
ARTÍCULO ORIGINAL

Modelo experimental canino de daño pulmonar agudo producido con ácido oleico: Estableciendo un modelo de trabajo

Claudia Hernández-Jiménez,* Rogelio Jasso-Victoria,* Raúl Olmos-Zúñiga,* Jaime Villalba-Caloca,* Miguel Gaxiola-Gaxiola,** Avelina Sotres-Vega,* Matilde Baltazares-Lipp.,* Alejandro Villa-Godoy***

* Departamento de Cirugía Experimental,

** Departamento de Morfología Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Ismael Cosio-Villegas.

*** Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-Universidad Nacional Autónoma de México.

Experimental model of canine oleic acid-induced acute lung injury: establishment of a working model

ABSTRACT

Introduction. There are several experimental model of acute lung injury induced by oleic acid (OA); however, there are few studies that show how this injury develops. **Objective.** This study seeks to detail the x-ray, hemodynamic, gasometrical, gravimetric, macroscopic and microscopic alterations developed in an experimental model of canine OA-induced acute lung injury (ALI). **Material and methods.** Twelve dogs were divided in 2 study groups: Group I ($n = 6$): Control group without ALI. Group II ($n = 6$): OA-induced ALI. All dogs were submitted to X-ray, hemodynamic and gasometric evaluation before ALI induction, and later every 15 minutes during 150 minutes. At the end of the study, the animals were euthanatized and were evaluated the changes gravimetric, macroscopic and microscopic in injured lungs. **Results.** All the animals survived through the study. In group II, 100% of the animals developed x-ray ($p < 0.003$ Wilcoxon), hemodynamic, gasometrical and gravimetric ($p < 0.5$ ANOVA, Tukey), macroscopically and microscopically ($p < 0.001$ Wilcoxon) ALI. **Conclusions.** The OA-induced ALI is a model in which dogs develop X-ray, hemodynamic, gasometrical, gravimetric, macroscopically and microscopically injuries of the exudative phase that lung with ALI injury presents.

Key words. Acute lung injury. Oleic acid.

RESUMEN

Introducción. Existen varios modelos experimentales de daño pulmonar agudo producido por ácido oleico; sin embargo, existen pocos trabajos en los que se describa con detalle la forma de reproducirlo. **Objetivo.** Presentar detalladamente la reproducción del modelo de daño pulmonar agudo inducido por ácido oleico en perros y mostrar los cambios hemodinámicos, gasométricos, gravimétricos e histológicos producidos por este. **Material y métodos.** Se utilizaron 12 perros que fueron divididos en dos grupos: Grupo I ($n = 6$): Testigo sin DPA; Grupo II ($n = 6$): DPA producido con AO. En todos los animales se realizó evaluación radiológica, hemodinámica y gasométrica; antes de la inducción del DPA y posteriormente cada 15 minutos durante 150 minutos. Al final del estudio los animales se sometieron a eutanasia y se evaluaron los cambios macroscópicos, gravimétricos, microscópicos de los pulmones afectados. **Resultados.** Todos los animales sobrevivieron al tiempo de estudio y se observó que el 100% de los animales del grupo II desarrollaron radiológicamente ($p < 0.003$ Wilcoxon), hemodinámica, gasométrica, gravimétricamente ($p < 0.05$ ANDEVA, Tukey), macroscópica y microscópicamente ($p < 0.001$ Wilcoxon) DPA. **Conclusiones.** El DPA producido por AO en perros es un modelo en el que se producen las lesiones radiológicas, hemodinámicas, gasométricas, macroscópicas y microscópicas de la fase exudativa que se presentan en un pulmón con DPA.

Palabras clave. Daño pulmonar agudo (DPA). Ácido oleico.

INTRODUCCIÓN

El daño pulmonar agudo (DPA) es una patología secundaria a una lesión pulmonar o extrapulmonar aguda que daña la membrana alvéolo-capilar incrementando la permeabilidad vascular y favoreciendo la formación de edema pulmonar no cardiogénico, así como hipoxemia aguda.¹ La manifestación más severa del DPA es el síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), el cual ocasiona alta mortalidad (30-50%) y morbilidad (78.9 por 100,000 personas por año) en las salas de cuidados intensivos.²

Hoy en día se han realizado diversos estudios clínicos y experimentales para describir la fisiopatología de este padecimiento, pero éstos no han sido suficientes para entenderla completamente, debido a que los estudios en humanos sólo proporcionan información descriptiva acerca del inicio y evolución de los cambios fisiológicos e inflamatorios que sufren los pacientes.³ No obstante, lo anterior ha generado hipótesis sobre los mecanismos de lesión, pero es difícil comprobarlas en humanos debido a que no se pueden controlar todas las variables clínicas que se presentan en los pacientes críticos; mientras que los modelos experimentales sobre DPA no reproducen todas las características de la enfermedad presentes en el humano y sólo se enfocan a entidades específicas en la misma; sin embargo, proporcionan un puente entre la clínica y el laboratorio.

Para inducir DPA varios modelos experimentales han sido estudiados y se ha observado que el producido con ácido oleico (AO), tiene semejanzas patológicas a las presentes en el humano,⁴ debido a que provoca una fase exudativa, proliferativa y fibrótica, reacción inflamatoria, secuestro de células circulantes, incremento en la permeabilidad alveolar e hipertensión pulmonar,⁵ no obstante, es difícil estandarizarlo y a pesar de que es ampliamente conocido y utilizado, existen pocos trabajos que describen con detalle su reproducción. En el laboratorio de cirugía experimental del INER “ICV” desde hace cuatro años se intentó montar este modelo utilizando conejos y perros, diferentes dosis y sitios de administración del AO, así como varias formas para solubilizarlo siguiendo los materiales y métodos descritos en otros trabajos, pero los datos obtenidos no permitían encontrar resultados debido a que los animales fallecían súbitamente, por desarrollar embolia grasa o en ocasiones no se presentaba alteración, por lo cual se consideró presentar el modelo establecido en dicho laboratorio a todos aquellos investiga-

dores interesados en estudiar aspectos sobre mecánica pulmonar, intercambio gaseoso y hemodinamia.

El objetivo en este trabajo es presentar detalladamente la reproducción del modelo de daño pulmonar agudo inducido por ácido oleico en perros y mostrar los cambios hemodinámicos, gasométricos, gravimétricos e histológicos producidos por éste.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales de experimentación

Se utilizaron 12 perros mestizos adultos sanos, sin importar el sexo, con peso entre 15-20 kg. Todos los animales fueron tratados conforme a las Especificaciones Técnicas para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999,⁶ así como la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio en los Estados Unidos.⁷

Grupos de estudio

Los animales fueron divididos para su estudio en 2 grupos:

- *Grupo I (n = 6).* Testigo sin DPA
- *Grupo II (n = 6).* DPA producido con AO (*cis*-9-ácido octadenoico; Sigma Aldrich, Germany).

Modelo experimental

Previo a la producción del DPA, los animales fueron anestesiados con clorhidrato de tiletamina y zolazepam (Zoletil 50 Virbac, S.A. Guadalajara, México) 8 mg/kg IV, Fentanil (Janssen-Cilag, Puebla, México) 0.02mg/kg IV, atropina (*Atropisa, Pisa, Guadalajara, México*) 0.02 mg/kg IV, acepromacina (Calmivet Vetoquinol S.A. México) 0.02 mg/kg IV y ésta se mantuvo durante todo el estudio con isoflurano al 1.5% con FiO₂ al 100%, volumen corriente a 10 mL/kg y 20 respiraciones por minuto, además se les administró solución Hartman 10 mL/kg/h.

Colocación de catéteres

Se colocaron catéteres de polivinilo con una longitud de 30 cm, y una sola luz (Cordis Corp, Johnson & Johnson, CA, USA) en la arteria y vena femoral izquierda, para registrar las presiones arteriales sistémicas (PAS) con un monitor electrocardiográfico (Datacospe Passport, New Jersey, USA), infusión del AO para inducción del DPA y obtener

las muestras sanguíneas para gasometrías, las cuales se realizaron con un gasómetro (AVL Compact 2, Blood gas analyzer). El catéter colocado en la vena femoral se dirigió hasta la cava caudal previo a entrar a la aurícula derecha.

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

Inducción del daño pulmonar agudo

Posterior a medir los valores hemodinámicos y gasométricos basales, en el grupo II (a través del catéter femoral venoso) se administró AO (*cis*-9- ácido octadenoico; Sigma Aldrich, Germany) 0.09 mL/kg, en una solución 1:1 de AO y etanol diluido en cbp 10 ml con solución salina fisiológica. Este volumen fue administrado con un flujo constante de 0.5 mL/min, durante 20 minutos e inmediatamente después se procedió a realizar un lavado del catéter con 10 mL de solución salina.

EVALUACIÓN

Radiológica

Se realizaron radiografías ventrodorsales previas a la inducción del DPA, 60 y 150 minutos posteriores a la administración del AO para valorar el patrón alveolar pulmonar. La presencia de imágenes con opacidades se cuantificó de acuerdo a la extensión que presentaban 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% y (Grado 4) del 76 al 100%. El grado fue determinado independiente por tres investigadores y se obtuvo un promedio, se valoró la concordancia de los datos a través del índice Kappa.

Hemodinámica y gasométrica

Los parámetros evaluados fueron frecuencia cardíaca (FC), gasto cardiaco (GC) (medido por termodilución), presión arterial media sistémica (PAM) y pulmonar (PMAP), presión capilar pulmonar (PCP); resistencias vasculares sistémicas (RVS) y pulmona-

res (RVP), así como los cortocircuitos (QS/QT), los cuales fueron obtenidos con la siguiente fórmula:

$$QS/QT = CcO_2 - CaO_2 / CcO_2 - CvO_2$$

Gasométricamente se valoró presión arterial (PaO₂) y venosa (PvO₂) de oxígeno y dióxido de carbono (PaCO₂, PvCO₂), el pH y saturaciones de O₂ en ambas muestras.

Las mediciones de los parámetros hemodinámicos y gasométricos fueron realizadas previamente a la producción del DPA y cada 15 minutos posterior a la administración del AO hasta completar 150 minutos.

Se consideró que había daño pulmonar agudo cuando se presentaron radiográficamente infiltrados alveolares bilaterales, en las gasometrías índices de oxigenación (PaO₂/FiO₂ < 300) y en los estudios hemodinámicos la presión capilar pulmonar (PCP) permaneciera ≤ 18 como se ha descrito en otros estudios.⁸ El PaO₂/FiO₂ identifica la presencia de daño pulmonar agudo y síndrome de insuficiencia respiratoria aguda, se obtuvo dividiendo la presión parcial de oxígeno en sangre arterial entre la fracción inspirada de oxígeno.

Macroscópica

Al concluir el estudio, aún bajo anestesia, los animales se sometieron a eutanasia con sobredosis de Pentobarbital Sódico (Anestesal, Pfizer S.A. de C.V. México),⁵ se realizó esternotomía para valorar la presencia de edema y/o hemorragia pulmonar. Además se tomaron los lóbulos pulmonares caudales (que fueron más dañados al finalizar el estudio) para cuantificar el edema pulmonar producido y realizar evaluación histológica.

Determinación de edema pulmonar

La cuantificación del edema pulmonar se llevó a cabo mediante análisis gravimétrico: relación peso pulmón húmedo/pulmón seco (H/S), para esto, los lóbulos pulmonares se pesaron y se desecaron en una estufa con una temperatura entre 60 y 65 °C, hasta que se obtuvo un peso constante en los pulmones, en promedio esto se logró a los 15 días. Finalmente, la ganancia de peso del pulmón edematizado se calculó con la siguiente fórmula:

Ganancia de Peso del pulmón = (Peso final del pulmón (PH) - Peso inicial del pulmón (PS))/Peso inicial del pulmón. PH-PS/PS.

Microscópica

Para el estudio histológico se tomaron muestras de los lóbulos pulmonares caudales, se fixaron en formaldehído al 10% y se incluyeron en parafina, se les realizaron cortes de 4μ , y se tiñeron con hematoxilina-eosina (HE) y por microscopia de luz se determinó la presencia de edema, colapso alveolar, hemorragia, congestión, membranas hialinas, infiltrado de neutrófilos y microtrombos. Los resultados observados se clasificaron en cuatro grados:

- Grado 0. Histología normal.
- Grado 1. Leve.
- Grado 2. Moderado.
- Grado 3. Ssevero.

Microscópicamente se consideró que había daño pulmonar agudo cuando se presentó: edema y/o hemorragia, membranas hialinas, infiltrado de neutrófilos y microtrombos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis de datos se realizó mediante el programa SPSS versión 15.0 (SPSS Inc. Chicago Illinois); los datos obtenidos en los hallazgos hemodinámicos, gasométricos fueron analizados por ANDEVA, Tukey y para el análisis gravimétrico se utilizó t-student, mientras que para los radiológicos y microscópicos se utilizó la prueba de rangos con signo de Wilcoxon, para determinar la variabilidad inter-observador se utilizó el índice Kappa. Los valores de $p < 0.05$ se consideraron significativos.

RESULTADOS

Todos los animales permanecieron con vida durante el tiempo establecido.

Hallazgos radiológicos

El índice Kappa arrojó un valor de 0.87 $p < 0.001$, el cual indica un grado de concordancia muy bueno. En ningún animal del grupo I (0%) se observaron cambios radiológicos, mientras que en el grupo II, a los 60 minutos del estudio, el 50% de los animales mostraron opacidades alveolares periféricas bilaterales difusas y asimétricas con broncogramma aéreo grado 3 y los 3 animales restantes (50%) grado 2, lo cual fue significativamente diferente vs. sus rayos X basales y el grupo I (prueba de Wilcoxon $z = -2.75$, $p < 0.006$). Al finalizar el estudio en este grupo estas opacidades fueron grado 4 (prueba de Wilcoxon $z = -3.002$, $p < 0.003$) (Figura 1).

Hallazgos hemodinámicos

La FC, GC, PAD, PAS, PAM y PAPS, PAPD y PCP, así como las RVS se mantuvieron dentro parámetros de referencia en ambos grupos durante todo el estudio.

En el grupo I la PMAP se encontró dentro de los parámetros normales durante todo el estudio, no obstante en el grupo II a los 15 minutos después de la administración del AO se observó incremento de ésta en comparación con sus valores basales, el cual se mantuvo hasta el final del estudio; sin embargo, éste nunca rebasó los valores referenciales y no mostró ninguna diferencia intragrupo ($p = \text{NS}$ ANDEVA), pero este aumento

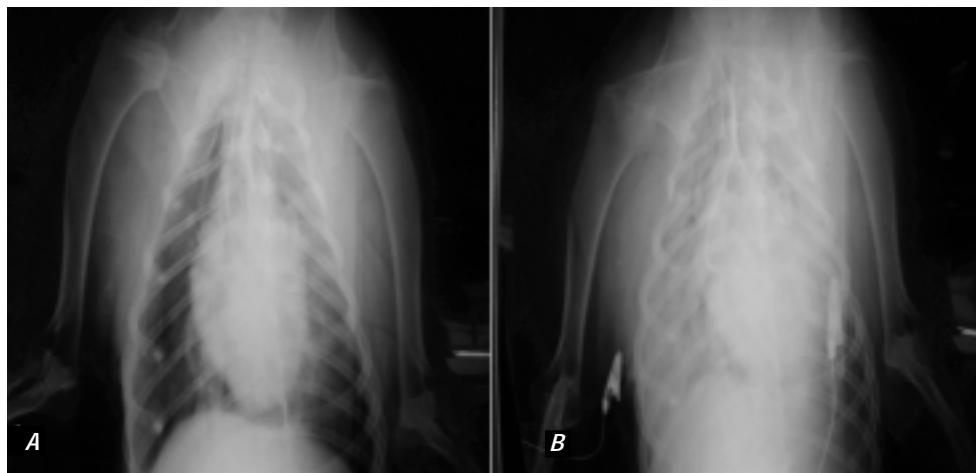


Figura 1. Rayos X de tórax en proyección ventro-dorsal que muestran: A. Campos pulmonares normales. B. infiltrados alveolares difusos 150 minutos post administración del ácido oleico.

Cuadro 1. Hallazgos hemodinámicos y gasométricos. Muestra el incremento en la PMAP, RVP y QS/QT, así como la disminución en la PaO₂ en el grupo II, después de la administración del AO.

Parámetro Evaluado	Grupo de estudio	Basal	Tiempos de evaluación (minutos)										
			15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165
PMAP	Control sin DPA	12.5	13.3	13.8	14	15	14.8	15	15.1	14.1	16.1	14.6	15.3
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		2.3	2.5	1.4	1.7	2.8	1.4	2.4	2.6	2.9	3.1	3	2.5
	AO	12.8	15.6	15	15.1	*17.6	*16.8	*17.3	*17.1	*17.6	*17.3	16.6	16.1
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		1.9	3.3	4.4	3.3	6.2	4.7	4.2	4	3.6	4.2	4.5	3.9
RVP	Control sin DPA	224.6	227.1	183.8	193.6	174.5	188.5	183.3	221	234.8	229.3	234	246.1
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		91.3	118.3	67.8	111.8	59.1	88.6	63.1	93	114.4	71.7	94.8	86.5
	AO	275.6	*598.5	441.1	421.8	471.3	399.3	366.8	450.1	395	380.6	482.1	419.5
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		100.9	288.6	173	201.7	250.7	239.7	147	155.1	96.7	156.7	280.6	165.5
Qs/Qt	Control sin DPA	9.8	8.8	8.3	12.8	12.5	15.5	15.5	15	16	10	15.1	15.6
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		9.7	6.4	6.4	11.6	12.6	12.5	12.1	11.1	10	13.9	12	11.6
	AO	21.3	25.1	23.3	32.6	45.3	41	43.5	*46.3	*48	*56.1	*51	*52.3
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		5.9	23.7	23.2	28	35.6	24.2	22.1	23.4	24.1	29.5	24.8	22.3
PaO ₂	Control sin DPA	342.6	357.6	375.3	378.1	376.6	380.3	373.5	363.8	363.6	371.3	376.8	372
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		42.6	135.8	138.4	129.9	124.4	128.9	66.8	72.6	63.3	46.6	32	35.2
	AO	349.9	299.6	240.6	*195.9	*147.1	*132.6	*99.3	*100.4	*91.5	*82.7	*74	*76.3
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		79.5	6.2	20.94	47.6	60.8	44.4	45.4	37	27.7	50.6	54.8	51.2

p < 0.05 ANDEVA, Tukey. Promedio ± Desviación Estándar. PMAP: Presión Media de Arteria Pulmonar. RVP: Resistencias Vasculares Pulmonares. QS/QT: Cortocircuitos. PaO₂: Presión Arterial de Oxígeno.

sí fue significativo al minuto 60 posterior a la producción del DPA (p < 0.05, ANDEVA, Tukey) vs. el grupo I (Cuadro 1).

Las RVP también se incrementaron significativamente (p < 0.05, ANDEVA, Tukey) en el grupo II con respecto a sus valores basales y al grupo I, a los 15 minutos posteriores a la administración del AO y así se mantuvieron hasta el final del estudio (Cuadro 1).

Con respecto a los QS/QT en el grupo I, éstos se encontraron dentro de los parámetros normales durante el estudio; sin embargo, en el grupo II se incrementaron en comparación con sus valores basales y en comparación con el grupo I (p < 0.05 ANDEVA, Tukey), a partir de los 105 minutos posteriores a la administración del AO (Cuadro 1).

Evaluación gasométrica

Gasométricamente en el grupo testigo tanto las muestras arteriales como las venosas se observaron normales durante todo el estudio, a diferencia del grupo II en el que la PaO₂ mostró disminución importante a los 45 minutos después de la administración del AO y ésta continuó disminuyendo hasta el final del estudio siendo significativa a partir del minuto 45 en comparación con sus valores basales (p < 0.05, ANDEVA, Tukey) (Cuadro 1). El índice presión arterial de oxígeno/fracción inspiratoria de oxígeno (PaO₂/FiO₂) se utilizó para definir el grado de lesión pulmonar. Los cambios observados durante todo el estudio se muestran en la figura 2.

En este estudio sólo hubo correlación entre el índice de PaO₂/FiO₂ y QS/QT, la cual resultó negativa fuerte

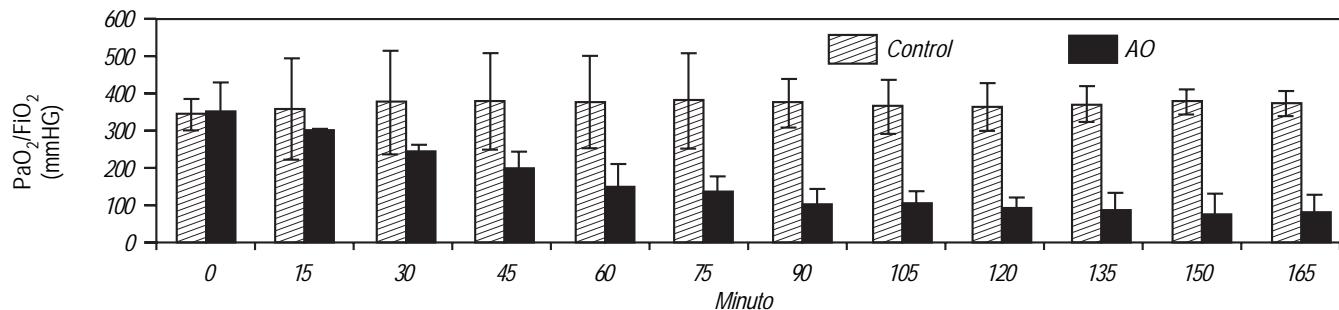


Figura 2. Se observa el índice de oxigenación ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$) durante todo el periodo de estudio de ambos grupos.



Figura 3. Fotografías que muestran edema y hemorragia desarrollados en los pulmones de un animal del grupo II, al final del estudio.

(Pearson $r = -0.847$, $p < 0.001$) debido a que a menor presencia de O_2 hay mayor presencia de QS/QT.

Macroscópicos

Macroscópicamente todos los pulmones de los animales del grupo I mostraron apariencia normal, mientras que en el grupo II en todos los casos se observaron edematosos, con zonas consolidadas y hemorrágicas, principalmente en los lóbulos caudales. La tráquea y los bronquios presentaron espuma hemorrágica de moderada a abundante (Figura 3).

Edema pulmonar

Al valorar el edema pulmonar a través de la ganancia de peso pulmonar en los 2 grupos de estudio se observó que los del grupo II mostraron mayor peso en comparación con el grupo I ($p < 0.001$, t Student).

Microscópicos

Histológicamente los animales del grupo I fueron normales, no así los del grupo II, que desarrollaron colapso alveolar grado 2, edema alveolar grado 3, hemorragia grado 1, infiltración leucocitaria grado

3, microtrombos grado 2, y membranas hialinas grado II, lo cual fue significativamente diferente vs. el grupo I (prueba de Wilcoxon $z = -9.3$, $p < 0.001$) (Figura 4).

DISCUSIÓN

En la actualidad, con el fin de entender la fisiopatología del DPA y poder establecer estrategias para su tratamiento se han descrito varios modelos experimentales en diferentes especies animales; sin embargo, en los realizados con AO pocos autores describen con detalle la metodología para su reproducción.^{5, 9, 10}

La propuesta en este estudio fue presentar detalladamente la reproducción del modelo de daño pulmonar agudo inducido por ácido oleico en perros, desarrollada en el laboratorio de cirugía experimental del INER "ICV" y mostrar los cambios hemodinámicos, gasométricos, gravimétricos e histológicos producidos por éste.

Para este estudio se eligió el modelo de DPA inducido por AO porque produce lesiones patológicas similares a las que se presentan en personas² que padecen esta enfermedad, además que no requiere una respuesta inflamatoria que inicie el daño alveolar.

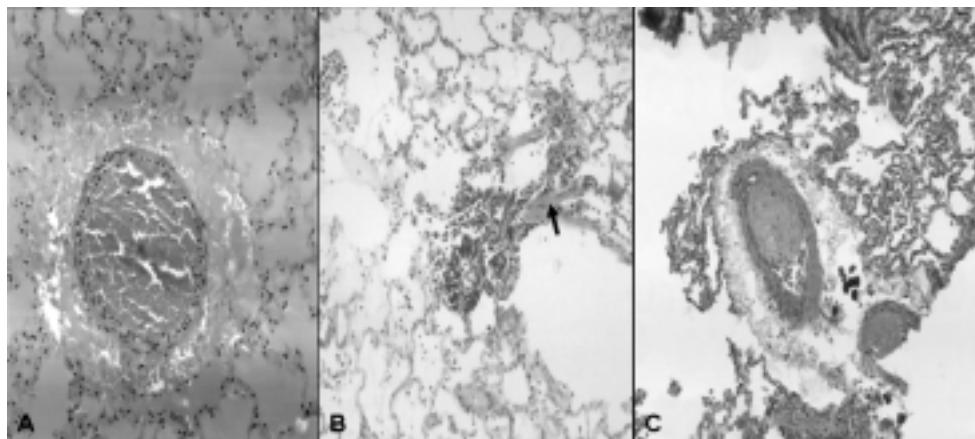


Figura 4. Micrografía (H&E) 10x en la que se observa: A. Edema alveolar; infiltración leucocitaria, además de un vaso sanguíneo con pavimentación de los mismos, B. Membranas hialinas (Flecha) y C. Trombo en formación en un animal del grupo II.

En este trabajo la técnica utilizada para la producción de DPA con AO fue similar a la descrita por Trawöger, *et al.*,¹¹ quienes después de generar diferentes tamaños de gotas y flujos de administración del ácido graso, observaron que utilizando un catéter de 7 F e infusión de un flujo máximo de 3 mL/min en la cava craneal se producen lesiones radiológicas y macroscópicas de DPA difusas en todos los lóbulos pulmonares. En nuestro estudio se utilizó infusión en la vena cava antes de su entrada a la aurícula derecha y un flujo de infusión de 0.5 mL/min con el fin de que el AO no se inyectara directamente sobre la arteria pulmonar y provocara daño pulmonar hiperagudo (como se observó en ensayos previos realizados en el laboratorio), con esta técnica se obtuvieron lesiones radiológicas y macroscópicas como las descritas por otros autores.¹¹ Asimismo, se utilizó la administración de AO en infusión porque se ha observado que en bolo produce embolia grasa y las lesiones pulmonares no son difusas,⁴ posiblemente por el tamaño de la gota del ácido graso.¹¹

Con respecto a la dosis de AO en diversos trabajos se ha descrito el uso tanto a dosis bajas (0.06 mL/kg) como altas (0.3 mL/kg)¹² y se ha demostrado que las primeras producen lesiones leves¹³ y que pueden requerir dosis repetidas para que las lesiones puedan observarse, a diferencia de las dosis altas que provocan un edema pulmonar hiperagudo que lleva a la muerte de los animales de experimentación en un periodo de tiempo corto. En este trabajo se utilizó 0.09 mL/kg de AO con el fin de que se produjeran lesiones progresivamente en un periodo de tiempo intermedio y que no requiriera redosificación y coincide con lo descrito por Derkks.¹⁴ Por otra parte, debido a que el AO es insoluble en agua, se utilizó etanol para diluirlo y se emulsificó en solución salina para alcanzar un volumen mayor y generar

una gota del AO de menor tamaño y evitar la producción de embolia grasa.^{2,11,15}

La presencia radiológica de opacidades alveolares periféricas bilaterales difusas y asimétricas observadas en los animales a los que se les administró AO fue originada porque el cambio en la permeabilidad pulmonar originó edema pulmonar como lo describieron Scillia P, *et al.*,¹⁶ Zhou Z¹⁷ y Schuster¹ quienes produjeron DPA experimental.

El incremento en la PMAP al igual que en las RVP posterior a la administración de AO en el grupo II, se explica por lesión directa al endotelio originada por el AO que provoca cambios en la permeabilidad vascular pulmonar y edema pulmonar que no permitió la correcta relación ventilación-perfusión provocando hipoxia y coincide con lo observado por Pagnamenta,¹⁸ así como alteraciones del tono vascular como lo describieron Kafi¹⁹ y Leeman²⁰ al estudiar los cambios en los tonos vasculares en perros con DPA inducido por AO. Aunado a esto, el daño endotelial que sufre la membrana alveolo-capilar, provoca la quimiotaxis, agregación, adhesión y migración de algunas células sanguíneas que obstruyen mecánicamente el paso de sangre y disminuyen la vasodilatación dependiente del endotelio.

Por otro lado, el incremento en la presencia de cortocircuitos a partir de los 45 minutos posteriores a la administración del AO en el grupo II, se originaron porque el edema y la hemorragia que se produjo por el daño vascular, ocupó el espacio intersticial y alveolar provocando la presencia de unidades pulmonares bien perfundidas y no ventiladas que impidieron se realizará la adecuada relación ventilación-perfusión en todas las zonas del pulmón. Estos hallazgos son similares a lo descrito por Putensen²¹ y Cristancho²² al evaluar los cambios hemodinámicos y gasométricos en perros con DPA. Sin embar-

go, en este estudio no se utilizó Presión Positiva al Final de la Espiración (PEEP), lo cual debe ser considerado para disminuir el desarrollo de atelectasias.

Los hallazgos macroscópicos y el incremento en el peso pulmonar del grupo II fueron iguales a los descritos por Miyazawa, *et al.*¹⁰ Schuster¹ y Wang¹² quienes en modelos de DPA por AO observaron la presencia de edema y hemorragia en los pulmones de animales, el cual incrementó de 2 a 3 veces el peso de este órgano, así como la presencia moderada de espuma sanguinolenta en la tráquea. Sin embargo, hasta hoy el mecanismo preciso por el cual el AO provoca edema no se ha comprendido completamente, pero se han propuesto dos hipótesis, la primera menciona que éste se une directamente a la membrana celular y produce peroxidación lipídica.⁴ Mientras que la segunda dice que el AO se une a los canales de Sodio y Na⁺-K⁺ ATPasa en células epiteliales y altera mecanismos de transporte activo del pulmón, promoviendo el incremento en la permeabilidad endotelial con inundación intersticial y alveolar.²³

En este estudio, histológicamente se pudo confirmar que la administración del AO produce la fase exudativa DPA (las otras dos no se observaron, debido a que este estudio fue agudo), caracterizada por la presencia de edema intersticial e intraalveolar, hemorragia, leucoaglutinaciones, necrosis de neutrófilos tipo I y células endoteliales, membranas hialinas y microtrombos de fibrina como lo describió Beilman⁴ quien mencionó que estas lesiones son ocasionadas por la toxicidad directa del AO a las células endoteliales.

La presencia de polimorfonucleares (PMNs) observada en este trabajo coincide con lo observado por otros autores en los pulmones en diferentes especies animales después de la lesión por AO y los cuales mencionan que los PMNs están involucrados en la patogénesis del DPA por AO pero su papel aún no se esclarece.²⁴⁻²⁷ Eiermann²⁴ sugiere que la depleción de PMNs en rata suprime significativamente el incremento en la permeabilidad por AO. Mientras que Ito²⁵ menciona que la depleción de éstos en sangre periférica de rata incrementa significativamente la relación PaO₂/FIO₂ y disminuye las lesiones pulmonares (infiltardo inflamatorio intersticial, alveolar, edema y hemorragia) a las 4 h después de la administración del AO, además reduce la permeabilidad vascular. Sin embargo, Hoeffel²⁶ y Hofman²⁷ sugieren que la depleción de PMNs no tiene efectos benéficos antes o después de la administración del AO en borregos y perros respectivamente.

CONCLUSIONES

Con lo observado en este estudio se puede concluir que el DPA producido por AO en perros es un modelo en el que se producen las lesiones radiológicas, hemodinámicas, gasométricas, macroscópicas y microscópicas de la fase exudativa que se presentan en un pulmón con DPA, el cual podría ser utilizado como una referencia para los investigadores que necesiten un modelo experimental de DPA para establecer estrategias de tratamiento.

REFERENCIAS

1. Schuster DP, ARDS. Clinical lessons from the oleic acid model of acute lung injury. *Am J Resp Crit Care Med*, 1994; 149: 245-60.
2. Gordon D, Rubenfeld MD, Ellen Caldwell MS. Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med* 2000; 342: 1301-8
3. Matute-Bello G, Frevert WC, Martin TR. Animals models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 295: L379-L399.
4. 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: 817-23.
5. Ashbaugh DG, Uzawa T. Respiratory and hemodynamic changes after injection of free fatty acids. *J Surg Res* 1968; 8: 417-23.
6. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos mexicanos. AFIA 6 Dic de 1999.
7. 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. México, Edición Mexicana Auspiciada por la Academia Nacional de Medicina; 2002.
8. Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Hudson L, et al. The American-European consensus conference on ARDS: definitions, mechanism, relevant outcomes and clinical coordination. *Am J Resp Crit Care Med* 1994; 149: 818-24.
9. Schoene R, Robertson H, Thorning D, Springmeyer S. Pathophysiological patterns of resolution from acute oleic acid injury in the dog. *J Appl Physiol* 1984; 56: 472-81.
10. 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: 183-90.
11. Trawöger R, Cereda M, Kolobow T. A standardized method of oleic acid infusion in experimental acute respiratory failure Scan. *J Clin Lab Invest* 2001; 61: 75-82.
12. Wang HM, Bodenstein M, Markstaller K. Overview of the pathology of three widely used animal's models of acute lung Injury. *Eur Surg Res* 2008; 40: 305-16.
13. Zwissler B, Forst H, Ishii K, Messmer K. A new experimental model of ARDS and pulmonary hypertension in the dog. *Res Exp Med* 1989; 189: 427-38.
14. Derk CM, Jacobovitz-Derk D. Embolic pneumopathy induced by oleic acid a systemic morphologic study. *Am J Pathol* 1977; 87: 143-58.
15. Grotjohann HP, van der Heijde RM, Jansen JR, Wagenvoort CA, Versprill A. A stable model of respiratory distress by small injections of oleic acid in pigs. *Intensive Care Med* 1996; 22: 336-44.

16. Scillia P, Abdel KS, Mélot C, Keyzer C, et al. Oleic acid-induced lung injury: Thin section CT evaluation in dogs. *Radiology* 2001; 219: 724-31.
17. Zhou Zhaohui, Kozlowski J, Schuster P. Physiologic, biochemical, and imaging characterization of acute lung injury in mice. *Am J Resp Crit Care Med* 2005; 172: 344-55.
18. Pagnamenta A, Bouckaert Y, Wauthy P. Continuous versus pulsatile pulmonary hemodynamics in canine oleic acid lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162(3): 936-40.
19. Kafi SA, Scillia P, Melot C, et al. Abnormal pulmonary vascular tone in canine oleic acid lung injury. *Crit Care Med* 2002; 30: 1565-9.
20. Leeman M, Lejeune P, Clozel J, Cachery JL, Melot C, Naeije R. Nature of pulmonary hypertension in canine oleic acid pulmonary edema. *J Appl Physiol* 1990; 69: 293-8.
21. Putensen C, Räsänen J, Downs BJ. Effect of endogenous and inhaled nitric oxide on the ventilation-perfusion relationships in oleic acid lung injury. *Am J Crit Care Med* 1994; 150: 330-6.
22. Cristancho W. Circulación pulmonar y relación ventilación perfusión. En Cristancho W. Fisiología respiratoria. Lo esencial en la práctica clínica. 1ra ed. Bogota Colombia. Manual Moderno. 2004; p. 57-81.
23. Vadasz I, Morty RE, Kohstall MG, Olschewski A, Grimminger F, Seeger W. Oleic acid inhibits alveolar fluid reabsorption: A role in acute lung respiratory distress syndrome? *Am J Resp Crit Care Med* 2005; 171: 469-79.
24. Eiermann G, Dickey B, Thrall R: Polymorphonuclear leukocyte participation in acute oleic-acid-induced lung injury. *Am Rev Resp Dis* 1983; 128: 845-50.
25. Ito K, Mizutani A, Kira S, Mori M, Iwasaka H, Noguchi T. Effect of ulinastatin, a human urinary trypsin inhibitor, on the oleic acid induced acute lung injury in rats via the inhibition of activated leukocytes. *Injury* 2005; 36: 387-94.
26. Hoeffel JM, Flick M. Oleic acid injury in sheep. *J Appl Physiol* 1986; 60: 433-40.
27. Hofman W, Ehrhart I. Permeability edema in dog lung depleted of blood components. *J Appl Physiol* 1984; 57: 147-53.

Reimpresos:

Claudia Hernández-Jiménez

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.
Ismael Cosío Villegas
Calz. de Tlalpan 4502,
Col. Sección XVI,
14080, México, D.F.
Tel.: 5487-1706 Ext.: 5180
Correo electrónico: claudia_herjim@yahoo.com

Recibido el 28 de julio de 2009.

Aceptado el 10 de marzo de 2010.