáticamente con una presión de entre 4 y 5 cm de agua y se lo mantiene dentro de una cámara de plástico transparente en un ambiente caliente y húmedo para evitar cambios en el hematócrito resultantes de la evaporación. En este protocolo, la Pa (Presión alveolar) fue siempre menor que 5 cm de agua, trabajando en la Zona West III. El depósito venoso se colocó inicialmente por encima del hilo lobular, para conseguir una presión capilar cercana a los 8 cm de H<sub>2</sub>O y se mantuvo un flujo sanguíneo continuo de 150 mL/min.

**Protocolo.** En el presente estudio, se realizaron dos grupos separados de experimentos. En el primer grupo

(n=12), estudiamos la tasa de formación del edema, evaluada mediante un método espectrofotométrico, bajo condiciones normóxicas e hipóxicas. En el segundo grupo de experimentos (n = 8), el coeficiente de reflexión de la membrana con respecto a las proteínas se calculó utilizando análisis espectrofotométricos de una serie de muestras de proteínas de suero coloreadas y hematocritos.

En los dos grupos de experimentos se siguió un protocolo similar. Después de asegurar la estabilidad de la preparación y luego de calibrar las señales, produjimos un edema pulmonar hidrostático. Para iniciar la formación del edema, se incrementó la presión capilar a través de la elevación del depósito de sangre hasta conseguir una presión capilar de 25 cm de H<sub>2</sub>O. Luego se midió la tasa de formación en todos los lóbulos bajo dos condiciones diferentes: normoxia (FIO<sub>2</sub> 21%, CO<sub>2</sub> 5%), e hipoxia (FIO<sub>2</sub> 5%, CO<sub>2</sub> 5% ambos balanceados con nitrógeno), que se aplicaron al azar. En el primer grupo de experimentos, siete de ellos comenzaron con un periodo de normoxia y cinco con hipoxia. Durante la calibración, en condición basal y al final de cada periodo de filtración, se determinaron el pH sanguíneo, PaO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub> y un micro-hematocrito.

**Medición espectrofotométrica de la tasa de formación del edema.** Para el primer grupo de experimentos, un espectrofotómetro en línea, interpuesto al sistema (lobar) de perfusión, se utilizó para determinar la tasa de filtración transvascular (*Figura 1*). Oppenheimer y colaboradores han demostrado que los cambios en la absorción de luz en una columna de sangre son proporcionales a los cambios en el hematocrito,<sup>3,13</sup> en este modelo, los cambios en el hematocrito reflejan la producción o reabsorción del edema. Un fotodetector mide continuamente la transmisión de luz de un rayo láser de una longitud de onda de 815 nm. La luz de 815 nm está cerca del punto isobéptico; sin embargo, se producen pequeños cambios cuando la hemoglobina se desatura de O<sub>2</sub>. Para corregir estos cambios, se utilizó una segunda luz de 670 nm, la cual es muy sensible a los cambios en la saturación y se mueve en dirección opuesta a la luz de 815 nm.

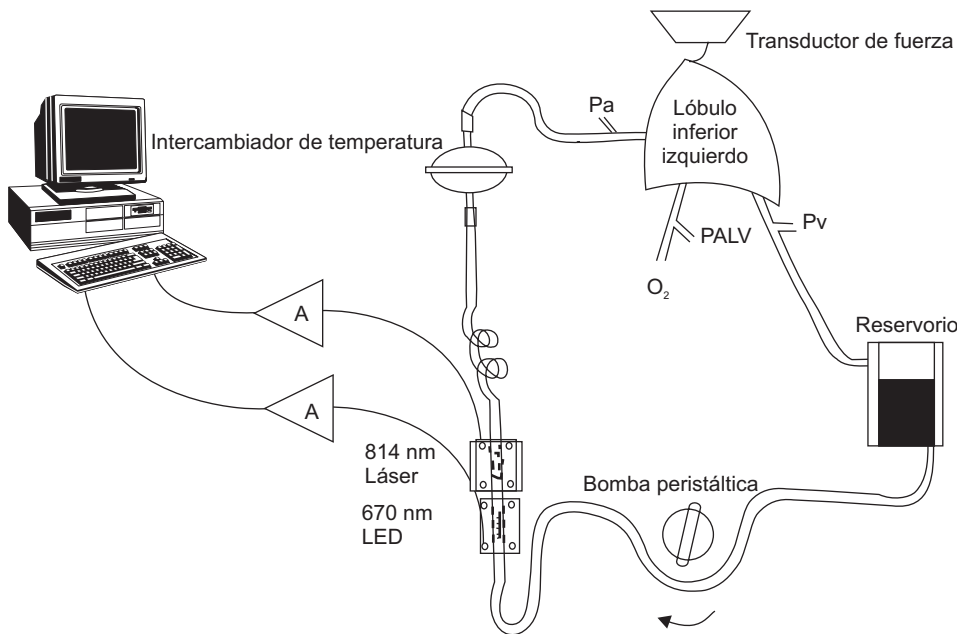
**Calibración de las señales lumínicas para el cálculo del edema pulmonar.** La *figura 2* muestra una calibración típica tal como la que se realizó en los experimentos; la gráfica indica el factor tiempo, en segundos, y el logaritmo del voltaje de las señales originales (absorbancia) para 670 nm y 815 nm. La calibración comenzó con el lóbulo en condición isogravimétrica y con FIO<sub>2</sub> de 21% y CO<sub>2</sub> al 5%, luego se procedió a la infusión de tres bolos de 5 mL cada uno de plasma autólogo, agregado consecutivamente al depósito del circuito, produciendo una dilución de glóbulos rojos (algo que igualaría la reabsorción del edema pulmonar); seguidamente se cambia la fracción de O<sub>2</sub> inspiratoria al 5%, produ-

ciendo la desaturación de la hemoglobina y finalmente se regresa al FIO<sub>2</sub> de 21%. En estas cinco etapas, además de registrar el logaritmo del voltaje de ambas longitudes de onda de luz, se tomaron muestras de sangre para gasometría y un micro-hematocrito. Se realizó una correlación simple entre los cambios de volumen agregado en las cinco etapas contra los cambios en el logaritmo del voltaje, se obtuvo una señal para medir el edema en mililitros, la cual es independiente de los cambios de saturación. Se efectuó una segunda correlación múltiple entre la PaO<sub>2</sub> y las mismas señales lumínicas, obteniendo con éxito una señal corregida de 670 nm, que mide PaO<sub>2</sub> de forma continua, y que es independiente de los cambios en el hematocrito. Se puede ver un ejemplo en el *cuadro 1*.

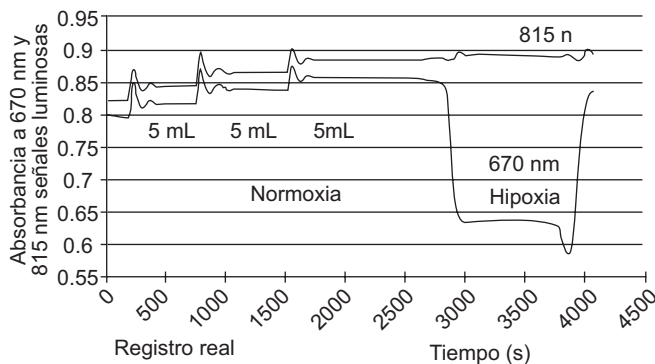
Se obtuvo el Qf de la pendiente del edema contra la variable del tiempo, consiguiendo esta medida con el método de espectrofotometría, al igual que con el peso lobar. La medición del peso también se cuantificó de un modo simultáneo y continuo. Para la cuantificación gravimétrica se utilizó un transductor de fuerza, y su señal se amplificó y filtró, de modo que el sistema registrase cambios de peso del orden de los 100 mg (modelo FT03 tipo Grass). La tasa de formación del edema se midió en los últimos quince minutos de cada periodo de filtración, minimizando los incrementos en peso subsecuentes a los cambios vasculares. Al final del experimento y después de extraer las cánulas, se registró el peso lobar húmedo en una balanza electrónica (modelo Metler PE-3600). Posteriormente, se secaron los lóbulos, inflándolos con aire para obtener el peso seco, logrando un índice confiable de la producción del edema.

**Transporte de proteínas.** Este aspecto se analizó en el segundo grupo de experimentos (n = 8), en el cual los lóbulos siguieron el mismo protocolo experimental que se describió anteriormente. Durante la preparación del animal, después de la administración de heparina, se extrajeron 100 mL de sangre para obtener plasma claro sin colorear, que se usó más tarde durante la calibración. Se infundieron lentamente a través de la vena femoral 10 mg/kg de azul de Evans en 20 mL de solución salina para teñir a las proteínas. Estando el lóbulo en condiciones isogravimétricas con FIO<sub>2</sub> al 21% y CO<sub>2</sub> al 5%, subsiguientemente se agregaron 3 bolos de 5 mL de plasma claro al depósito, y se obtuvieron muestras de sangre para el micro-hematocrito, gasometría y mediciones espectrofotométricas de proteínas plasmáticas. Se tomaron nuevas muestras antes de incrementar la presión capilar, al final del periodo de filtración, durante la normoxia y la hipoxia.

**Medición espectrofotométrica de las proteínas plasmáticas.** Las muestras de sangre tomadas del depósito se centrifugaron durante cinco minutos para ob-



**Figura 1.** Preparación experimental del lóbulo canino aislado.



**Figura 2.** Método de calibración. La figura muestra el factor tiempo, en segundos, y el logaritmo de la señal original (absorbancia) a 670 nm y 815 nm de señales lumínicas, durante 5 etapas de calibración, la progresiva dilución de glóbulos rojos con tres bolos de plasma y durante los cambios en la fracción inspiratoria de oxígeno. Los cambios del logaritmo del voltaje se aprecian obviamente (equivalentes a la reabsorción del edema) después de agregar una pequeña cantidad de plasma.

tener plasma, se agregaron 250 microlitros de solución Trabakin a 0.5 mL de plasma; esta solución reacciona con la hemoglobina libre y la convierte en carboxihemoglobina. Luego, se agregaron 250 MCL de solución salina, se midió la absorbancia de luz a 610 nm usando un espectrofotómetro (tipo Beckman DU-65), esta longitud de onda corresponde a la absorbancia más alta del azul de Evans; también se midió la absorbancia de las muestras de plasma a 410 nm de longitud de onda, para corregir los cambios de absorbancia debido a la hemólisis,

**Cuadro 1.** Análisis de correlación múltiple.

PaO <sub>2</sub>	mL-Bolus	log 815 nm	log 670 nm
152	0	0.897	0.794
150	-5	0.841	0.814
144	-10	0.862	0.836
141	-15	0.882	0.856
59	-15	0.906	0.244
140	-15	0.878	0.842
Cambio de volumen		X Coef -267.84 -11.31	
		r = 0.996	
PaO <sub>2</sub>		X Coef -221.39 -133.94	
		r = 0.989	

los que se corresponden con el pico máximo de absorbancia para la carboxihemoglobina.

La concentración relativa de proteínas se obtiene por medio de la absorbancia lumínica a 610 nm; la masa de proteína total resulta de multiplicar la concentración proteica y el volumen de plasma del circuito. La *figura 3* muestra la calibración de un experimento típico, esta gráfica se obtiene a partir de la recolección de datos a través de la medición de las proteínas en el espectrofotómetro a 610 nm, y su concentración relativa después de agregar al circuito tres bolos de plasma coloreado. La pendiente entre la absorbancia de luz y concentración relativa de proteínas en todos los experimentos durante la dilución de plasma autólogo muestra un valor medio de  $r = 0.9863 \pm 0.019$ . Los altos valores de  $r$  nos permiten usar el método del espectrofotómetro para cuantificar la concentración de proteína plasmática.

**Cálculo del coeficiente de reflexión.** El coeficiente de reflexión se calcula con los resultados obtenidos mediante la fórmula propuesta por White y colaboradores.

$$\sigma = \frac{\ln \frac{C_p}{C_{p_0}}}{\ln \frac{1}{H_0 - 1}} \cdot \frac{1}{H - 1}$$

Donde  $C_{p_0}$  es la concentración inicial de proteína y  $H_0$  es el hematócrito inicial,  $C_p$  y  $H$  representan valores subsiguientes de proteína y hematócrito.

## RESULTADOS

La *figura 4* muestra un experimento típico del primer grupo, el periodo de calibración y la formación del edema cuantificada en mililitros. El peso lobar se incrementa como consecuencia de la distensión vascular y la formación del edema, y se expresa en gramos. Los periodos de normoxia e hipoxia se pueden apreciar perfectamente en la línea de presión parcial de oxígeno.  $PaO_2$  decrece por debajo de los 50 mm de Hg en todos los experimentos durante el periodo de hipoxia. La presión capilar calculada se expresa en la línea continua, la cual se mantuvo en valores similares en los dos periodos de filtración, y fue cercana a los 25 cm de  $H_2O$ .

La *figura 5* muestra los resultados de los coeficientes de filtración obtenidos por láser, y el peso continuo en los periodos de normoxia e hipoxia. Método láser, normoxia (21% de  $FIO_2$ ), la media de  $Q_f$  y la desviación estándar corregida por tamaño lobar fue de  $0.469 \pm 0.33$  mL/100 min/g de tejido pulmonar; durante la hipoxia (5%  $FIO_2$ ),  $Q_f$  fue de  $0.358 \pm 0.23$  mL/min/100 g de tejido pulmonar,  $P = 0.086$ . La cuantificación del edema por peso lobar durante el periodo de normoxia fue de  $0.36 \pm 0.30$  g/min/100 g de tejido pulmonar, y durante el periodo de hipoxia fue de  $0.302 \pm 0.15$  g/min/100 g de tejido pulmonar,  $P = 0.1011$ . Durante la hipoxia, con ambos métodos se encontró una tendencia al decremento de la filtración; sin embargo, no alcanzó una diferencia significativa.

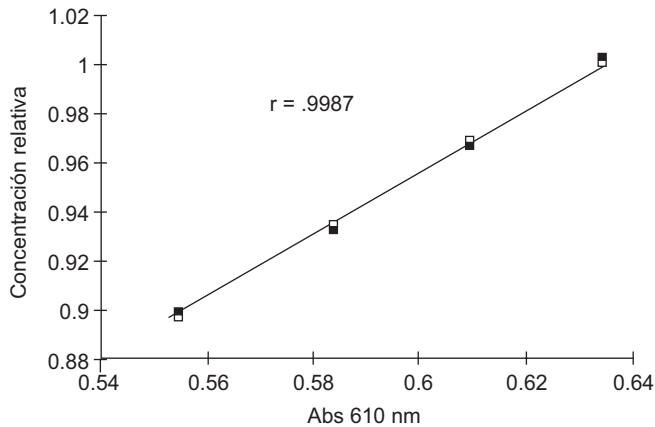
Los pesos lobares totales al final del experimento (después de ambos periodos de filtración) (*Figura 6*) se comparan con los lóbulos control (sin la inducción de edema publicada por nosotros<sup>7</sup>). Los pesos lobares se dividieron por el peso animal (PA) para corregir diferencia de

tamaños lobares. Hubo un significativo incremento del edema pulmonar, expresado por un alza en el peso húmedo final (PH), PH/PA  $3.57 \pm 0.87$ . Valores control: PH/PA  $2.12 \pm 0.12$ ,  $P < 0.01$ . En la misma gráfica se muestran los pesos lobares después de secarlos con aire, P.S. logrando un peso estable y comparándolo con los valores control; esta medida nos da una referencia del tipo de edema. El P.S. (peso seco) final de nuestros lóbulos dividido por el PA fue de  $0.75 \pm 0.14$ , y los valores control  $0.46 \pm 0.03$  P.S./P.A,  $P < 0.005$ . Finalmente, se muestra la relación entre P.H./P.S que nos daría la cantidad absoluta de fluido lobar; se encontró un incremento significativo en P.H./P.S de  $5.35 \pm 0.51$ , comparando los valores control P.H./P.S de  $4.61 \pm 0.30$ ,  $P < 0.057$ .

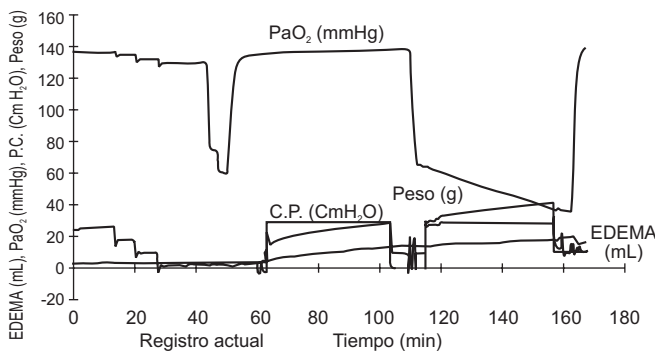
En el *cuadro 2* se presentan los valores promedio del primer grupo de 12 experimentos, en los cuales el  $PaO_2$  de la sangre, el pH,  $PaCO_2$  y la presión capilar pulmonar se comparan en condiciones basales y al final de los periodos de normoxia e hipoxia. El  $PaO_2$  durante la condición basal o la calibración ( $FIO_2$  21%) fue de  $131.5 \pm 9.9$  mm de Hg; en el periodo de normoxia (sin cambios en  $FIO_2$ ) se mantuvo cercano a  $126.5 \pm 10.3$ , y durante el periodo de hipoxia se redujo significativamente a  $49.9 \pm 3.3$ ,  $P < 0.0001$ . El pH sanguíneo fue normal en condiciones básicas, y resultó de  $7.42 \pm 0.13$ ; durante el periodo de normoxia e hipoxia se redujo sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas,  $7.40 \pm 0.96$  y  $7.38 \pm 0.09$  respectivamente. El  $PaCO_2$  basal fue baja ( $22.3 \pm 4.5$  mm de Hg) y se mantuvo sin cambios durante el periodo de normoxia ( $23.8 \pm 5.5$  mm de Hg), al igual que durante la hipoxia ( $23.5 \pm 4.5$  mm de Hg;  $P = NS$ ). La presión capilar basal fue de  $8.2 \pm 2.1$  mm de Hg, incrementándose en los dos periodos de forma similar (normoxia:  $25.8 \pm 0.9$  mm de Hg; e hipoxia  $25.7 \pm 0.8$  mm de Hg,  $P = NS$ , entre periodos de filtración). En ninguno de nuestros lóbulos estudiados encontramos una respuesta vasoconstrictora vascular durante el periodo de hipoxia, y no fue necesario ajustar la altura del depósito venoso para mantener el mismo nivel de presión capilar pulmonar.

Los resultados del segundo grupo de experimentos (*Figura 7*), los coeficientes promedio de la reflexión de las membranas a la proteína, calculados por la fórmula propuesta por White, no muestran un cambio significativo a diferentes niveles de  $PaO_2$ , normoxia  $\sigma = 0.66 \pm 0.17$ , hipoxia  $= 0.63 \pm 0.21$ ,  $P = NS$ . La tasa de filtración del segundo grupo de experimentos, obtenida con cambios en el micro-hematócrito, encuentra un resultado similar al primer grupo de experimentos, en el cual también existe una ligera caída de la filtración durante el periodo de hipoxia, sin llegar a ser significativa. El  $Q_f$  en normoxia fue de  $0.50$  mL/min/100 g  $\pm 0.13$ , y en hipoxia fue de  $0.45$  mL/min/100 g  $\pm 0.19$ .  $P = NS$  (no se muestra en la figura).

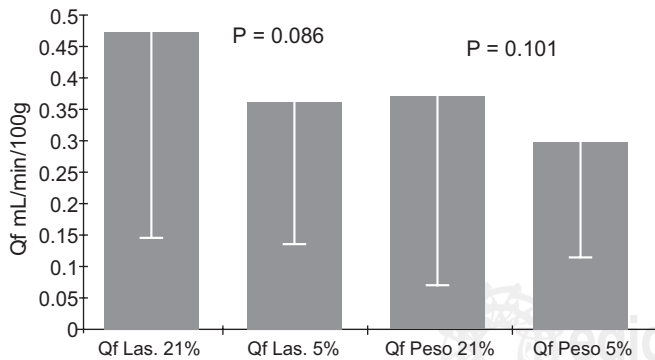
Efecto de la hipoxia alveolar moderada sobre el edema pulmonar



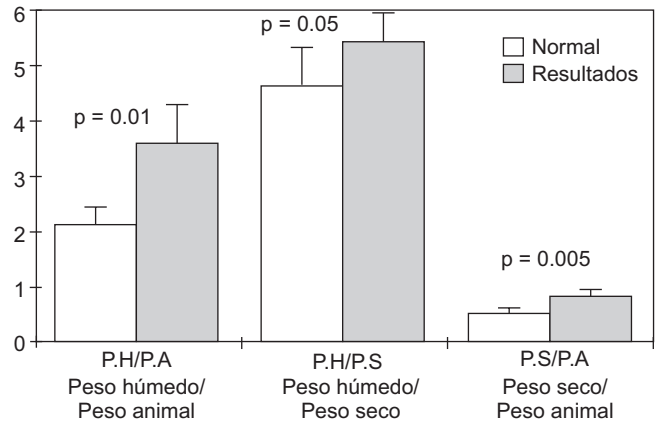
**Figura 3.** La figura indica la medida de la concentración relativa de proteínas y la absorbencia de luz a 610 nm después de agregar al circuito sanguíneo tres bolos de plasma libre coloreado.



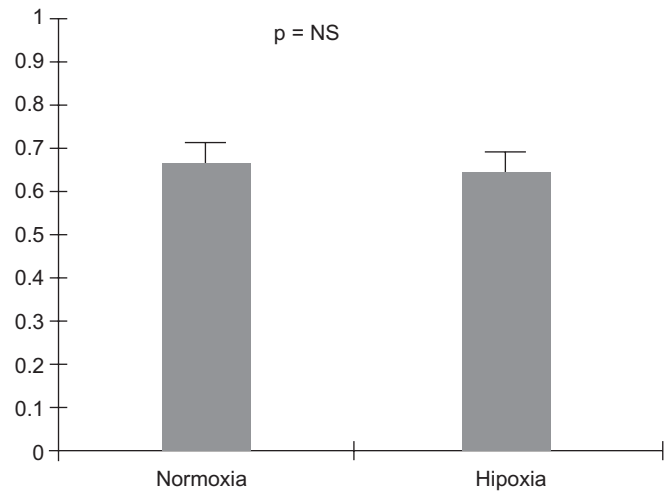
**Figura 4.** La figura muestra un experimento típico luego de corregir la señal de 815 nm para el edema en mL y una señal de 670 nm para el PaO<sub>2</sub> en mm de Hg; los cambios en el peso lobar se indican en gramos, y la presión capilar en mm de Hg. Se incluye el periodo de calibración y dos períodos de filtración de 30 minutos cada uno (normoxia e hipoxia).



**Figura 5.** La figura muestra la tasa de filtración, en mL por minuto, corregidos por 100 gramos de tejido pulmonar. No se observan cambios significativos en la tasa de filtración durante esta operación en el periodo de hipoxia, medidos con métodos gravimétricos y espectrofotométricos.



**Figura 6.** Esta figura muestra un incremento en el agua pulmonar total al final de los dos periodos de filtración, demostrado por el aumento en el peso húmedo/peso del animal y el peso húmedo/peso seco en comparación con los valores obtenidos en lóbulos con edema y con datos publicados previamente por nuestro laboratorio.<sup>11</sup> El incremento en el peso seco sugiere que se filtraron partículas sólidas (proteínas) durante el experimento.



**Figura 7.** Se indica que no ocurrió ningún cambio en el coeficiente de reflexión de la membrana durante diferentes fracciones inspiratorias de oxígeno.

**DISCUSIÓN**

En la fisiopatología del edema pulmonar asociado con la hipoxia alveolar, se han detectado varios mecanismos. El más estudiado es el factor hidrostático debido al incremento de la presión capilar pulmonar subsiguiente a la vasoconstricción hipóxica, y el más aceptado es la combinación de este factor con el daño vascular inducida por un incremento en el flujo sanguíneo pulmonar y el daño de la membrana vascular pulmonar, con el consecuente incremento en la permeabilidad.<sup>12</sup>

**Cuadro 2.** Cambio de gas.

	Basal	Normoxia	Hipoxia	P
PaO <sub>2</sub>	131.5 ± 9.9	126.5 ± 10.3	49.9 ± 3.3	0.0001
PH	7.42 ± 0.13	7.40 ± 0.96	7.38 ± 0.09	NS
PaCO <sub>2</sub>	22.3 ± 4.5	23.8 ± 5.5	23.5 ± 4.5	NS
Presión capilar	8.2 ± 2.1	25.8 ± 0.9	25.7 ± 0.8	NS

El edema pulmonar de la altitud (EPA) se presenta con una frecuencia de 1-2% en pacientes previamente saludables,<sup>16</sup> típicamente uno o dos días después de ascender a elevadas altitudes por encima de los 2,500 m por encima del nivel del mar, sin aclimatación previa.<sup>8-10</sup> El incremento de la permeabilidad vascular para las proteínas se asocia con la hipertensión pulmonar, expresada por el ascenso en el contenido proteico del fluido del edema; por lo tanto, se considera como un tipo de edema mixto.<sup>8,12,17,18</sup> El lavado broncoalveolar de pacientes con EPA, por hallazgos en autopsias, y otros estudios practicados en animales<sup>12,16,19,20</sup> apoyan estos resultados; sin embargo, su patogénesis no está bien conocida con certeza.<sup>8,9,10,12,17,21</sup> Se considera que el incremento en la presión pulmonar capilar debido a la hipoxia es el factor más importante.<sup>4,8,20,21</sup> Algunos autores sostienen que otro factor importante es la hiperventilación, que se encuentra presente en estos pacientes.<sup>21</sup>

La reducción de la presión de oxígeno alveolar puede alterar uno o más de los determinantes transvasculares.<sup>11,22</sup> La relación, en la vasculatura pulmonar, entre el flujo sanguíneo y la presión arterial pulmonar, en respuesta a la vasoconstricción hipóxica pulmonar, muestra una progresiva curva típica de correlación lineal. En los modelos caninos, la relación entre diferentes FIO<sub>2</sub> y la presión arterial pulmonar demuestra un decremento en la presión arterial pulmonar citada (vasodilatación), con valores de PaO<sub>2</sub> por debajo de los 36-38 mm de Hg<sup>23</sup>. Por esta razón, el grado de hipoxia alveolar utilizado en nuestro modelo fue moderado, evitando bajas presiones de oxígeno, pues esto puede producir daños en el endotelio vascular.<sup>23</sup>

Nuestra incapacidad para producir vasoconstricción pulmonar hipóxica en el pulmón aislado del perro es consistente con otros estudios que utilizan esta preparación. Peake et al,<sup>24</sup> quienes compararon las respuestas vasculares a la hipoxia en cinco especies diferentes, tampoco pudieron producir vasoconstricción pulmonar hipóxica en el pulmón canino, aunque observaron una sustancial vasoconstricción pulmonar hipóxica en pulmones de cerdos, hurones, gatos y conejos. Se ha relacionado una disminuida o nula respuesta a la presión hipóxica en estas especies con la alcalosis del pH sanguíneo,<sup>25</sup> tempera-

turas de la sangre por debajo de los 38° C,<sup>26</sup> o un prolongado periodo de isquemia entre el paro circulatorio y la perfusión aislada.<sup>26</sup> Sin embargo, ninguna de estas explicaciones parece ser aplicable a nuestro estudio, porque la media del pH sanguíneo fue normal (7.40), la temperatura de perfusión estuvo cercana a los 37° C (no visto en los resultados), y el periodo entre la interrupción del flujo sanguíneo y la remoción del lóbulo, el paro cardíaco y la perfusión aislada, fue corto.

La vasoconstricción hipóxica produce un incremento en la presión capilar. Este aumento severo puede producir daños en la pared vascular, generando una filtración de proteínas, incluyendo a aquellas con un alto peso molecular, como la globulina, los eritrocitos y los leucocitos;<sup>4,12</sup> exponiendo de este modo a la membrana basal y causando la adhesión de plaquetas y neutrófilos, favoreciendo la trombosis *in situ* y activando los marcadores inflamatorios como leucotrieno B4 y las fracciones del complemento.<sup>12,16</sup> Se han considerado algunos mediadores en la vasoconstricción hipóxica, por ejemplo: la activación del sistema nervioso adrenérgico, la liberación de catecolamina circulante, serotonina, histamina, prostaglandinas, angiotensina II, tromboxano, leucotrienos C4 y D4, péptido auricular natriurético, factor de activación de plaquetas y decremento en la producción de óxido nítrico, además del factor relajante del endotelio.<sup>5,17,23,27,28</sup>

Algunos investigadores no han demostrado alteración de la permeabilidad vascular durante la hipoxia como fenómeno aislado;<sup>11,19</sup> sin embargo, con base en descubrimientos a partir de lavados broncoalveolares se demostró un incremento celular, principalmente de leucocitos y macrófagos alveolares, incrementando la posibilidad de que se produzca el edema por la combinación de otros factores: daños endoteliales e incremento de la presión microvascular.<sup>29</sup>

En nuestros dos grupos de experimentos, el edema se induce a dos niveles de presión parcial de oxígeno alveolar. No hubo cambios en Qf o en el coeficiente de reflexión de la membrana durante grados moderados de hipoxia alveolar. White y colaboradores reportaron resultados similares al usar un modelo experimental similar en hurones expuestos a un corto periodo de hipoxia; ellos no pudieron demostrar cambios en el coeficiente



de reflexión de la membrana para la albúmina, IgM o IgG. Estos autores concluyeron que a pesar del hecho que la hipoxia aumenta la presión vascular, se demoran los efectos sobre la permeabilidad de las proteínas.<sup>11</sup>

Con el uso de este modelo de lóbulo aislado, nosotros tuvimos varias ventajas para la cuantificación del edema pulmonar, pues las variables de la presión capilar se controlan de una forma exacta, el flujo lobar se mantiene constante, contando con un perfecto control sobre la fracción inspiratoria de oxígeno y la ventaja del método espectrofotométrico para la medición de la tasa de formación del edema. Los resultados de nuestro estudio no demostraron cambios en el  $Q_f$  o  $\sigma$ ; esto se puede deber a la pérdida de la vasoconstricción en el modelo de lóbulo aislado, como consecuencia de diversos factores. **1.** Algunos autores han demostrado, tal como ya se mencionó, que la reactividad del modelo canino a la hipoxia no es, sin embargo, el mejor modelo, otros investigadores han utilizado hurones, cerdos o conejos como modelos animales. **2.** El nivel de hipoxia alveolar fue sólo moderado, siendo capaz de generar una reactividad más grande a niveles más bajos de  $PaO_2$ ; sin embargo, existe la posibilidad de ocasionar un daño a la membrana cuando los lóbulos son expuestos a  $FIO_2$  de 0% de  $O_2$ . **3.** El tiempo de exposición a la hipoxia fue un corto periodo de 30 minutos; esto se decidió para evitar tiempos de exposición conocidos como dañinos para la membrana capilar, los cuales hacen que los lóbulos se edematizan mucho. **4.** Otra explicación es el decremento de la respuesta vasoconstrictora a la hipoxia debida a la expansión de la vasculatura pulmonar por el incremento de la presión capilar pulmonar hasta 25 mm de Hg durante ambos periodos y que puede, de hecho, es un modelo de edema pulmonar hipóxico e hidrostático. **5.** La ausencia de reactividad de la vasculatura se puede deber a la pérdida de inervación a nivel pulmonar.

El hecho de no haber encontrado cambios en el coeficiente de reflexión de la membrana para las proteínas durante el periodo de hipoxia, posiblemente se deba a la ausencia del daño directo del endotelio vascular en este grado de hipoxia alveolar, tal como lo demuestra Homik.<sup>30</sup> Al comparar nuestros resultados con el grupo de experimentos conducidos por White y colaboradores en hurones expuestos a hipoxia alveolar aguda, vemos que ellos también encontraron ausencia de cambios en  $\sigma$ ; esto significa que no existen cambios en el coeficiente de reflexión de la membrana para las proteínas durante la hipoxia. Por otra parte, ellos reportaron un valor levemente mayor en  $\sigma$  ( $0.80 \pm 0.09$ ); por lo tanto, se podría especular que la hipoxia aguda no produce cambios en la permeabilidad de la membrana, o sólo la vasoconstricción sería el mecanismo que produciría el edema; de hecho, se necesitaría una inervación intacta durante la

hipoxia para que se produjera un daño por permeabilidad.

Otros estudios realizados con diferentes modelos han demostrado un incremento en el agua extravascular pulmonar durante la exposición a la hipoxia; sin embargo esto ocurrió con periodos más largos de exposición, de 24 a 48 horas.<sup>11</sup> Stelzner y colaboradores demostraron, trabajando con ratas, un incremento del peso pulmonar y un alza en el filtrado de proteínas después de la exposición a una hipoxia ligera durante el mismo periodo de tiempo. La filtración o fuga de proteínas no se atribuye en estos experimentos al aumento de la presión vascular o al área superficial, pues la fuga de albúmina se incrementa luego de la primera hora de exposición a la hipoxia.<sup>31</sup>

La aplicación de método espectrofotométrico utilizado en nuestro estudio, además de ser innovador, proporciona datos muy confiables y reproducibles acerca de la cuantificación de la tasa de formación del edema pulmonar, y es independiente de los cambios vasculares inducidos por el aumento de la presión capilar.<sup>29,32-37</sup>

## CONCLUSIONES

- 1). En este modelo experimental canino de edema pulmonar hidrostático, la hipoxia alveolar moderada no incrementa la tasa de formación del edema al mismo nivel de presión capilar; tampoco modifica el coeficiente de reflexión de las proteínas.
- 2). Encontramos una buena correlación entre los resultados de  $Q_f$  obtenidos por espectrofotometría y el peso lobar.
- 3). En este modelo de lóbulo aislado, incluso cuando se redujo bastante la fracción inspiratoria de oxígeno, no encontramos ningún cambio significativo en la presión arterial (vasoconstricción hipóxica), situación que puede cambiar nuestra interpretación; se requiere un modelo con una inervación pulmonar intacta, o un modelo animal más sensible a la hipoxia de manera natural o inducida por drogas.

## REFERENCIAS

1. Starling EH. On the absorption of fluid from the connective tissue spaces. *J Physiol. (London)*. 1896; 19: 312-26.
2. Fitz-Roy E. Curry: Mechanic and thermodynamics of transcapillary exchange. *Handbook of Physiology*. Chapter 8., American Physiological Society. 1984; Sec 2, Vol IV: 309-374.
3. Palomar A, Furuya ME, Gómez A, Martínez-Guerra ML, Gertrudiz N, Oppenheimer L, Sandoval J. Espectrofotometría continua como método para el estudio del edema pulmonar en una preparación de lóbulo pulmonar canino aislado. *Arch Inst Cardiol Méx* 1996; (66): 10-22.

4. Cope D, Grimbert F, Downey J, Taylor AE. Pulmonary capillary pressure: A review. *Crit Care Med* 1992; 20: 1043-1056.
5. Murray J, Nadel J. Textbook of respiratory medicine. Editorial Saunders 2a edición 1994, Vol. 1 p.p. 139-174. Vol 2 p.p. 1725-1777.
6. Von Euler, Lijstrand G. Observations on the pulmonary arterial blood pressure in the cat. *Acta Physiol Scand* 1946; 12: 301.
7. Craven KD, Oppenheimer L, Wood LD. Effect of contusion and flail chest on pulmonary perfusion and oxygen exchange. *J Appl Physiol* 1979; 47: 729-37.
8. Bärtsh P, Maggiorini M, Ritte M, Noti C, Vock P, Oelz O. Prevention of high-altitude pulmonary edema by nifedipine. *N Engl J Med* 1991; 325: 1284-9.
9. Scherrer U, Vollenweider L, Delabays A et al. Inhaled nitric oxide for high. Altitude pulmonary edema. *N Engl J Med* 1996; 334: 624-9.
10. García J, Sandoval J, Verdejo J, García G, Prado A. Edema pulmonar de las alturas. Consideraciones fisiopatológicas a propósito de un caso. *Arch Inst Cardiol Méx* 1989; 59: 155-159.
11. White P, Sylvester J, Humphrey R, Permutt T, Permutt S, Brower R. Effect of hypoxia on lung fluid balance in ferrets. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 1112-7.
12. West J, Mathieu-Costello O. High altitude pulmonary edema is caused by stress failure of pulmonary capillaries. *Int J Sports Med* 1992; 13 (suppl 1): 54-58.
13. Oppenheimer L, Huebert D. Near-infrared spectrophotometric device to measure fluid exchange in blood-perfused organs. *J Appl Physiol* 1993; 74(5): 2205-2213.
14. Oppenheimer L, Smit A, Palomar A. En: New therapeutic strategies. The pulmonary circulation: Moving from passive to active control. Pulmonary edema reabsorption. Ed. Michael R. Pinsky. W.B. Saunders C. London. 1996 Chapter 19, 271-282.
15. White P, Brower R, Sylvester J, Permutt T, Permutt S. Factors influencing measurement of protein reflection coefficient by filtered volume technique. *J Appl Physiol* 1993; 74: 1374-80.
16. Schoene R, Swenson E, Pizzo C, Hackett P, Roach R, Mills W et al. The lung a high altitude: Bronchoalveolar lavage in acute mountain sickness and pulmonary edema. *J Appl Physiol* 1988; 64, 6: 2605-2613.
17. Westendorp R, Roos A et al. Atrial natriuretic peptide improves pulmonary gas exchange in subjects exposed to hypoxia. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 304-9.
18. Schoene R, Goldberg S. The quest for an animal model of high altitude pulmonary edema. *Int J Sports Med* 1992; 13 suppl 1: S59-S61.
19. Staub N. Pulmonary edema-hypoxia and overperfusion. *N Engl J Med* 1980; 302, 19: 1085-1086.
20. Jerome H, Severinghaus J. High-altitude pulmonary edema. *N Engl J Med* 1996; 334: 662-663.
21. Colice GL, Yan-Jie L, Chen J, Du H, Ramirez G, Dietz J. Susceptibility to high-altitude pulmonary edema in Madison and Hilltop rats. Ventilation and fluid balance. *J Appl Physiol* 1995; 78, 6: 2279-2285.
22. Peake MD, Harabin AL, Brennan NJ, Sylvester JT. Steady-state vascular responses to graded hypoxia in isolated lungs of five species. *J Appl Physiol* 1981; 51: 1214-9.
23. Naeije R. Pulmonary circulation in hipoxia. *Int J Sports Med* 1992; 13 (suppl 1): 27-30.
24. Peake MD, Harabin AL, Brennan NJ, Sylvester JT. Steady-state vascular response to graded hypoxia in isolated lungs of five species. *J Appl Physiol* 1981; 51: 1214-9.
25. Lloyd TC. Influence of blood pH on hypoxic pulmonary vasoconstriction. *J Appl Physiol* 1966; 21: 358-66.
26. Daly I, Michael C, Ramsey W, Wadler B. Conditions governing the pulmonary vascular response to ventilation hypoxia and hypoxemia in the dog. *J Physiol Lond* 1968; 196: 351-79.
27. Perrella M, Edell E, Krowka M, Cortese D, Burnett J Jr. Endothelium-derived relaxing factor in pulmonary and renal circulations during hypoxia. *Am J Physiol* 1992; 263: 45-50.
28. Fréden F, Wei SZ, Berglund JE, Frostell C, Hedenstierna G. Nitric oxide modulation of pulmonary blood flow distribution in lobar hypoxia. *Anesthesiology* 1995; 82: 1216-1225.
29. Schoene RB, Hackett PH, Henderson WR, Sage EH, Chow M, Roach RC et al. High-altitude pulmonary edema. Characteristic of lung lavage fluid. *JAMA* 1986; 256: 63-9.
30. Homik L, Bshouty Z, Light RB, Younes M. Effect of alveolar hypoxia on pulmonary fluid filtration in situ dog lungs. *J Appl Physiol* 1988; 65: 46-52.
31. Stelzner TS, O'Brien RF, Sato K, Weil IV. Hypoxia induced increases in pulmonary transvascular protein escape in rats. Modulation by glucocorticoids. *J Clin Invest* 1988; 82: 1840-7.
32. Smit A, Palomar A, Oppenheimer L. Spectrophotometric determination of filtration parameters in the isolated canine lung lobe preparation after raising the plasma colloid oncotic pressure. *Faseb J*. Feb 19, 1993. Abs No. 1354.
33. Furuya ME, Oppenheimer L. On line spectrophotometric determination of drag reflection coefficient in isolated lobes. *Faseb J*. April 1991, Abs No. 7898.
34. Oppenheimer L, Furuya ME, Landolfo KP, Hubert D. On line colorimetric determinations of transvascular fluid and protein transport in isolated lobes. In: Respiratory biomechanics engineering analysis of structure and function. MA Farrell. JR Ligas, eds. New York, Springer-Verlag, 1990: 169-175.
35. Oppenheimer L, Furuya ME. Influence of non-convective protein transport on filtration coefficient and force balance in isolated lobes. *Faseb J*. 1991; 5(6): A7898.
36. Smit A, Palomar A, Oppenheimer L. On line spectrophotometry combined with gel filtration chromatograph in the analysis of transvascular macromolecular. *Faseb J*. April 1992. Abs No. 3472.
37. Palomar A, Smit A, Oppenheimer L. On line spectrophotometric analysis of albumin and dextran 500 transport. *Faseb J*. April 1992. Abs No. 3473.