

---

**ARTÍCULO ORIGINAL**

# Efectos del pretratamiento con propofol sobre la endotelina en daño pulmonar agudo inducido por ácido oleico

Claudia Hernández-Jiménez,\* Juan Raúl Olmos-Zúñiga,\* Rogelio Jasso-Victoria,\* Miguel Gaxiola-Gaxiola,\*\* Matilde Baltazares-Lipp,\* Lidia Saraí Sánchez-Arrozena,\* Luis Horacio Gutiérrez-González\*\*\*

\* Departamento de Cirugía Experimental, \*\* Departamento de Morfología,

\*\*\* Departamento de Investigación en Virología y Microbiología, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.

**Effects of propofol pretreatment on endothelin in oleic acid-induced acute lung injury**

## ABSTRACT

**Introduction.** Acute lung injury (ALI) is a pathological condition characterized by injury in the alveolar-capillary membrane that triggers local and systemic inflammation. Endothelin (ET) is a protein that regulates immune response and constricts blood vessels; when it is over-expressed, it may contribute to high blood pressure and lung injury. This work tries to determine if propofol may decrease hemodynamic, gasometric, microscopic, ET-1 plasmatic concentration, and immuno-histochemical alterations in an experimental model of oleic acid-induced acute lung injury. **Materials and methods.** Animals were classified into three groups ( $n = 6$ ): group I was the control group; in group II, there was oleic acid-induced ALI with no treatment, and group III with propofol pre-treatment and oleic acid-induced ALI. **Results.** All animals survived until the end of the study, and 100% of group II and group III developed ALI, with hemodynamic, gasometric and gravimetric alterations. However, group III showed less inflammatory infiltration and lower ET-1 expression in lung tissue. **Conclusions.** Pretreatment with propofol in a canine model of OA-induced ALI indicates that the drug has anti-inflammatory action, with a potential therapeutic role against progression of anti-inflammation and lung damage.

**Key words.** Acute lung injury. Propofol. Oleic acid. Endothelin.

## RESUMEN

**Introducción.** El daño pulmonar agudo (ALI) es una patología caracterizada por lesión de la membrana alvéolo-capilar que origina un proceso inflamatorio tanto local como sistémico. La endotelina (ET) es una proteína que actúa como modulador inmune, aunque un incremento en su síntesis puede contribuir al daño pulmonar. **Objetivo.**

Evaluar si el propofol atenúa las alteraciones hemodinámicas, gasométricas, microscópicas, inmuno-histoquímicas y de concentración plasmática de ET-1 en un modelo experimental de daño pulmonar agudo inducido por ácido oleico (OA). **Material y métodos.** Los perros mestizos incluidos en el estudio se dividieron en tres grupos de estudio: grupo I testigo, grupo II ALI producido con OA sin tratamiento y grupo III pretratamiento con propofol y ALI inducido con OA. **Resultados.** Todos los animales sobrevivieron al tiempo de estudio. Los hallazgos hemodinámicos, gasométricos y gravimétricos revelaron que los grupos II y III desarrollaron ALI. Sin embargo, el grupo III mostró menor infiltrado inflamatorio y expresión de ET-1 en tejido pulmonar. **Conclusiones.** El pretratamiento con propofol en un modelo canino de ALI provocado por OA indica que el fármaco presenta acción antiinflamatoria, con un potencial papel terapéutico contra la progresión de la inflamación y daño pulmonar.

**Palabras clave.** Daño pulmonar agudo. Propofol. Ácido oleico. Endotelina.

## INTRODUCCIÓN

El daño pulmonar agudo (ALI) es una patología caracterizada por lesión de la membrana alvéolo-capilar. Su manifestación más severa es el síndrome

de dificultad respiratoria aguda (ARDS), en el cual se origina un proceso inflamatorio tanto local como sistémico,<sup>1</sup> que ocurre en pacientes con una gran variedad de diagnósticos. El ARDS es un proceso inflamatorio que genera alteraciones estructurales (daño

alveolar difuso) y funcionales (lesión de la membrana alvéolo-capilar), las cuales conducen a edema alveolar y, como consecuencia, se altera la mecánica ventilatoria y la oxemía. El ARDS constituye una de las principales causas de hospitalización y una de las complicaciones más frecuentes y temidas en pacientes graves.

La causa de muerte de estos pacientes se divide en temprana (las primeras 72 h) y tardía (después de tres días). La temprana se debe a la causa primaria del daño y la tardía a sepsis, falla respiratoria persistente y al desarrollo de falla orgánica múltiple. Debido a las múltiples causas asociadas a su presentación, ha sido difícil la documentación de datos confiables sobre su incidencia y mortalidad, tanto en niños como en adultos. Se estima que en Estados Unidos ocurren aproximadamente 150,000 casos por año, con una incidencia de 75 casos por cada 100,000 habitantes.<sup>2</sup> En México se estima una incidencia de 154 casos por cada 1,000 egresos en las Unidades de Cuidados Intensivos (ICUs).<sup>3</sup>

Los datos sobre mortalidad indican cifras que varían entre 40 y 70% en los pacientes internados en las ICUs a causa de ARDS.<sup>2</sup>

Hasta el momento, la identificación de una farmacoterapia eficaz para la prevención o el tratamiento del ARDS ha demostrado ser un reto frustrante; no existe tratamiento disponible para revertir directamente los trastornos de la permeabilidad vascular asociados al ALI. Las medidas terapéuticas están encaminadas a minimizar los factores de riesgo junto a un tratamiento de soporte dirigido a mantener el intercambio gaseoso, la perfusión tisular y el metabolismo aeróbico, mientras se espera la resolución del ALI; sin embargo, para revertir los problemas asociados a éste, se han establecido muchos protocolos terapéuticos, entre los que destaca la ventilación mecánica, cuyo principal objetivo es aliviar el trabajo respiratorio y mejorar el intercambio gaseoso. Otras estrategias terapéuticas incluyen un numeroso grupo de medicamentos como antiinflamatorios esteroides, surfactante exógeno, indometacina, inhibidores de la sintetasa de tromboxano, prostaglandina E1, óxido nítrico inhalado e inmunonutrición, los cuales han demostrado mejoría en índices fisiológicos, pero no en la supervivencia.<sup>4</sup> Estos resultados deben considerarse en el contexto de que la mayoría de los pacientes con ARDS no mueren a causa de insuficiencia respiratoria. Sin embargo, como el manejo de los pacientes críticamente enfermos debe incluir la prevención y limitación de lesión pulmonar, es necesario identificar y desarrollar agentes farmacológicos que cumplan con esta función.

Experimentalmente se han desarrollado diversos modelos de ALI; el inducido por ácido oleico (OA) ( $C_{18}H_{34} \cdot CH_3(CH_2)_7CH = CH(CH_2)_7COOH$ ) activa el sistema endotelina (ET) a través de los receptores B ( $ET_B$ ) de la super familia de receptores acoplados a proteína G, lo que provoca infiltración de neutrófilos circulantes y aumento de la permeabilidad vascular alveolar.<sup>5</sup> Los receptores  $ET_B$  se localizan en las células endoteliales y median la vasodilatación por liberación de óxido nítrico (NO) y prostaciclinas. Este subtipo de receptor también es responsable de la depuración de ET-1 circulante vía endocitosis.

El endotelio pulmonar es el mayor componente de la unidad alvéolo-capilar, ya que constituye 40% de las células pulmonares y, cuando se lesionan, responde con una reacción inflamatoria caracterizada por la producción y liberación de mediadores proinflamatorios que incrementan la permeabilidad vascular pulmonar y la acumulación extravascular de agua.<sup>6,7</sup> Entre estos mediadores participan las endotelinas, una familia de péptidos de 21 aminoácidos, constituida por tres isoformas (ET-1, ET-2 y ET-3) que contienen dos puentes disulfuro (Cys1-Cys15 y Cys3-Cys11), que les confieren una estructura tridimensional con forma de espiral cónica. Aunque muestran propiedades bioquímica y biológicamente similares, están codificados por tres genes diferentes localizados en los cromosomas 6, 1 y 20, respectivamente, y su expresión está regulada de forma diferente según los órganos y tejidos. Tienen una estructura parecida al veneno de áspid *Atractaspis engaddensis*, llamado sarafotoxina. La ET-1 es la forma más abundante liberada por el endotelio pulmonar.<sup>8-10</sup>

El propofol (2,6-diisopropilfenol) es un agente anestésico, sedante/hipnótico de rápida metabolización,<sup>11</sup> ampliamente utilizado en las ICUs para la sedación de los pacientes, que además inhibe la activación y migración de los neutrófilos,<sup>12,13</sup> disminuye la agregación plaquetaria<sup>14</sup> y la liberación de citocinas proinflamatorias,<sup>15-17</sup> actúa como antioxidante<sup>18,19</sup> y modula la actividad endotelial de NO;<sup>20</sup> se sabe además que atenúa el ALI por endotoxicemia.<sup>21-23</sup> En este estudio se plantea la utilización de propofol como alternativa potencial para el tratamiento de ALI. Para ello, se propone evaluar si el propofol atenúa las alteraciones hemodinámicas, gasométricas, microscópicas, concentración plasmática de ET-1 e inmunohistoquímica en un modelo experimental de daño pulmonar agudo inducido por OA.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Animales de experimentación

Se utilizaron 18 perros mestizos sanos, adultos, sin importar el sexo, con peso entre 15 y 20 kg. Todos los animales fueron tratados de acuerdo con las Especificaciones Técnicas para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999,<sup>24</sup> así como la *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* de los Estados Unidos.<sup>25</sup>

### Grupos de estudio

Los animales fueron divididos en tres grupos de estudio:

- Grupo I (n = 6): testigo.
- Grupo II (n = 6): ALI inducido con OA sin tratamiento.
- Grupo III (n = 6): pretratamiento con propofol y ALI inducido con OA.

### Modelo experimental

La técnica utilizada para inducir daño pulmonar agudo fue la descrita en Hernández, et al.<sup>26</sup> En el grupo III se realizó un pretratamiento con propofol (Diprivan, Astra Zeneca, Milán, Italia) a dosis de 10 mg/kg/h<sup>27</sup> 30 min antes de la infusión de OA.

### Evaluación

El estudio tuvo una duración de 165 min. Durante este tiempo se realizó evaluación hemodinámica, gasométrica, así como radiográfica para la identificación del ALI y se consideró que estaba presente cuando se mostró: hipoxemia ( $\text{PaO}_2/\text{FIO}_2 < 300$ ), presión de oclusión de la arteria pulmonar (PAWP)  $< 18 \text{ mmHg}$  e infiltrados alveolares bilaterales en placa simple de tórax.<sup>28</sup>

### Hemodinamia y gasometría

Los parámetros hemodinámicos evaluados fueron: gasto cardíaco (CO) (método de termodilución), presión arterial media sistémica (MAP) y pulmonar (MPAP); presión de oclusión (PAWP); cortocircuito intrapulmonar (QS/QT); resistencias vasculares sistémicas (SVR) y pulmonares (PVR); presión arterial ( $\text{PaO}_2$ ) y venosa ( $\text{PvO}_2$ ) de oxígeno; presión arterial ( $\text{PaCO}_2$ ) y venosa ( $\text{PvCO}_2$ ) de dióxido de carbono, y pH.

Las determinaciones de los parámetros hemodinámicos y gasométricos se realizaron antes de la inducción del ALI y cada 15 min después de la administración del OA. Al concluir el tiempo de estudio, los animales se sometieron a eutanasia con sobredosis de pentobarbital sódico (Anestesal, Pfizer, México).<sup>24</sup>

### Edema pulmonar

La cuantificación del edema pulmonar se llevó a cabo mediante análisis gravimétrico. Para esto, los lóbulos pulmonares se pesaron y se desecaron en una estufa con temperatura entre 60 y 65°C, hasta obtener peso constante. Finalmente, la ganancia de peso del pulmón se calculó con la siguiente fórmula:

$$(\Delta\text{PP}) = (\text{PH}-\text{PS})/\text{PS}$$

Donde:

- $(\Delta\text{PP})$ : ganancia de peso del pulmón
- PH: peso del pulmón final.
- PS: peso del pulmón inicial.

### Microscopía

Para el estudio histológico se tomaron muestras de los lóbulos pulmonares caudales, se fijaron en formaldehído a 10% y se incluyeron en parafina, se les realizaron cortes de  $4\mu$ , y se tiñeron con hematoxilina-eosina (HE). Por microscopia de luz se determinó la presencia de edema, colapso alveolar, hemorragia, membranas hialinas, infiltrado de neutrófilos y microtrombos. Los resultados observados se clasificaron en cuatro grados de acuerdo con su severidad: histología normal (grado 0), daño leve (grado 1), moderado (grado 2) y severo (grado 3).

### Cuantificación plasmática de ET-1

Para la cuantificación plasmática de ET-1 se tomaron muestras sanguíneas de arteria pulmonar (a través del catéter Swan Ganz), las cuales se colocaron en tubos con EDTA y posteriormente fueron centrifugados a 1,800 rpm durante 15 min a temperatura de 4°C en una centrífuga CS-6R (Beckman). Una vez obtenido el plasma, se colocó en tubos de polipropileno que se almacenaron a 20°, hasta la utilización de un anticuerpo policlonal dirigido contra endotelina-1 [Assay Designs Endothelin TiterZyme (EIA) 900-020]. Posteriormente, la muestra fue concentrada y extraída con una columna Sep Pack C 18 (Millipore).

## Detección inmuhistoquímica de ET-1 y ET<sub>B</sub>

La detección *in situ* de ET-1 y ET<sub>B</sub> en tejido pulmonar se realizó en cortes de 2-4  $\mu$  con el uso de anticuerpos monoclonales Sheep anti-Endothelin B receptor, Fitzgerald Endothelin B Receptor Polyclonal Antibody y anti-endothelin Monoclonal Antibody (RDI Research Diagnostics), respectivamente, mediante el sistema Biotina-Streptavidina-Peroxidasa (Kit. Universal Quick, Vectastain, Burlingame, CA). Las secciones fueron evaluadas semicuantitativamente con microscopía de luz de acuerdo con el grado y a la intensidad de la inmunotinción con una escala de 0 a 3:

- Sin tinción (grado 0).
- Focal o tinción débil (grado 1).
- Difuso moderado (grado 2).
- Tinción intensa (grado 3).

### Análisis estadístico

Los datos se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar. Se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) y se aplicó análisis *a posteriori* Dunnet para comparar las medias de todos los tratamientos contra un control. Para establecer diferencias entre las medias de los otros tratamientos entre sí se utilizó el análisis de Tukey. El análisis estadístico se realizó mediante el programa estadístico SPSS versión 15.0 (SPSS Inc. Chicago, Illinois). Se consideró estadísticamente significativo un valor de *p* menor de 0.05 (*p* < 0.05).

## RESULTADOS

Todos los animales sobrevivieron al tiempo de estudio; después de realizar las evaluaciones hemodinámicas, gasométricas y radiográficas, se observó que el grupo I no desarrolló ALI, mientras que 100% de los animales de los grupos II y III desarrollaron ALI posterior a la inyección de OA a partir del minuto 60, manteniéndose hasta el final del estudio.

### Hallazgos hemodinámicos

En el grupo I, la MPAP se encontró dentro de los parámetros normales durante el estudio; no obstante, en los grupos II y III se observó un incremento en comparación con sus valores basales a los quince minutos de la administración del OA, la cual se mantuvo hasta el final del estudio (Cuadro 1). Este in-

cremento, sin embargo, no rebasó los valores referenciales. Se presentó diferencia entre los grupos I y III (*p* < 0.05 ANOVA-Dunnet).

Se detectó un incremento en la presión media de la arteria pulmonar para los grupos II y III, respectivamente ( $17.6 \pm 3.6$  y  $18.8 \pm 8.2$  mmHg), PVR ( $598 \pm 288$  y  $585 \pm 175$  dinas/s/cm<sup>5</sup>) y disminución en la PaO<sub>2</sub> ( $76 \pm 51.2$  y  $104.8 \pm 8.2$  mmHg) (Cuadro 1).

Las PVR también se incrementaron significativamente (*p* < 0.05, ANOVA Dunnet) en el grupo II y III con respecto al grupo I y entre grupos (*p* < 0.05, ANOVA Tukey), a los 15 min posteriores a la administración del OA y así permanecieron hasta el final del estudio (Cuadro 1).

Con respecto al QS/QT en el grupo I, se encontró dentro de los parámetros normales durante el estudio. Sin embargo, en los grupos II y III se incrementó en comparación con sus valores basales y en comparación con el grupo I (*p* < 0.05, ANOVA-Dunnet), y a partir de los 105 min posteriores a la administración del OA (*p* < 0.05 ANOVA-Tukey) (Cuadro 1).

Gasométricamente, en el grupo testigo, tanto las muestras arteriales como las venosas se observaron normales durante todo el estudio, a diferencia de los grupos II y III, en los que la PaO<sub>2</sub> mostró disminución importante a los 45 min después de la administración del OA (*p* < 0.05, ANOVA-Tukey), y continuó disminuyendo hasta el final del estudio (Cuadro 1 y Figura 1). En este estudio sólo hubo correlación entre el índice de PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> y QS/QT, la cual fue negativa fuerte (Pearson *r* = -0.847, *p* < 0.001) debido a que a menor presencia de O<sub>2</sub> hay mayor presencia de QS/QT.

### Análisis gravimétrico

El peso de los pulmones de los grupos de estudio II y III aumentó ( $127.17 \pm 32.34$  g y  $127.86 \pm 29.91$  g, respectivamente) en comparación con el grupo I ( $42.08 \pm 13.26$  g) *p* < 0.01 ANOVA-Dunnet.

### Microscópicos

Histológicamente el grupo I se observó normal. El grupo II desarrolló colapso alveolar grado 2, edema alveolar grado 3, hemorragia grado 1, infiltración leucocitaria grado 3, microtrombos grado 2. En el grupo III se observó colapso alveolar grado 1, edema alveolar grado 2, hemorragia grado 3, sin presencia de infiltrado leucocitario ni microtrombos (Figura 2).

Cuadro 1. Hallazgos hemodinámicos y gasométricos. Incremento en la MPAP, PVR y QS/QT, así como la disminución de la PaO<sub>2</sub> en el grupo II, después de la administración del OA.

Parámetro evaluado (Grupo de estudio)	Basal	Tiempos de evaluación (min)									
		15	30	45	60	75	90	105	120	135	150
<b>MPAP</b>											
Control sin DPA	12.5 ± 2.3	13.3 ± 2.5	13.8 ± 1.4	14 ± 1.7	15 ± 2.8	14.8 ± 1.4	15 ± 2.4	15.1 ± 2.6	14.1 ± 2.9	16.1 ± 3.1	14.6 ± 3
OA	12.8 ± 1.9	15.6 ± 3.3	15 ± 4.4	15.1 ± 3.3	*17.6 ± 6.2	*16.8 ± 4.7	*17.3 ± 4.2	*17.1 ± 4	*17.6 ± 3.6	*17.3 ± 4.2	16.6 ± 4.5
Propofol	12.4 ± 4.7	14.4 ± 6.1	18.2 ± 8.8*	16.6 ± 7.2*	17 ± 8.8	16 ± 7.3*	15.8 ± 7.7*	17.4 ± 8.5*	17.6 ± 8.6*	18 ± 8.4*	18.8 ± 9.1*
<b>PRV</b>											
Control sin DPA	224.6 ± 91.3	227.1 ± 118.3	183.8 ± 67.8	193.6 ± 111.8	174.5 ± 59.1	188.5 ± 88.6	183.3 ± 63.1	221 ± 93	234.8 ± 114.4	229.3 ± 71.7	234 ± 94.8
OA	275.6 ± 100.9	*598.5 ± 288.6	441.1 ± 173	421.8 ± 201.7	471.3 ± 250.7	399.3 ± 239.7	366.8 ± 147	450.1 ± 155.1	395 ± 96.7	380.6 ± 156.7	482.1 ± 280.6
Propofol	372.40 ± 121.04	671.00 ± 329.96*	514.2 ± 89.03	553.60 ± 219.08	492.40 ± 120.41	533.00 ± 201.00*	603.14 ± 156.08*	525.40 ± 147.53*	473.20 ± 131.04*	556.40 ± 160.59*	514.00 ± 197.78
<b>QS/QT</b>											
Control sin DPA	9.8 ± 9.7	8.8 ± 6.4	8.3 ± 6.4	12.8 ± 11.6	12.5 ± 12.6	15.5 ± 12.5	15.5 ± 12.1	15 ± 11.1	16 ± 10	10 ± 13.9	15.1 ± 12
OA	21.3 ± 5.9	25.1 ± 23.7	23.3 ± 23.2	32.6 ± 28	45.3 ± 35.6	41 ± 24.2	43.5 ± 22.1	*46.3 ± 23.4	*48 ± 24.1	*56.1 ± 29.5	*51 ± 24.8
Propofol	10.40 ± 3.84	25.40 ± 20.19	30.60 ± 19.25	32.80 ± 15.41	31.00 ± 13.49	47.60 ± 22.22	50.40 ± 22.7	52.40 ± 21.85*	52.20 ± 23.10*	56.16 ± 25.65*	53.60 ± 25.48*
<b>PaO<sub>2</sub></b>											
Control sin DPA	342.6 ± 42.6	357.6 ± 135.8	375.3 ± 138.4	378.1 ± 129.9	376.6 ± 124.4	380.3 ± 128.9	373.5 ± 66.8	363.8 ± 72.6	363.6 ± 63.3	371.3 ± 46.6	376.8 ± 32
OA	349.9 ± 79.5	299.6 ± 6.2	240.6 ± 20.94	*195.9 ± 47.6	*147.1 ± 60.8	*132.6 ± 44.4	*99.3 ± 45.4	*100.4 ± 37	*91.5 ± 27.7	*82.7 ± 50.6	*74 ± 54.8
Propofol	343.2 ± 43.48	225 ± 106.7	163.6 ± 80.92	121.6 ± 67.35	113.8 ± 62.09	91.4 ± 72.13	85.2 ± 59.39	73.2 ± 39.76	82 ± 65.13	88 ± 73.44	86 ± 74.9

P < 0.05 ANOVA. Promedio ± desviación estándar. MPAP: presión media de arteria pulmonar. PRV: resistencias vasculares pulmonares. QS/QT: cortocircuito. PaO<sub>2</sub>: Presión arterial de oxígeno.

## ET-1 en plasma

Los niveles plasmáticos de ET-1 presentaron diferencias significativas entre el grupo I ( $0.61 \pm 0.35$  pg/mL) contra grupo II ( $4.15 \pm 0.49$  pg/mL) ( $p < 0.001$ , ANOVA-Dunnet); y grupo II contra grupo III ( $1.27 \pm 0.50$  pg/mL) ( $p < 0.002$ , ANOVA-Tukey).

## Hallazgos inmunohistoquímicos

El análisis inmunohistoquímico de ET-1 reveló: grupo I, tinción focal (grado 1) en 33% de las muestras; grupo II: 83.33% de las muestras de tejido pulmonar de los animales mostraron expresión grado 3;

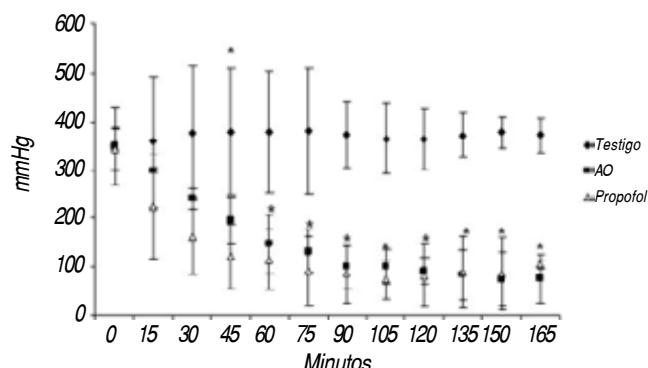


Figura 1. Comportamiento de la presión arterial de oxígeno ( $\text{PaO}_2$ ) durante el desarrollo del ALI. Promedio  $\pm$  Desviación estándar. \* $p < 0.05$  ANOVA Dunnet.

grupo III: 100% de las muestras mostraron expresión para ET-1 grado 1.

Esta tinción se observó en primer lugar en los bronquiolos y en el endotelio, seguido por las células epiteliales alveolares, en todos los casos con un patrón citoplasmático difuso (Figura 3).

En relación con la expresión de los receptores  $\text{ET}_B$  se presentó tinción intensa (grado 3) en 66.7% de las muestras del grupo I y en 83.3% del grupo II, mientras que en el grupo III se presentó tinción focal (grado 1) en 66.7% de las muestras.

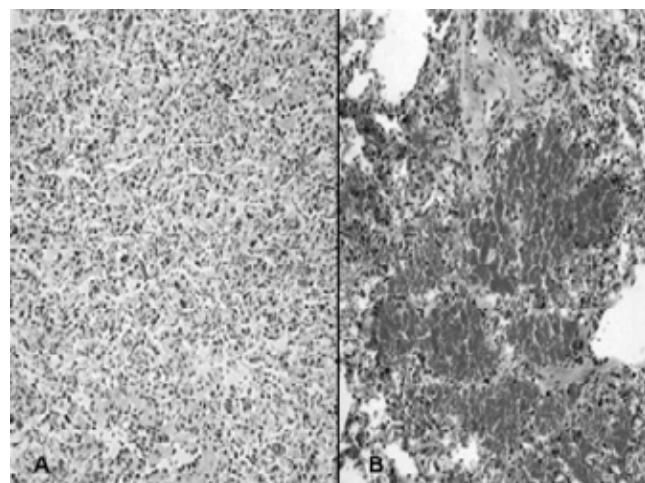


Figura 2. Microfotografía de tejido pulmonar (H&E 10X) que muestra infiltración leucocitaria (grado 3) en un animal del grupo II (A) y hemorragia y edema (grado 3) en el grupo III (B).

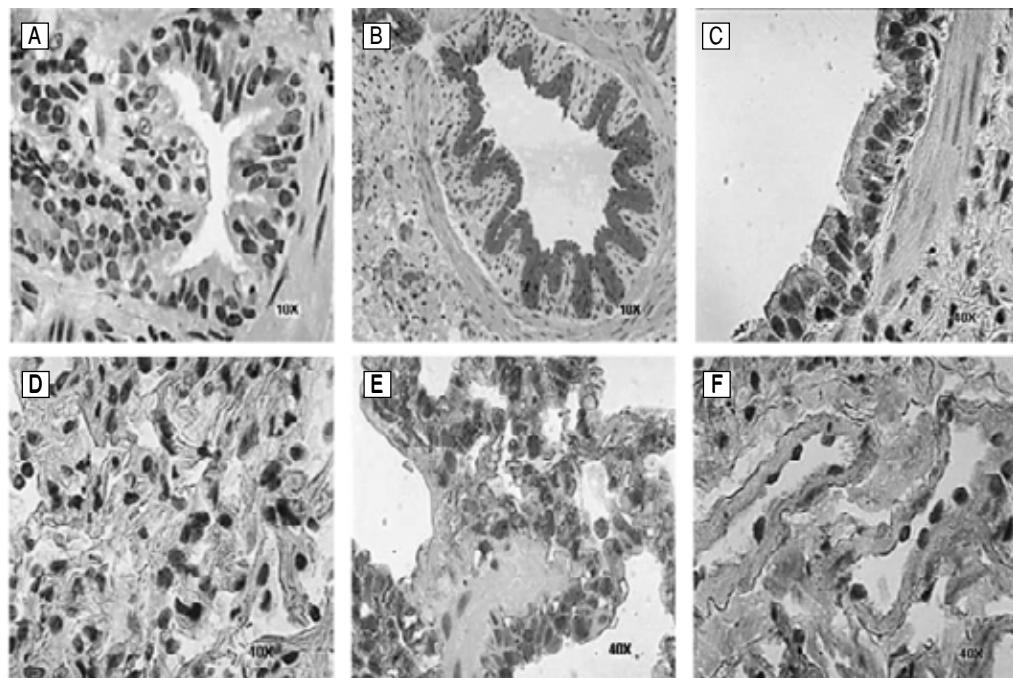


Figura 3. Micrografía de tejido pulmonar (inmunohistoquímica). Las secciones de tejido se incubaron con anticuerpos anti  $\text{ET}_B$  y anti ET-1, y detectadas con el método descrito. Las células se tiñeron con una marca roja discontinua cuando hubo expresión para  $\text{ET}_B$  y ET-1 (A-C). Expresión de  $\text{ET}_B$  en bronquiolos en los grupos I, II y III, respectivamente. D. Ausencia de expresión de ET-1 en epitelio alveolar en el grupo I. E y F. Expresión de ET-1 en epitelio alveolar de los grupos II y III, respectivamente.

## DISCUSIÓN

El objetivo de este trabajo fue evaluar si el propofol atenuaba las alteraciones ocasionadas durante el ALI inducido por OA (deterioro en la oxigenación, edema pulmonar, cambios histológicos y cambios en la concentración plasmática y expresión de ET-1). Para esto, se utilizó una presentación comercial del fármaco (Diprivan®), porque su solución Intralipídica® ha demostrado ser la responsable de los efectos sobre la inhibición de la activación y migración de los neutrófilos,<sup>13,14</sup> la disminución sobre la agregación plaquetaria<sup>15</sup> y la liberación de citocinas proinflamatorias,<sup>16-18</sup> así como por su acción antioxidante.

Se eligió el modelo de ALI inducido por OA porque produce lesiones patológicas similares en humanos<sup>1</sup> que padecen este síndrome, además de que no requiere una respuesta inflamatoria que inicie el daño alveolar. En este trabajo, todos los perros que recibieron ácido oleico desarrollaron ALI, manifestando alteración hemodinámica (incremento en la presión, resistencias vasculares pulmonares) y gasometría, como describieron otros autores que utilizaron OA en diferentes modelos animales.<sup>29</sup> La valoración de los gases y equilibrio ácido base demostró que el OA alteró la membrana alvéolo-capilar en los grupos II y III, ya que disminuyó la PaO<sub>2</sub> y el pH, e incrementó la PaCO<sub>2</sub>, a causa del edema pulmonar. Sin embargo, a partir del minuto 150, la PaO<sub>2</sub> en el grupo III mostró un incremento y siguió esta tendencia hasta el final del estudio (Cuadro 1). Por otra parte, Taniguchi<sup>14</sup> mostró que el pretratamiento con propofol en ratas con endotoxemia mantuvo la PaO<sub>2</sub> en valores normales. Estas diferencias pueden deberse tanto al modelo animal como a la dosis de propofol y del agente inductor de ALI utilizados.

El incremento en el cortocircuito de los grupos II y III (debido a edema, hemorragia y colapso alveolar) confirmó la existencia de áreas mal ventiladas que evitaron el intercambio gaseoso.

Histológicamente se confirmó que la administración de OA produce la fase exudativa ALI caracterizada por edema intersticial e intraalveolar, hemorragia, leucoaglutinaciones, membranas hialinas y microtrombos de fibrina. Beilman<sup>30</sup> mencionó que estas lesiones son ocasionadas por la toxicidad directa del OA a las células endoteliales. El infiltrado leucocitario, observado en el grupo II, coincidió con lo observado por otros autores en pulmones de diferentes especies después de la lesión por OA, y describieron que el infiltrado leucocitario estaba involucrado en la patogénesis del ALI por OA.<sup>31,32</sup>

Los hallazgos en el grupo III sugieren que el propofol atenuó la infiltración leucocitaria, como reportaron Hofbauer,<sup>12</sup> Chen<sup>23</sup> y Taniguchi,<sup>16</sup> quienes mostraron que la administración de propofol en un modelo de ratas endotoxémicas inhibió la liberación de TNFα e interleucina 6 y, por tanto, la infiltración de neutrófilos en el pulmón. Otros investigadores reportaron la inhibición de las funciones de los neutrófilos por el propofol *in vitro*. Mikawa<sup>13</sup> mostró que el propofol inhibe la fagocitosis y la producción de especies reactivas al oxígeno por los neutrófilos. Nuestros hallazgos sugieren que *in vivo* el propofol reduce la infiltración de neutrófilos en perros con ALI inducido por OA.

La hemorragia severa que se presentó en el grupo III sugiere que el propofol evitó la agregación plaquetaria. Este efecto se ha relacionado con la inhibición en la síntesis del tromboxano plaquetario (Tx<sub>A</sub><sub>2</sub>) y el incremento en la síntesis de NO leucocitario, como lo demuestran diversos reportes.<sup>14,33,34</sup> Esta inhibición condujo probablemente a que en el grupo III se promoviera un estado hemorrágico pulmonar, lo que a su vez disminuyó la PaO<sub>2</sub> y aumentó el QS/QT.

Por otra parte, el incremento en el peso de los pulmones en el grupo II concuerda con lo descrito por Schuster<sup>1</sup> Miyazawa<sup>35</sup> y Wang,<sup>36</sup> quienes, en un modelo de ALI por OA, observaron edema y hemorragia en los pulmones de los animales, que incrementaron de dos a tres veces el peso del órgano. En este estudio, el incremento en el peso pulmonar del grupo III indicó que el propofol, a la dosis utilizada, no disminuyó la formación de edema pulmonar producido por alteración de la permeabilidad vascular, como lo reportó Hyun,<sup>37</sup> quien evaluó los efectos del propofol en ALI en conejos. Igualmente Chu,<sup>22</sup> con un modelo de ALI en ratas inducido por endotoxemia, utilizó propofol a dosis de 30 y 60 mg/kg/h y demostró que se atenuó el ALI al evaluar los cambios en la relación peso húmedo/peso seco, NO exhalado, permeabilidad microvascular e histología pulmonar; sin embargo, las altas dosis de propofol en este estudio provocaron importantes alteraciones hemodinámicas.

Con respecto a la concentración de ET-1, se sabe que el daño pulmonar agudo experimental originado por diferentes causas provoca incremento en su circulación.<sup>38</sup> Simmet, *et al.*<sup>39</sup> demostraron, en un modelo de ALI inducido por OA, incremento en los niveles plasmáticos de ET-1 a partir del minuto 15 post-ALI. El incremento de ET-1 también se relaciona con el aumento en la presión arterial y disminución de PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>, mientras que la mejoría clínica

correlaciona con la disminución de los niveles de ET-1.<sup>40,41</sup> Por otra parte, la ET-1 también se incrementa en pacientes con ARDS, pero no está claro si hay un incremento en la síntesis pulmonar o una disminución en la depuración. En pacientes que murieron por ARDS también se encontró un incremento en la expresión inmunohistoquímica de ET-1 en el endotelio vascular, músculo liso, epitelio de la vía aérea y macrófagos alveolares comparados con pulmones de pacientes que no murieron por ARDS; es relevante que estos mismos pacientes tuvieron una disminución en la expresión detectada por inmunohistoquímica de eNOS e iNOS en el pulmón.<sup>42</sup> Aunque la ET-1 puede actuar como un modulador inmune, su incremento contribuiría al daño pulmonar por inducir la expresión de citocinas, incluyendo el TNF $\alpha$ , IL-6 e IL-8. Estas citocinas a su vez estimulan la producción de otros mediadores inflamatorios, lo que conduce a agravar el daño pulmonar. La ET-1, adicionalmente, activa los neutrófilos atrapados en el pulmón y aumenta su migración.<sup>43</sup>

Recientemente Guimaraes<sup>5</sup> mostró que el ALI inducido por OA activa al sistema endotelina, vía activación de receptores ET<sub>B</sub>, lo cual conduce a la infiltración de neutrófilos circulantes y al aumento de la permeabilidad vascular alveolar. La disminución en la concentración plasmática de ET-1 en el grupo III se asociaría a las propiedades farmacológicas del propofol, ya que presenta efectos inmunomoduladores por disminución en la producción de citocinas proinflamatorias alterando la biosíntesis del NO. Además inhibe las funciones de los neutrófilos, tales como la quimiotaxis, adhesión, migración, fagocitosis y producción de especies reactivas de oxígeno. La administración intravenosa de propofol tiene efecto antiinflamatorio *in vivo* en endotoxemia inducida por sepsis<sup>16</sup> y en ALI inducido por ácido oleico.<sup>23</sup> Sin embargo, los mecanismos moleculares aún no son claros. Estudios recientes<sup>44-46</sup> se centraron en la actividad inhibidora del propofol en LPS orientada especialmente a la vía de NF-κB. Estos estudios identificaron potenciales acciones inhibitorias de señalización mediadas por propofol, mediante la modulación de MAPK/ERK1/2, que actúa antes de la señalización de NF-κB.

La expresión de ET-1 y ET<sub>B</sub> en el grupo I se explica porque la ET-1 es sintetizada por varios tipos celulares y no sólo por células endoteliales. La ET-1 actúa sobre músculo liso de arterias pulmonares y bronquiales, así como también en bronquios y parénquima pulmonar. Estas áreas anatómicas fueron revisadas por Barnes<sup>47</sup> y Guembe,<sup>48</sup> quienes confirmaron la presencia de ET-1 y ET-3 y sus precurso-

res en el epitelio celular y glándulas submucosas normales.

## CONCLUSIONES

El propofol se ha utilizado rutinariamente como sedante en las Unidades de Cuidados Intensivos. En este trabajo, los resultados del pretratamiento con propofol en un modelo canino de ALI provocado por OA, indican que el fármaco presenta acción antiinflamatoria, con un potencial papel terapéutico contra la progresión de la inflamación y daño pulmonar.

## REFERENCIAS

- Schuster DP. ARDS: Clinical lessons from the oleic acid model of acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 245-60.
- Rubenfeld GD, Caldwell E, et al. Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med* 2000; 342: 1301-8.
- Olivar LV, Rivera VR, Chávez LA. Criterios diagnósticos de síndrome de dificultad respiratoria aguda en México. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2000; 57(5): 263-69.
- Tasaka S, Hasegawa N, Ishizaka A. Pharmacology of Acute Lung Injury. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 2002; 15: 83-95.
- Guimaraes CL. Endothelin ETB receptor-mediated mechanisms involved in oleic acid-induced acute lung injury in mice. *Clinical Science* 2002; 103(Suppl. 48): 34OS-344S.
- Motohiro A, Furukawa T, Yasumoto K, et al. Mechanisms involved in acute lung edema induced in dogs by oleic acid. *Eur Surg Res* 1986; 18: 50-57.
- Lim SC, Adams AB, Simonson DA, et al. Transient hemodynamic effects of recruitment maneuvers in three experimental models of acute lung injury. *Crit Care Med* 2004; 32: 2378-84.
- Fagan KA, McMurtry IF, Rodean DM. Role of endothelin-1 in lung disease. *Respir Res* 2001; 2: 90-101.
- Simmet T, Pritzie S, Thelen KI, Peskar BA. Release of endothelin in the oleic acid-induced respiratory distress syndrome in rats. *Eur J Pharmacol* 1992; 211: 319-22.
- Langleben D, Demarchie M, Laporta D, Spanier AH, Schlesinger RD, Stewart DJ. Endothelin 1 in acute lung injury and the adult respiratory distress syndrome in rats. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 1646-50.
- Booke M. The effects of propofol on hemodynamics and renal blood flow in healthy and septic sheep. *Anesth Analg* 1996; 82: 738-43.
- Hofbauer R, Frass M, Salfinger H, et al. Propofol reduces the migration of human leucocytes through endothelial cell monolayers. *Critical care Medicine* 1999; 27: 1843-47.
- Mikawa K, Akamatsu H, Nishina K, et al. Propofol inhibits human neutrophil functions. *Anesthesia Analgesia* 1998; 87: 695-700.
- Aoki H, Mizobe T, Nozuchi S, Hiramatsu N. In vivo and in vitro studies of inhibitory effect of propofol on human platelet aggregation. *Anesthesiology* 1998; 88(2): 362-70.
- Taniguchi T, Kanakura H, Yamamoto K. Effects of propofol on hemodynamic and inflammatory responses to endotoxemia in rats. *Crit Care Med* 2000; 28: 1101-06.
- Taniguchi T, Kanakura H, Yamamoto K. Effects of posttreatment with propofol on mortality and cytokine responses to en-

- dotoxin-induced shock in rats. *Crit Care Med* 2002; 30: 904-07.
17. Galley HF, Dubbels AM, Webster NR. The effect of midazolam and propofol on interleucine 8 from human polymorphonuclear leukocytes. *Anesthesiology* 1988; 88: 362-70.
  18. Irina VB, Visintine DJ, Gunnerson HB, Paisansathan Ch, Baughman VL, et al. Propofol attenuates lung endothelial injury induced by ischemia-reperfusion and oxidative stress. *Anesth Analg* 2005; 100: 929-36.
  19. De la Cruz JP, Sedeño G, Carmona JA, Sánchez de la Cuesta F. The in vitro effects of propofol on tisular oxidative stress in the rat. *Anesth Analg* 1998; 87: 1141-6.
  20. Petros AJ, Bogle RG, Pearson J. Propofol stimulates nitric oxide release from cultured porcine aortic endothelial cells. *Br. J Pharmacol* 1993; 109: 6-7.
  21. Takao Y, Mikawa K, Nishina K, Obara H. Attenuation of acute lung injury with propofol in endotoxemia. *Anesth Analg* 2005; 100: 810-6.
  22. Chu CH, Liu DD, Hsu YH, Lee KC, Chen IH. Propofol exerts protective effects on the acute lung injury induced by endotoxin in rats. *Pulmonary Pharmacol & Therapeutics* 2007; 20(5): 503-12.
  23. Chen Hsing I, Nan-Kuang Hsieh, Shang Jyh Kao, et al. Protective effects of propofol on acute lung injury induced by oleic acid in conscious rats. *Crit Care Med* 2008; 36(4): 1214-21.
  24. 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.
  25. National Institutes of Health U.S.A. Guía Para el Cuidado y Uso de Los Animales de Laboratorio. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health U.S.A. Edición Mexicana Auspiciada por la Academia Nacional de Medicina. México, D.F. 2002.
  26. Hernández JC, Jasso VR, Olmos ZR, Villalba CJ, Gaxiola GM, Sotres VA, et al. Modelo Experimental canino de daño pulmonar agudo producido con ácido oleico: estableciendo un modelo de trabajo. *Rev Invest Clin* 2010; 62(3): 222-30.
  27. Hyun KS, Jeong II Choi, Jong Tae Park. Effects of Propofol on Endotoxin-induced Acute Lung Injury in Rabbit. *J Korean Med Sci* 2004; 19: 55-61.
  28. 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.
  29. Matute-Bello G, Frevert WC, Martin TR. Animals models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 295: L379-L399.
  30. 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.
  31. Eiermann G, Dickey B, Thrall R. Polymorphonuclear leukocyte participation in acute oleic-acid-induced lung injury. *Am Rev Resp Dis* 1983; 128: 845-50.
  32. Hofman W, Ehrhart I. Permeability edema in dog lung depleted of blood components. *J Appl Physiol* 1984; 57: 147-53.
  33. De la Cruz JP, Páez MV, Carmona JA. Propofol inhibits in vitro platelet aggregation in human whole blood. *Anesth Analg* 1997; 84: 919-24.
  34. De la Cruz JP, Páez MV, Carmona JA. Antiplatelet effect of the anesthetic drug propofol: influence of red cells and leucocytes. *Br J Pharmacol* 1999; 128: 1538-44.
  35. 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.
  36. Wang HM, Bodenstein M, Markstaller K. Overview of the Pathology of Three widely used animals models of acute lung Injury. *Eur Surg Res* 2008; 40: 305-16.
  37. Hyun KS, Jeong II Choi, Jong Tae Park. Effects of propofol on endotoxin-induced acute lung injury in rabbit. *J Korean Med Sci* 2004; 19: 55-61.
  38. Michael JR, Markewitz BA. Endothelins and the lung. *Am J Resp Crit Care Med* 1996; 154: 555-81.
  39. Simmet T, Pritzl S, Thelen KI, Peskar BA. Release of endothelin in the oleic acid-induced respiratory distress syndrome in rats. *Eur J Pharmacol* 1992; 211: 319-22.
  40. Langleben D, Demarchie M, Laporta D, Spanier AH, Schlesinger RD, Stewart DJ. Endothelin 1 in acute lung injury and the adult respiratory distress syndrome in rats. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 1646-50.
  41. Mitaka C, Hirata Y, Nagura T, Tsunoda Y, Amaka K. Circulating endothelin-1 concentrations in acute respiratory failure. *Chest* 1993; 104: 476-80.
  42. Albertine KH, Wang ZM, Michael JR. Expression of endothelial nitric oxide synthase, inducible nitric oxide synthase, and endothelin-1 in lungs of subjects who died with ARDS. *Chest* 1999; 111: 101S-102S.
  43. Fagan AK, McMurry FI, Rodman MD. Role of endothelin-1 in Lung disease. *Respir Res* 2001; 2: 90-101.
  44. Hsing CH, Lin MC, Choi PC, Huang WC, Kai JI, Tsai CC, et al. Anesthetic propofol reduce endotoxic inflammation by inhibiting reactive oxygen specien-regulated AKT/IKKβ/NF-κB signaling. *Plos One* 2011; 6(3): e17598.
  45. Song XM, Wang YL, Li JG, Wang CY, Zhou Q. Effects of propofol on pro-inflammatory cytokines and nuclear factor kappa B during polymicrobial sepsis in rats. *Mol Biol Rep* 2009; 36: 2345-51.
  46. Chiu WT, Lim YL, Chou CW, Chen RM. Propofol inhibits linoleic acid-induced iNOS gene expression in macrophages possibly through down-regulation of toll-like receptor 2-mediated activation of Raf-MEK 1/2-IKK-NFκB. *Chem Biol Interact* 2009; 181: 430-39.
  47. Barnes PJ. Endothelins and pulmonary diseases. *J Appl Physiol* 1994; 77: 1051-9.
  48. Guembe L, Villaro A. Immunohistochemical mapping of endothelin in the developing and adult mouse lung. *J Histochemistry & cytochemistry* 2001; 49(10): 1301-09.

*Reimpresos:*

**Dra. Claudia Hernández-Jiménez**  
 Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias  
 Ismael Cosío Villegas  
 Clzda. de Tlalpan, Núm. 4502  
 Col. Sección XVI  
 14080, México, D.F.  
 Tel. 5487-1700, Ext. 5180  
 Correo electrónico: claudia\_herjim@yahoo.com

Recibido el 25 de noviembre 2011.  
 Aceptado el 26 de junio 2012.