

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Facultad de Ciencias de la Salud



Tesis doctoral

Modificaciones alveolares, moleculares y de la mecánica respiratoria producidas por distintas concentraciones de oxígeno en ratas sanas sometidas a ventilación mecánica con estrategia ventilatoria protectora

Autor:

David Domínguez García

Directores:

Francisco Valladares Parrilla

Jesús Villar Hernández

2015

Dr. Francisco Valladares Parrilla, Profesor Titular de Histología del Departamento de Ciencias Médicas Básicas, Sección de Medicina de la Facultad de Ciencias de la Salud de La Universidad de La Laguna.

Dr. Jesús Villar Hernández, Jefe de Grupo del Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES) del Instituto de Salud Carlos III y Coordinador del Grupo de Investigación Traslacional en la Unidad de Investigación del Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín.

CERTIFICAN:

Que la Tesis doctoral que presenta D. David Domínguez García titulada “MODIFICACIONES ALVEOLARES, MOLECULARES Y DE LA MECÁNICA RESPIRATORIA PRODUCIDAS POR DISTINTAS CONCENTRACIONES DE OXÍGENO EN RATAS SANAS SOMETIDAS A VENTILACIÓN MECÁNICA CON ESTRATEGIA VENTILATORIA PROTECTORA”, ha sido realizada bajo su dirección y supervisión.

Revisado el presente trabajo, consideran que tiene la debida calidad para su presentación y defensa.

En La Laguna, a 1 de Septiembre de 2015.

Dr. Francisco Valladares Parrilla

Dr. Jesús Villar Hernández

A mis padres, a los que les debo todo. Los quiero

A mi mujer, Pepa y a mi hijo, Sergio. Mis dos almas.

ÍNDICE

1. AGRADECIMIENTOS.....	12
2. LISTADO DE FOTOS, FIGURAS, GRÁFICAS Y TABLAS.....	15
3. ABREVIATURAS.....	24
4. INTRODUCCIÓN	29
4.1 BREVE HISTORIA DE LA VENTILACIÓN MECÁNICA MODERNA	30
4.2 OBJETIVOS DE LA VENTILACIÓN MECÁNICA	40
4.2.1 OBJETIVOS FISIOLÓGICOS	40
4.2.2 OBJETIVOS CLÍNICOS.....	41
4.2.3 OTROS OBJETIVOS	42
4.3 VENTILACIÓN MECÁNICA CONTROLADA	43
4.3.1 GRADIENTES DE PRESIÓN	43
4.3.2 ECUACIÓN DE MOVIMIENTO DEL SISTEMA RESPIRATORIO	44
4.3.3 VARIABLES FÍSICAS QUE INTERVIENEN EN EL CICLO VENTILATORIO	45
4.4 EFECTOS SISTÉMICOS DE LA VENTILACIÓN MECÁNICA	48
4.4.1 EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LA VENTILACIÓN MECÁNICA.....	48
4.4.1.1 Efectos respiratorios.....	48
4.4.1.2 Efectos cardiovasculares.....	50
4.4.1.3 Efectos renales.....	51
4.4.1.4 Efectos endocrinos	51
4.4.1.5 Efectos neurológicos.....	52
4.4.1.6 Efectos sobre el aparato digestivo.....	52
4.5 PRESIÓN POSITIVA AL FINAL DE LA ESPIRACIÓN (PEEP)	54
4.5.1 PEEP APLICADA (EXTRÍNSECA)	54
4.5.2 CONTRAINDICACIONES PARA EL EMPLEO DE PEEP	56
4.6 CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DEL PULMÓN	57
4.6.1 DIVISIÓN FUNCIONAL DEL APARATO RESPIRATORIO	57
4.6.1.2 Porción respiratoria	58
4.7 HISTOPATOLOGÍA DE LA LESIÓN PULMONAR AGUDA	71
4.8 LESIÓN PULMONAR INDUCIDA POR LA VENTILACIÓN MECÁNICA ...	74
4.8.1 MECANISMOS DETERMINANTES DE VILI	78

4.8.1.1 Sobredistensión alveolar	78
4.8.1.2 Atelectrauma	84
4.8.1.3 Barotrauma.....	88
4.8.1.4 Biotrauma	89
4.8.1.5 Interrelación de acontecimientos.....	93
4.9 LESIÓN PULMONAR ASOCIADA A LA HIPEROXIA (HALI).....	96
4.10 PREVENCIÓN DE VILI	101
5. JUSTIFICACIÓN.....	104
6. OBJETIVOS.....	106
7. MATERIAL Y MÉTODOS	108
7.1 INDUCCIÓN Y MANTENIMIENTO ANESTÉSICO	109
7.2 REALIZACIÓN DE LA TRAQUEOTOMÍA	111
7.3 MONITORIZACIÓN INTRAOPERATORIA	114
7.4 EXTRACCIÓN DE MUESTRAS	117
7.5 GRUPOS EXPERIMENTALES	122
7.6 TÉCNICAS HISTOLÓGICAS EMPLEADAS Y BASE DEL ANÁLISIS HISTOLÓGICO	123
7.7 DETERMINACIÓN DE MEDIADORES INFLAMATORIOS Y DEL ESTRÉS OXIDATIVO	127
7.8 ANÁLISIS GASOMÉTRICO.....	128
7.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	129
8. RESULTADOS	131
8.1 DATOS OBTENIDOS DE LA MONITORIZACIÓN INTRAOPERATORIA	133
8.2 ANÁLISIS DE LAS GASOMETRÍAS ARTERIALES.....	141
8.3 RELACIÓN PESO HÚMEDO/PESO SECO. ÍNDICE <i>WET/DRY</i>	144
8.4 ANÁLISIS DE LOS MEDIADORES INFLAMATORIOS	145
8.5 ANÁLISIS DE LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (ROS)	147
8.6 ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS HISTOLÓGICOS	149
8.6.1.- ANÁLISIS DE LAS ALTERACIONES APRECIADAS EN LOS SEPTOS ALVEOLARES DEPENDIENDO DE LA FIO ₂ EMPLEADA	150

8.6.1a.- Daño en los septos alveolares según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas.....	150
8.6.1b.- Porcentaje de afectación de los septos alveolares según los distintos grupos de ratas ventiladas.....	150
8.6.1c.- Distribución del grado de afectación de los septos alveolares.....	151
8.6.2.- ANÁLISIS DE LA PRESENCIA DE HEMORRAGIAS ALVEOLARES DEPENDIENDO DE LA FIO ₂ EMPLEADA.....	153
8.6.2a.- Presencia de hemorragias alveolares según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas.....	153
8.6.2b.- Porcentaje de presencia de hemorragias alveolares según los distintos grupos de ratas ventiladas.....	153
8.6.2c.- Distribución del grado de presencia de hemorragias alveolares.....	154
8.6.3.- ANÁLISIS DE LA PRESENCIA DE FIBRINA INTRAALVEOLAR DEPENDIENDO DE LA FIO ₂ EMPLEADA	156
8.6.3a.- Presencia de fibrina intraalveolar según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas.....	156
8.6.3b.- Porcentaje de presencia de fibrina intraalveolar según los distintos grupos de ratas ventiladas.....	156
8.6.3c.- Distribución del grado de presencia de fibrina intraalveolar	157
8.6.4.- ANÁLISIS DE LA PRESENCIA DE INFILTRADOS INTRAALVEOLARES DEPENDIENDO DE LA FIO ₂ EMPLEADA	158
8.6.4a.- Presencia de infiltrados intraalveolares según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas.....	158
8.6.4b.- Porcentaje de presencia de infiltrados intraalveolares según los distintos grupos de ratas ventiladas.....	159
8.6.4c.- Distribución del grado de presencia de infiltrados intraalveolares.....	160
8.6.5.- PATRÓN HISTOLÓGICO GLOBAL	161
8.6.5a.- Patrón histológico global según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas.....	161
8.6.5b.- Patrón histológico global estimado como porcentaje según los distintos grupos de ratas ventiladas.....	161
8.6.5c.- Categorización del patrón histológico global	162
8.6.6.- ANÁLISIS DE LOS CAMBIOS FIBRÓTICOS OBSERVADOS DEPENDIENDO DE LA FIO ₂ EMPLEADA	164
8.6.6a.- Cambios fibróticos según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas.....	165
8.6.6b.- Cambios fibróticos estimados como tanto por mil según los distintos grupos de ratas ventiladas.....	165

8.7 ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE LAS ALTERACIONES HISTOLÓGICAS OBSERVADAS	167
8.7.1 GRUPO FiO ₂ 0,21	167
8.7.2 GRUPO FiO ₂ 0,4	173
8.7.3 GRUPO FiO ₂ 0,6	178
8.7.4 GRUPO FiO ₂ 1	183
9. DISCUSIÓN	190
9.1 RÁPIDO COMIENZO Y SELECCIÓN DEL ANIMAL	198
9.2 EVIDENCIA HISTOLÓGICA DE LESIÓN TISULAR	199
9.3 VALORACIÓN DE LAS ALTERACIONES DE LA MEMBRANA ALVEOLO-CAPILAR	208
9.4 EVIDENCIA DE DISFUNCIÓN FISIOLÓGICA	211
9.5 EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA	215
9.6 EVALUACIÓN DE LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO	222
9.7 CONSIDERACIONES FINALES	228
10. CONCLUSIONES	238
11. ANEXOS	240
ANEXO I	241
ANEXO II	254
ANEXO III	256
ANEXO IV	257
ANEXO V	260
ANEXO VI	261
ANEXO VII	269
12. BIBLIOGRAFÍA	274

1. AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis, Dr. Francisco Valladares Parrilla y Dr. Jesús Villar Hernández. En el momento en que decidí empezar con el desarrollo de esta tesis doctoral, no pensé que llegase a aprender tanto de ellos. Su amor incondicional a la ciencia, su entrega y disponibilidad continua los honra como personas. Es un privilegio haber trabajado con ustedes. Gracias.

A la Unidad de Investigación del Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín que me brindó todas las facilidades para desarrollar esta tesis doctoral. En especial, dentro de esa Unidad, al Dr. José Luis Martín Barrasa por enseñarme todo lo que hay que saber sobre la disección de pequeños animales. Estoy en deuda contigo amigo. Y a Dña. Ángela Ramos Nuez, técnico de laboratorio, por su profesionalidad en la gestión de las muestras extraídas.

A la Dra. Raquel Rodríguez González, por aclararme dudas sobre determinadas cuestiones de esta investigación. Gracias por responder a mis correos electrónicos y animarme a seguir.

Al Servicio de Anestesiología y Reanimación del Hospital Universitario Ntra. Sra. de Candelaria (HUNSC), por su apoyo incondicional y estar a mi lado cuando más los he necesitado. Es mi segunda casa y, en ocasiones, hasta la primera.

A mis compañeros del grupo de guardia de Anestesiología del HUNSC, los doctores Nieves Álvarez Díaz, Rubén Sangüesa Molina, Miguel A. Díaz Fuentes, José Luis López Albert y Raúl Hernández Bisshopp, por todos los momentos que hemos vivido durante tantos años y que nos han convertido en una pequeña familia.

Al Dr. Miguel A. Díaz Fuentes y al Dr. Fernando Azcunaga Rodríguez (*in memoriam*), con los que empecé mi andadura hospitalaria hace 18 años. Sin vuestra presencia todo hubiera sido más difícil.

A la Dra. Lina Pérez Méndez, excelente persona y que continuamente transmite su actitud positiva, por su ayuda en el análisis estadístico.

A la Dra. Noemí Domínguez García, mi hermana, que siempre ha estado a mi lado y me ha ayudado en los malos momentos (*the only way is up*).

A mis padres, decirles que todo lo que he alcanzado en esta vida es gracias a ellos, a su esfuerzo y trabajo desde que era pequeño para que entendiese que la educación es la columna vertebral de una sociedad. Gracias por su dedicación en mi aprendizaje y a la confianza que siempre tuvieron en mí. Son un ejemplo de honradez, valores y trabajo. Siempre recordaré, en mi etapa escolar, cuando mi padre llegaba a las diez de la noche de trabajar y, delante de una pizarra Velleda, repasaba conmigo la tarea que me habían mandado en el colegio, mientras mi madre, con el cansancio acumulado de todo un día, esperaba para cenar con él.

A mi mujer, Pepa, a la que le digo todos los días que la quiero y creo siempre que me quedo corto. Estar a tu lado es lo único que me importa. Vaivén siempre.

A mi hijo Sergio, al que adoro por encima de cualquier cosa en este mundo. Recuerda que la única forma de conseguir algo en esta vida es con trabajo, esfuerzo y estudio. No hay otro camino. No te rindas nunca ante las dificultades que te ponga la vida. Te quiero y estoy muy orgulloso de ti.

Decía el poeta griego Kavafis: “*Cuando emprendas tu viaje a Ítaca pide que el camino sea largo, lleno de aventuras, lleno de experiencias, no temas a los lestrigones ni a los cíclopes, ni al colérico Poseidón*”. Por desgracia, durante el transcurso de esta tesis doctoral he tenido que enfrentarme a esos seres antropófagos y luchado contra los gigantes de un solo ojo. Y los he temido. Por fortuna, los he vencido.

2. LISTADO DE FOTOS, FIGURAS, GRÁFICAS Y TABLAS

En la presente tesis doctoral, las fotos, figuras, gráficas y tablas se nombrarán según el apartado en el que se encuentren. De esta forma, para aquellas que estén en la introducción se antepondrá, al número correspondiente, la letra I, en material y métodos las letras MM y en resultados la letra R.

A continuación, presentamos estos elementos según el orden que aparecen en el texto en cada uno de los apartados correspondientes.

INTRODUCCIÓN

Foto I1. Björg Ibsen.

Figura I1. Equipo utilizado para la ventilación manual durante la epidemia de polio de 1952.

Foto I2. Paciente ventilada manualmente.

Figura I2. Paracelso

Figura I3. Andrea Vesalio

Figura I4. Aparato de Fell-O'Dwyer

Foto I3. Rudolph Matas (1860-1957)

Foto I4. Pulmotor

Foto I5. Pulmón de acero

Foto I6. Ventilación a presión negativa "multipersona"

Foto I7. Respirador Engström

Foto I8. Respirador Emerson post-op.

Foto I9. Respirador BIRD 7.

Foto I10. Respirador Puritan-Bennet PR-2.

Foto I11. Servo 900c (Siemens)

Foto I12. Puritan-Bennet 7200

Foto I13. Evita 4 (Dräger)

Foto I14. Hamilton-Galileo G-5

Foto I15. Ventilación controlada por volumen.

Foto I16. Ventilación controlada por presión.

Figura I5. Esquema de la división funcional del aparato respiratorio.

Figura I6. Esquema de la porción respiratoria pulmonar.

Foto I17. Bronquiolo teñido con hematoxilina-eosina

Foto I18. Bronquiolo respiratorio teñido con hematoxilina-eosina

Foto I19. Células de Clara o células club teñidas con hematoxilina-eosina

Foto I20. Poro de Kohn teñido con hematoxilina-eosina

Foto I21. Conductos y sacos alveolares teñidos con Tricrómico de Masson.

Foto I22. Alvéolo teñido con hematoxilina-eosina.

Foto I23. Alvéolo teñido con hematoxilina-eosina.

Foto I24. Pared alveolar con neumocitos I y II.

Foto I25. Macrófagos intersticiales cargados con pigmento antracótico.

Figura I7. Detalle de la barrera respiratoria.

Foto I26. Pleura parietal con mesotelio y visceral teñida con hematoxilina-eosina.

Figura I8. Distribución temporal de los trastornos histológicos en la lesión pulmonar aguda.

Foto I27. Membranas hialinas con tinción de PAS.

Foto I28. Fibrosis vista con tinción de Masson-Goldner.

Tabla 1. Criterios clínicos de SDRA según Conferencia de Consenso Americana-Europea de 1994.

Tabla 2. Definición de Berlín de SDRA.

Tabla 3. Criterios histológicos de SDRA.

Gráficas I1, I2, I3. Los efectos de varias modalidades de ventilación a presión positiva en ratas.

Gráfica I4. Efecto de limitar la expansión torácica por medio de un yeso en el tórax sobre el desarrollo de VILI en conejos.

Gráfica I5. Efecto de diferentes estrategias ventilatorias sobre la producción de citoquinas

Gráfica I6. Curva Presión-Volumen.

Gráfica I7. Porcentaje de reducción de la IL-6 e IL-8 según volumen tidal empleado.

Figura I9. Modelo de lesión pulmonar.

Figuras I10, I11, I12. Desde el atelectrauma y la sobredistensión alveolar al biotrauma.

Figura I13. La reducción del oxígeno a agua catalizada por 2 sistemas enzimáticos antioxidantes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Foto MM1. Plano cenital del respirador utilizado.

Foto MM2. Analizador de oxígeno.

Foto MM3. Visualización de la tráquea del animal de experimentación.

Foto MM4. Preparación de la tráquea para la incisión.

Foto MM5. Inserción de la cánula traqueal.

Foto MM6. Traqueotomía realizada y fijada a piel.

Tabla MM1. Recogida de los datos de monitorización intraoperatoria.

Foto MM7. Monitorización del animal.

Foto MM8. Monitorización y colocación en la mesa de trabajo.

Foto MM9. Colocación de los animales en quirófano.

Foto MM10. Control de la temperatura con termómetro rectal.

Foto MM11. Localización de la aorta.

Foto MM12. Apertura del diafragma y punción ventricular.

Foto MM13. Esternotomía para la extracción pulmonar.

Foto MM14. Instilación transtraqueal de formol al 10% en el pulmón derecho.

Foto MM15. Tubos identificados en donde fijábamos las muestras del pulmón derecho en formol.

Foto MM16. Identificación del pulmón izquierdo.

Foto MM17. Corte del lóbulo superior para el cálculo de la relación peso húmedo/seco.

Foto MM18. Balanza con el tubo de Eppendorf en su interior.

Foto MM19. Estufa en la que se mantenían las muestras del lóbulo superior del pulmón izquierdo durante 72 horas.

Foto MM20. Inspirómetro con el que ajustábamos la FiO_2 y disposición en quirófano.

Tabla MM2. Recogida de datos de los parámetros histológicos a estudio.

Tabla MM3. Tabla que utilizamos para categorizar el daño histológico en cada uno de los animales estudiados.

Tabla MM4. Escala modificada por Hübner y cols. para la valoración de la fibrosis alveolar.

Tabla MM5: Tabla que utilizamos para categorizar los cambios fibróticos en cada uno de los animales estudiados.

Foto MM21. Gasómetro empleado.

Tabla MM6. Recogida de datos gasométricos.

RESULTADOS

Tabla R1. Distribución de la monitorización intraoperatoria entre los grupos.

Gráfico R1. Distribución del peso (en gramos) entre los grupos.

Gráfico R2. Distribución del volumen corriente (*tidal*) en ml entre los grupos.

Gráfico R3. Distribución de la frecuencia cardiaca basal (lpm) entre los grupos.

Gráfico R4. Distribución de la frecuencia cardiaca a los 60 minutos (lpm) entre los grupos.

Gráfico R5. Distribución de la frecuencia cardiaca a los 120 minutos (lpm) entre los grupos.

Gráfico R6. Distribución de la frecuencia cardiaca a los 180 minutos (lpm) entre los grupos.

Gráfico R7. Distribución de la frecuencia cardiaca a los 240 minutos (lpm) entre los grupos.

Gráfico R8. Distribución de las medias de la temperatura (°C) a lo largo del tiempo.

Gráfico R9. Distribución de las medias de la presión pico (cmH₂O) a lo largo del tiempo.

Gráfico R10. Distribución de las medias de la distensibilidad pulmonar (ml/cmH₂O) a lo largo del tiempo.

Gráfico R11. Distribución de las medias de la saturación periférica de oxígeno (%) a lo largo del tiempo.

Tabla R2. Distribución de las gasometrías arteriales entre los grupos.

Gráfico R12. Distribución del pH entre los grupos.

Gráfico R13. Distribución de PaCO₂ (mmHg) entre los grupos.

Gráfico R14. Distribución de PaO₂ (mmHg) entre los grupos.

Gráfico R15. Distribución de HCO₃⁻ (mmol/L) entre los grupos.

Tabla R3. Distribución del índice *wet/dry* (pulmón húmedo/pulmón seco) entre los grupos.

Gráfico R16. Distribución del índice *wet/dry* entre los grupos.

Gráfico R17. Distribución de la IL-10 en el pulmón entre los grupos.

Gráfico R18. Distribución de la IL-10 en suero entre los grupos.

Gráfico R19. Distribución de la IL-6 en el pulmón entre los grupos.

Gráfico R20. Distribución de TNF- α en suero entre los grupos.

Tabla R4. Distribución de las especies reactivas de oxígeno en suero entre los grupos.

Tabla R5. Distribución de las especies reactivas de oxígeno en pulmón entre los grupos.

Gráfico R21. Distribución de las especies reactivas de oxígeno (ROS) en suero entre los grupos.

Gráfico R22. Distribución de ROS en pulmón entre los grupos.

Tabla R6. Parámetros histológicos utilizados para estudiar el daño pulmonar.

Tabla R7. Daño en los septos alveolares según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas.

Tabla R8. Porcentaje de afectación de los septos alveolares según los distintos grupos de ratas ventiladas

Tabla R9. Distribución del grado de afectación de los septos alveolares

Gráfico R23. Distribución del porcentaje de afectación de los septos alveolares entre los grupos.

Tabla R10. Presencia de hemorragias alveolares según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas.

Tabla R11. Porcentaje de presencia de hemorragias alveolares según los distintos grupos de ratas ventiladas.

Tabla R12. Distribución del grado de presencia de hemorragias alveolares.

Gráfico R24. Distribución del porcentaje de hemorragias alveolares entre los grupos.

Tabla R13. Presencia de fibrina intraalveolar según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas.

Tabla R14. Porcentaje de presencia de fibrina intraalveolar según los distintos grupos de ratas ventiladas.

Gráfico R25. Distribución del porcentaje de aparición de fibrina intraalveolar entre los grupos.

Tabla R15. Distribución del grado de presencia de fibrina intraalveolar.

Tabla R16. Presencia de infiltrados intraalveolares según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas.

Tabla R17. Porcentaje de presencia de infiltrados intraalveolares según los distintos grupos de ratas ventiladas.

Gráfico R26. Distribución del porcentaje de infiltrados intraalveolares entre los grupos.

Tabla R18. Distribución del grado de presencia de infiltrados intraalveolares.

Tabla R19. Patrón histológico global según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas.

Tabla R20. Patrón histológico global estimado como porcentaje según los distintos grupos de ratas ventiladas.

Tabla R21. Categorización del patrón histológico global.

Gráfico R27. Distribución del porcentaje de afectación histológica global entre los grupos.

Tabla R22. Escala modificada por Hübner y cols. que utilizamos para el estudio de la fibrosis pulmonar.

Tabla R23. Cambios fibróticos según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas.

Tabla R24. Cambios fibróticos estimados como tanto por mil según los distintos grupos de ratas ventiladas.

Gráfico R28. Distribución del grado de fibrosis entre los grupos.

Foto R1. Alvéolos, sacos alveolares y vasos sanguíneos. Masson-Goldner. FiO_2 0,21.

Foto R2. Elementos celulares inflamatorios y áreas de edema perivascular. Hematoxilina-eosina. FiO_2 0,21.

Foto R3. Macrófagos. Mieloperoxidasa. FiO_2 0,21.

Foto R4. Infiltrados inflamatorios. Hematoxilina-eosina. FiO_2 0,21.

Foto R5 y R6. Neumocitos II. TTF-1. FiO_2 0,21.

Foto R7. Revestimiento pleural. TTF-1. FiO_2 0,21.

Foto R8. Bronquio. Hematoxilina-eosina. FiO_2 0,21.

Foto R9. Bronquiolo. Hematoxilina-eosina. FiO_2 0,21.

Foto R10. Edema perivascular. Masson-Goldner. FiO_2 0,4.

Foto R11. Acúmulos fibróticos. Masson-Goldner. FiO_2 0,4.

Foto R12 y R13. Infiltrados inflamatorios. Hematoxilina-eosina. FiO_2 0,4.

Foto R14. Hemorragias alveolares leves. Hematoxilina-eosina. FiO_2 0,4.

Foto R15. Fibrosis. Masson-Goldner.

Foto R16 y R17. Neumocitos II. TTF-1. FiO_2 0,4.

Foto R18. Bronquiolos, alvéolos, sacos alveolares y neumocitos II. TTF-1. FiO_2 0,4.

Foto R19. Edema perivascular. Hematoxilina-eosina. FiO_2 0,6.

Foto R20 y R21. Atelectasias. Hematoxilina-eosina. FiO_2 0,6.

Foto R22. Hemorragias alveolares. Hematoxilina-eosina. FiO₂ 0,6.

Foto R23 y R24. Infiltrados inflamatorios intersticiales. Hematoxilina-eosina. FiO₂ 0,6.

Foto R25 y R26. Neumocitos II. TTF-1. FiO₂ 0,6.

Foto R27 y R28. Fibrosis alveolar. Masson-Goldner. FiO₂ 0,6.

Foto R29. Edema perivascular. Hematoxilina-eosina. FiO₂ 1.

Foto R30. Hemorragias alveolares. Masson-Goldner. FiO₂ 1.

Foto R31. Fenómenos inflamatorios. Masson-Goldner. FiO₂ 1.

Foto R32. Macrófagos en la periferia vascular. Hematoxilina-eosina. FiO₂ 1.

Foto R33 y R34. Macrófagos alveolares. MPx. FiO₂ 1.

Foto R35. Fibrosis. Masson-Goldner. FiO₂ 1.

Foto R36. Atelectasias. Hematoxilina-eosina. FiO₂ 1.

Foto R37, R38, R39 y R 40. Neumocitos II. TTF-1. FiO₂ 1.

3. ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AP: Altas presiones

ARDS (*Acute Respiratory Distress Syndrome*): Síndrome de distress respiratorio agudo

AV: Altos volúmenes

BAL (*Bronchoalveolar Lavage*): Lavado broncoalveolar

BP: Bajas presiones

BV: Bajos volúmenes

C: Distensibilidad toracopulmonar

°C: Grados Celsius

cmH₂O: Centímetros de agua

CO₂: Dióxido de carbono

CPAP (*Continuous Positive Airway Pressure*): Presión positiva continua en la vía aérea

CRF: Capacidad residual funcional

Curva P-V: Curva presión-volumen

DAD: Daño alveolar difuso

DE: Desviación estándar

DPPC: Dipalmitoilfosfatidilcolina

ELISA (*Enzimed-Link ImmunoSorbent Assay*): Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas

EVLW (*ExtraVascular Lung Water*): Agua extravascular pulmonar

F: Flujo inspiratorio

FC basal: Frecuencia cardiaca basal

FC 60MIN: Frecuencia cardiaca a los 60 minutos

FC 120MIN: Frecuencia cardiaca a los 120 minutos

FC 180MIN: Frecuencia cardiaca a los 180 minutos

FC 240MIN: Frecuencia cardiaca a los 240 minutos

FiO₂: Fracción inspirada de oxígeno

gr: Gramos

h: Horas

HALI (*Hyperoxic Acute Lung Injury*): Lesión pulmonar asociada a la hiperoxia

HCO₃⁻: Bicarbonato

HE: Hematoxilina-eosina

HVZP (*High Volume and Zero PEEP*): Alto Volumen *tidal* y sin PEEP

IC: Intervalo de confianza

IFN: Interferón

IL: Interleuquina

i.p.: intraperitoneal

Kg: Kilogramo

LPA: Lesión pulmonar aguda

lpm.: Latidos por minuto

m²: Metro cuadrado

MA: Massachussetts

MIP: Proteína inflamatoria de los macrófagos

µm: Micra

mmHg: Milímetros de mercurio

ml: Mililitros

MPx: Mieloperoxidasa

MVHP (*Moderate Volume and High PEEP*): Moderado Volumen *tidal* y PEEP alta

MVZP (*Moderate Volume and Zero PEEP*): Moderado Volumen *tidal* y sin PEEP

NF-κB (*Nuclear Factor Kappa-light chain enhancer of activates B cells*): Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas

nM: Nanómetro

NO: Óxido nítrico

O₂: Oxígeno

PaO₂/FiO₂: Relación entre la presión parcial de oxígeno y la fracción inspiratoria de oxígeno

PAS: Ácido peryódico

PE: Propiedades elásticas

PEEP (*Positive End-Expiratory Pressure*): Presión positiva al final de la espiración

PI: Presión de insuflación

PII: Punto de inflexión inferior

PIP: Presión inspiratoria pico

PIS: Punto de inflexión superior

PMC: Punto de máxima curvatura

PMN: Polimorfonucleares

Pmus: Presión generada por los músculos respiratorios

PaCO₂: Presión parcial de dióxido de carbono

PaO₂: Presión parcial de oxígeno

Ppico: Presión pico de la vía aérea

Pplat: Presión plateau

PR: Propiedades resistivas

Pvent: Presión generada por el ventilador

R: Resistencia en la vía aérea

ROS (*Reactive Oxygen Species*): Especies reactivas del oxígeno

rpm.: Respiraciones por minuto

Rx. de tórax: Radiografía de tórax

SatO₂: Saturación periférica de oxígeno

SIMV: Ventilación mandatoria intermitente sincronizada

SDRA: Síndrome de distress respiratorio agudo

Sig: Significación estadística

SOD: Superóxido dismutasa

TAC: Tomografía axial computarizada

TNF: Factor de necrosis tumoral

TTF-1: Factor de transcripción tiroideo

Tx: Texas

UK (*United Kingdom*): Reino Unido

USA (*United States of America*): Estados Unidos de América

VALI (*Ventilador Associated Lung Injury*): Lesión pulmonar asociada a la ventilación mecánica

VILI (*Ventilator Induced Lung Injury*): Lesión pulmonar inducida por la ventilación mecánica

VM: Ventilación mecánica

VT: Volumen *tidal* o volumen corriente

W/D: Wet/Dry

4. INTRODUCCIÓN

4.1 BREVE HISTORIA DE LA VENTILACIÓN MECÁNICA MODERNA

“¡No quisiera dramatizar sobre cómo estaban las cosas a mediados de agosto de 1952, pero realmente estábamos desesperados! Casi todos nuestros pacientes con poliomielitis bulbar fallecían.”

Esta sentencia de HC Lassen (Lassen 1953) refleja con mucho acierto la situación vivida en Dinamarca durante la epidemia de poliomielitis de 1952 que contaba con unas cifras de mortalidad en torno al 85% de los pacientes. Por esta razón, Lassen decide ponerse en contacto con Björn Ibsen, anestesiólogo del Hospital de Blegdam quien, gracias a sus conocimientos sobre ventilación mecánica con presión positiva, práctica empleada en aquella época solo en los quirófanos, comienza a aplicarla a los pacientes con poliomielitis. Este hecho podemos considerarlo como uno de los numerosos hitos dentro de la historia universal de la medicina, a la par que ilustra cómo la unión de métodos no convencionales (para la época) y soluciones tomadas de forma improvisada, justificadas solo por los acontecimientos, pueden cambiar el curso de la historia.

El 27 de agosto de 1952, Ibsen (Foto I1) puso en práctica sus habilidades clínicas en la paciente Vivi E, una niña de 12 años con fallo respiratorio grave a la que ventiló a través de una traqueotomía por la que no introdujo una cánula, sino un tubo endotraqueal con neumotaponamiento. Empleó un sistema manual (Figura I1) porque no tenía claro que los circuitos respiratorios suministraran la suficiente ventilación. Regularmente aspiraba las secreciones respiratorias de la paciente y, ocasionalmente, la sedaba para revertir los cuadros de broncospasmo. Ibsen continuó ventilando manualmente a la niña hasta que, finalmente se recuperó (Ibsen 1954).



Foto I1. Björg Ibsen.

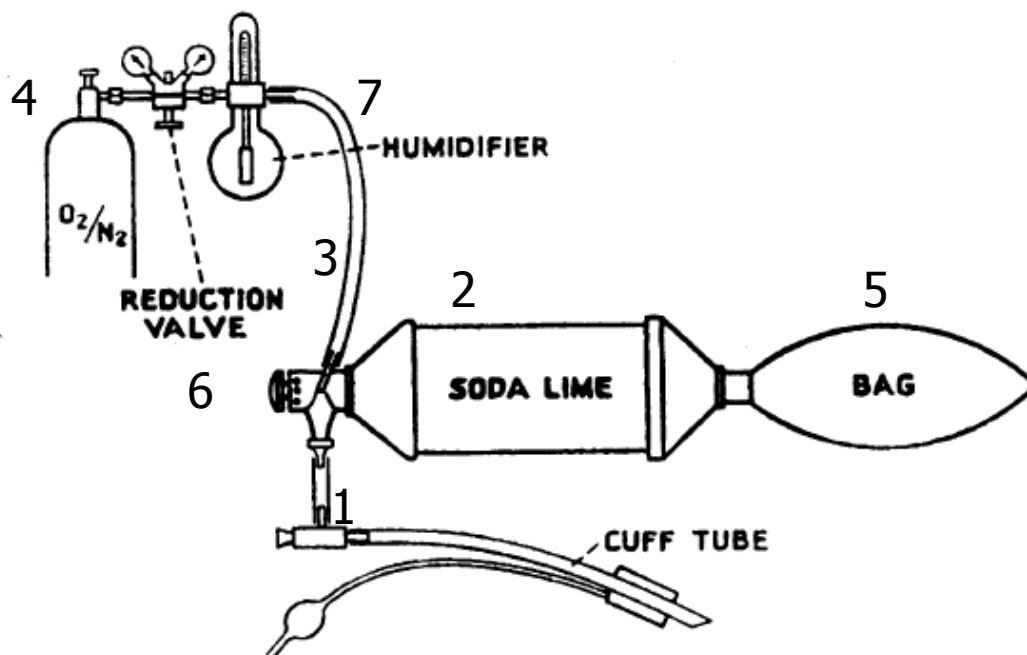


Figura I1. Equipo utilizado para la ventilación manual. La parte superior del tubo endotraqueal, tiene un brazo lateral (1) conectado a un contenedor con cal sodada (canister de Waters) (2) desde el cual un tubo de goma (3) conecta con una bombona que contiene partes iguales de oxígeno y nitrógeno (4). Una bolsa de goma está situada al final del canister (5) y una válvula en el otro extremo para permitir regular la presión del sistema (6). Un humidificador es importante para disminuir la densidad de las secreciones (7).

A partir de ese momento, debido al número de pacientes afectados en esta epidemia y para permitir la ventilación de los enfermos, se recluta, entre estudiantes de medicina y enfermeras, a más de 1500 personas, quienes día y noche asisten manualmente a los pacientes (Foto I2). Durante la primavera de 1953, ventilaron a más de 250 pacientes durante más de 165.000 horas. El método ideado por Ibsen redujo la mortalidad para situarla por debajo del 15%. Esta fue la primera vez en que la ventilación mecánica se utilizó para pacientes fuera de quirófano. Según palabras de Ibsen, *“lo que hicimos fue solo aplicar los principios y técnicas que utilizábamos en quirófano para las enfermedades médicas”* (Berthelsen y cols. 2003).



Foto I2. Paciente ventilada manualmente con el sistema mostrado en la figura I1.

Cuatro siglos antes de estos hechos, podemos encontrar los primeros experimentos en ventilación mecánica realizados por Paracelso (1493-1541. Figura I2) y por Andrea Vesalio (1514-1564. Figura I3). El primero, en la que se considera la primera experiencia con ventilación mecánica, intentó reanimar a un paciente colocando un tubo en la boca e insuflando aire a través de él (Davis y cols. 2000). El segundo, introdujo aire con un fuelle dentro de la tráquea de un perro y llegó a la conclusión de

que “*la vida puede ser restaurada al animal, efectuando una apertura en la tráquea, colocando un tubo de junco o mimbre, e insuflando en él, para que los pulmones puedan levantarse nuevamente y tomar aire*” (Vesalius 1543).



Figura I2. Paracelso.



Figura I3. Andrea Vesalio.

Los siglos posteriores fueron dedicados a la experimentación de esta técnica en animales, destacando al británico Robert Hooke (Hooke 1667) y posteriormente a los fisiólogos J. Hunter y C. Kite (1776 y 1779).

En 1827, Leroyd'Etoile, utilizó la ventilación a través de fuelles para tratar a víctimas de ahogamiento. Sin embargo, tras describirse una alta tasa de neumotórax a tensión al emplear esta técnica, el entusiasmo inicial fue sustituido por un largo silencio (Lee W y cols.2001).

No será hasta la segunda mitad del siglo XIX cuando el pediatra norteamericano Joseph O'Dwyer y el cirujano George Fell inventaran lo que podría considerarse como el primer ventilador a presión positiva, el cual, accionado con el pie (Figura I4), permitió

realizar numerosas intervenciones quirúrgicas en los años sucesivos (Goerig y cols. 1988), como las realizadas por el cirujano torácico Rudolph Matas (Foto I3), de origen catalán pero afincado en Nueva Orleans, en las que además utilizó la intubación endotraqueal realizada con palpación (Matas 1902).

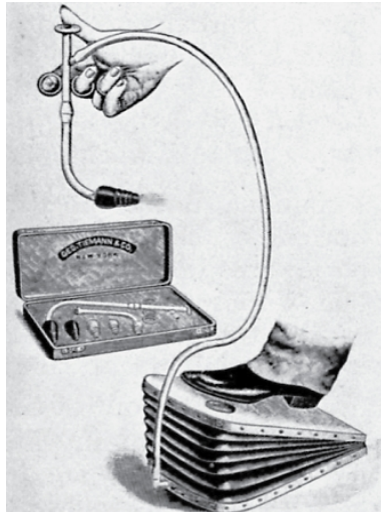


Figura I4. Aparato de Fell-O'Dwyer.

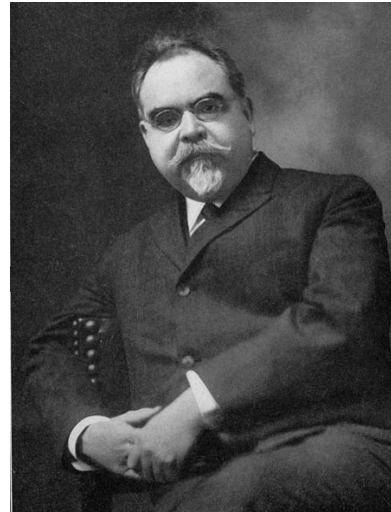


Foto I3. Rudolph Matas (1860-1957).

Estos experimentos y primeros usos de la presión positiva sirvieron para que Heinrich Dräger (1847-1917) crease el que probablemente sea el primer aparato que generaba ventilación positiva, el Pulmotor (Foto I4). En esas fechas estaban también en circulación un tipo de ventiladores a presión negativa que posibilitaban la ventilación, como el denominado “pulmón de acero” (Foto I5) desarrollado en 1928 por Philip Dinker (1894-1972), que fue ampliamente utilizado en EEUU durante las epidemias de poliomielitis de la década de los años 40 del siglo XX (Dinker y cols. 1928). En el “pulmón de acero”, para facilitar la respiración, la cabeza del paciente quedaba fuera del aparato y se podía aplicar sobre el cuerpo y de forma intermitente, presiones negativas. Sin embargo, estos aparatos tenían muchas dificultades para utilizarse, a pesar de que se aplicaron a miles de personas, e incluso se desarrollaron variantes que permitían ventilar a varios pacientes a la vez (Foto I6). Dentro de los aspectos negativos que podemos

destacar está su dificultad para el traslado y el acceso a todos los pacientes, la dificultad para evitar fugas aéreas, el enfriamiento de la superficie corporal y la incapacidad para generar altas presiones.

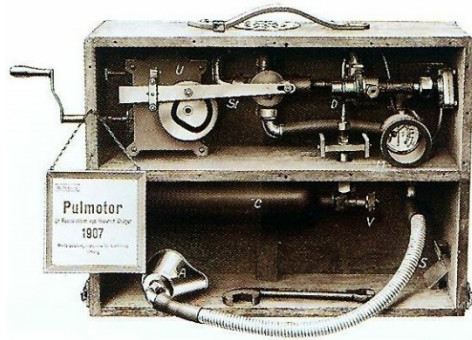


Foto I4. Pulmotor.

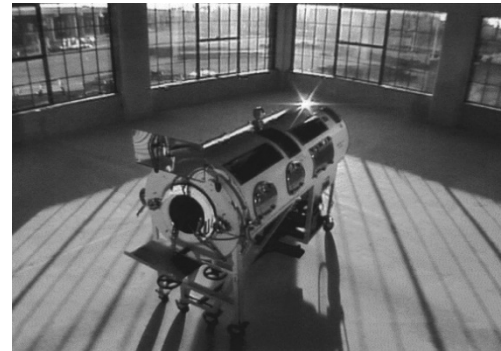


Foto I5. Pulmón de acero.



Foto I6. Ventilación a presión negativa "multipersona". Hospital infantil de Boston. Años 50.

Por lo tanto, en la época a la que nos referimos, se podían diferenciar dos grandes escenarios en cuanto a usos de la ventilación mecánica se refiere: uno de ellos, en quirófano, en donde se utilizaba la ventilación a presión positiva, y el otro, utilizado sobre todo en pacientes con patologías médicas, en las que se utilizaba la ventilación con presión negativa. Fue en la epidemia de poliomielitis que tuvo lugar en Copenhague, y a la que nos referimos anteriormente, cuando se decide abandonar, por sus malos resultados, el "pulmón de acero" y comenzar con la ventilación con presión positiva en

otro entorno distinto al quirúrgico. A partir de este momento y con los resultados conseguidos por Ibsen, se puede decir que el empleo de respiradores con presión positiva se generalizó y se utilizó para todos los pacientes, estuvieran o no en quirófano.

La carencia de respiradores sirvió de estímulo a la industria y, en 1953, Engström construyó un primer respirador capaz de proporcionar volúmenes predeterminados. En este primer respirador Engström (Foto 17), un émbolo movido por un motor eléctrico producía una presión positiva sobre una cámara, quedando completamente comprimida la bolsa ventilatoria existente en la misma; esta bolsa era la que suministraba la ventilación al paciente; en la espiración se producía el retroceso del pistón rellenándose nuevamente la bolsa con el suministro de gases programado; la válvula espiratoria del respirador se mantenía cerrada durante la inspiración, mediante una derivación del circuito del pistón.

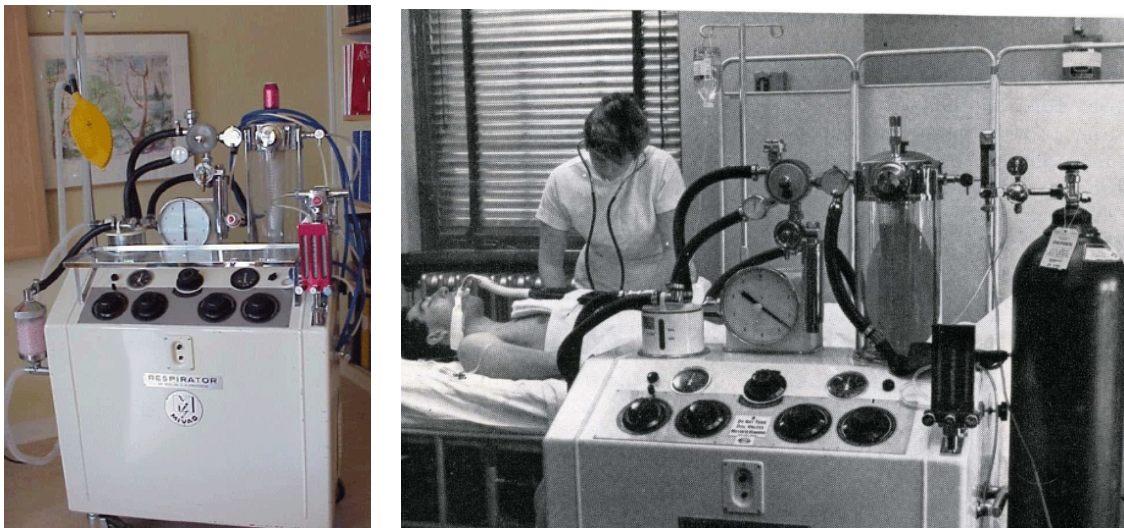


Foto 17. Respirador Engström y paciente ventilado con este respirador.

Esto fue seguido de la aparición de nuevos modelos de respiradores a presión positiva, tanto ciclados por presión como por volumen. Dentro de los "volumétricos", además del Engström, alcanzaron difusión los respiradores como el Emerson post-op

(Foto I8). Pero junto a los volumétricos también se popularizaron los respiradores "de presión", destacando entre estos el respirador Bird (Foto I9) y el Bennett PR-2 (Foto I10). Este tipo de respiradores, menos complejos, funcionaban a base de gas comprimido, bombona o conducción general del hospital, con el inconveniente de lo inconstante del volumen entregado (volumen corriente o volumen *tidal*), pues este iba a depender, para una presión prefijada, de la distensibilidad pulmonar y de las variaciones de la resistencia de la vía aérea; muchas veces solían aplicarse de forma no invasiva, mediante mascarilla facial.



Fotos I8, I9 y I10. Respirador Emerson post-op (izda.), BIRD 7 (centro) y Puritan-Bennet PR-2 (dcha.).

Los respiradores fueron evolucionando, mejorando en lo que a prestaciones se refiere, introduciéndose nuevas modalidades de ventilación para mejorar la interacción con los esfuerzos inspiratorios del paciente, facilitando el proceso de desconexión, monitorizando la mecánica respiratoria o permitiendo establecer alarmas.

En este sentido podemos diferenciar, hasta el momento, cinco generaciones de respiradores: (i) los de primera generación, hasta mediados de los años 70, son los mostrados hasta ahora; (ii) los de segunda generación (Foto I11), hasta principios de los 80; (iii) los de tercera generación (Foto I12), hasta finales de los años 90; (iv) los de cuarta generación hasta mediados de los 2000 (Foto I13); y (v) los de quinta generación, con el nacimiento de lo que podemos considerar la ventilación mecánica inteligente (utilización de señales neuronales en la ventilación, control del destete, etc.) (Foto I14).



Foto I11. Servo 900c (Siemens): 2ª generación. **Foto I12.** Puritan-Bennet 7200: 3ª generación.



Foto I13. Evita 4 (Dräger): 4ª generación. **Foto I14.** Hamilton-Galileo G-5: 5ª generación.

Gracias a la mejora técnica alcanzada con las sucesivas generaciones de respiradores, la ventilación mecánica se ha convertido en una técnica de uso universal y de empleo no solo en quirófano, unidades de cuidados intensivos, en los Servicios de Urgencias, en situaciones de desastres bélicos o naturales, o para transportar pacientes graves, sino también en plantas de hospitalización de neumología y en el domicilio, gracias a los nuevos respiradores de ventilación no invasiva.

4.2 OBJETIVOS DE LA VENTILACIÓN MECÁNICA

La ventilación mecánica (VM) es una herramienta básica en el tratamiento del paciente crítico y también es un elemento imprescindible durante la anestesia general. El objetivo de la ventilación mecánica es el de apoyar y controlar el intercambio gaseoso, aumentar el volumen pulmonar y disminuir el trabajo de los músculos respiratorios.

La principal indicación clínica de la ventilación mecánica es la insuficiencia respiratoria aguda, la reagudización de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la asistencia respiratoria de pacientes en coma y el soporte ventilatorio de pacientes con enfermedades neuromusculares. Dentro de las posibles causas de insuficiencia respiratoria aguda que pueden hacer necesaria la conexión de un paciente a la ventilación mecánica, se encuentra el síndrome de distress respiratorio agudo (SDRA), la neumonía comunitaria y nosocomial, la insuficiencia cardíaca congestiva, la sepsis, el trauma o las complicaciones derivadas de intervenciones quirúrgicas.

Por lo tanto, los objetivos de la ventilación mecánica deben ser planteados desde una vertiente fisiológica y clínica (Slutsky 1993).

4.2.1 OBJETIVOS FISIOLÓGICOS:

Apoyar y controlar el intercambio gaseoso

1) Ventilación alveolar: En la mayoría de las modalidades ventilatorias, el objetivo es normalizar la ventilación alveolar, aunque en ciertas entidades clínicas el principal objetivo es generar una ventilación alveolar mayor de la normal (como la hiperventilación deliberada cuando se utiliza en el caso de la hipertensión intracraneal) o menor de la normal (como la hipercapnia permisiva en el SDRA).

2) Oxigenación arterial: Un objetivo fundamental de la ventilación mecánica es el de alcanzar y mantener la oxigenación arterial empleando una concentración inspiratoria de oxígeno determinada. Es aceptable mantener una saturación de oxígeno medida por

pulsioximetría por encima del 90% (lo que equivale, aproximadamente, a una PaO₂ mayor de 60 mmHg). No hay evidencias clínicas de que una PaO₂ mayor de la normal sea ventajosa, siendo por el contrario perjudicial, como veremos más adelante, acuñándose el término de lesión pulmonar aguda inducida por hiperoxia (Kallet y cols. 2013).

Incrementar el volumen pulmonar

1) Insuflación pulmonar tele-inspiratoria: Para conseguir la suficiente expansión pulmonar, con cada respiración pautada, con el objetivo de prevenir o tratar las atelectasias.

2) Capacidad residual funcional (CRF): Para alcanzar y mantener una CRF elevada mediante la aplicación de PEEP (presión positiva al final de la espiración) en aquellas situaciones en las que la reducción de la CRF puede ser perjudicial (como en el caso de los pacientes con SDRA).

Reducir el trabajo respiratorio

Descargando la musculatura respiratoria con el propósito de reducir el trabajo respiratorio en aquellos pacientes con ventilación espontánea en los que, ya sea por elevación en las presiones de la vía aérea o por disminución en la distensibilidad pulmonar, la demanda respiratoria sea elevada.

4.2.2 OBJETIVOS CLÍNICOS:

1) Revertir la hipoxemia: Ya sea por medio de un aumento de la ventilación alveolar, del volumen pulmonar, disminuyendo el consumo de oxígeno o tomando otras medidas con el objetivo de revertir la hipoxia tisular

2) Revertir la acidosis respiratoria aguda: Más que para alcanzar unos niveles normales de PaCO₂, el objetivo se establece para corregir de manera rápida una acidosis respiratoria que pueda amenazar la vida del paciente.

4.2.3 OTROS OBJETIVOS:

Además de los anteriores, la ventilación mecánica es útil para prevenir o resolver las atelectasias originadas por múltiples motivos, ya sean quirúrgicos o no, para permitir la sedación y/o relajación neuromuscular en determinadas circunstancias clínicas, para disminuir el consumo miocárdico de oxígeno, para reducir la presión intracraneal o para estabilizar la pared torácica en aquellas circunstancias en las que se pierde su integridad y de esta forma permitir la expansión pulmonar.

4.3 VENTILACIÓN MECÁNICA CONTROLADA

La ventilación mecánica controlada o ventilación con presión positiva es un modo ventilatorio en el que no interviene el esfuerzo del paciente, siendo el respirador el que realiza el trabajo ventilatorio. La eficacia de la ventilación y el riesgo de aparición de complicaciones dependerán de cómo se programen los parámetros ventilatorios y de las características de los pacientes.

4.3.1 GRADIENTES DE PRESIÓN

La ventilación intermitente a presión positiva se basa en aplicar en la vía aérea un dispositivo capaz de generar presión positiva para crear el flujo de gas y suministrar el volumen *tidal* deseado. El movimiento de gas durante la ventilación viene determinado según el gradiente de presión existente entre dos puntos: la vía aérea superior y el interior del tórax. Durante la fase inspiratoria de la ventilación mecánica controlada, el respirador genera una presión positiva respecto a la intratorácica, creando un flujo de gas hacia el tórax. La llegada del gas al interior del sistema respiratorio produce un aumento del volumen pulmonar por encima de su nivel de reposo, causando un aumento de la presión intratorácica. Cuando al final de la fase inspiratoria se abre la válvula espiratoria, la presión en el circuito del respirador cae de forma brusca hasta el nivel de la presión atmosférica, o de la PEEP empleada, creándose un nuevo gradiente de presión, siendo en este momento mayor la presión intratorácica que la presión del circuito, generando un flujo espiratorio que se mantendrá hasta que se equiparen las presiones una vez finalice el vaciamiento pulmonar (Llorens y cols. 1999).

El volumen *tidal* (circulante o corriente) será la cantidad de aire transportada en cada respiración.

4.3.2 ECUACIÓN DE MOVIMIENTO DEL SISTEMA RESPIRATORIO

Las interacciones del ventilador y el paciente están regidas por la ecuación de movimiento, la cual establece que la presión requerida para insuflar los pulmones (PI) depende de las propiedades resistivas (PR) y elásticas (PE) del sistema respiratorio. Durante la inspiración, un ventilador mecánico genera una presión positiva en el interior de la vía aérea. A esta presión creada por la máquina se opone otra de diferente magnitud, relacionada con la resistencia al flujo aéreo ofrecida por el árbol traqueobronquial, y por otra con la fuerza de retracción elástica del parénquima pulmonar y la pared torácica.

Las propiedades resistivas dependerán del flujo inspiratorio (F) y la resistencia de las vías aéreas (R), y las propiedades elásticas dependerán de la distensibilidad toracopulmonar (C) y del volumen *tidal* (VT):

$$PR = F \times R$$

$$PE = VT/C$$

Por lo tanto, la presión que el ventilador debe vencer para entregar un volumen de gas está determinada por el flujo inspiratorio, la resistencia de la vía aérea, el volumen circulante y la distensibilidad.

$$PI = (F \times R) + (VT/C).$$

Por otro lado, la presión total de insuflación (PI) resulta de la combinación de la presión generada por el ventilador (Pvent) y la presión generada por los músculos respiratorios (Pmus):

$$PI = Pvent + Pmus.$$

Sustituyendo PI por sus componentes, la ecuación de movimiento puede expresarse de la siguiente forma:

$$Pvent + Pmus = (F \times R) + (VT/C).$$

4.3.3 VARIABLES FÍSICAS QUE INTERVIENEN EN EL CICLO VENTILATORIO

Las variables que hacen posible que se desarrolle un ciclo ventilatorio mecánico son de tres tipos: variables de control, variables de fase y variables condicionales (Ramos y cols. 2012).

VARIABLES DE CONTROL

La variable de control es aquella que el ventilador manipula para lograr la inspiración y que se mantiene constante a pesar de los cambios en la mecánica ventilatoria. Un ventilador mecánico puede controlar en cada momento solo una de tres variables: presión, volumen y flujo, ya que el tiempo está implícito en la expresión matemática. La variable controlada se establece como independiente, mientras que las otras dos dependerán de las características mecánicas del sistema respiratorio.

Debido a que el control del volumen implica también el control del flujo (el volumen es el producto del flujo y el tiempo inspiratorio), y viceversa, las dos variables comúnmente controladas por los ventiladores son la presión y el volumen, de modo que la ventilación mecánica invasiva se clasifica primariamente en ventilación volumétrica o controlada por volumen y ventilación barométrica o controlada por presión (Fotos I15 y I16). Existen modos de control dual que permiten el cambio automático entre el control de la presión y el volumen para garantizar la ventilación minuto y maximizar la sincronía con el paciente.

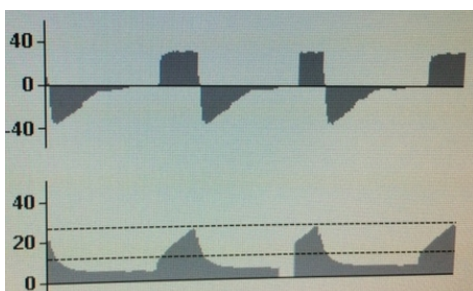


Foto I15. Ventilación controlada por volumen.

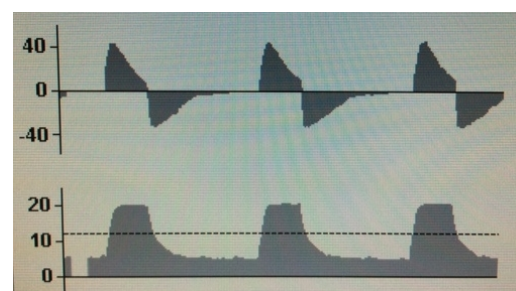


Foto I16. Ventilación controlada por presión.

Ventilación controlada por volumen

El ventilador asegura en todo momento un volumen *tidal* en cada embolada para lo cual variará la presión que tiene que generar, presión necesaria para vencer las cargas elásticas y resistivas del sistema respiratorio. En este caso, la presión determinada por la resistencia de la vía aérea y la distensibilidad pulmonar y de la pared torácica, será variable, a diferencia de la ventilación limitada por presión, en donde lo que será variable será el volumen *tidal*. La inspiración termina una vez que se alcanza el volumen programado.

La ventaja principal de la ventilación controlada por volumen es que aporta un VT constante. Sin embargo, la presión alveolar puede cambiar mucho con las alteraciones de la distensibilidad pulmonar, lo cual puede aumentar el riesgo de lesión inducida por el ventilador. Dado que el patrón de flujo es fijo, el ventilador no se adapta a las demandas del paciente y se facilita la probabilidad de asincronía e inadaptación a la ventilación mecánica.

Aunque habitualmente se utiliza el término volumen controlado, en realidad el ventilador controla el flujo inspiratorio. En este tipo de ventilación, el flujo inspiratorio y el volumen circulante programados se mantienen constantes, y son las variables independientes. El tiempo inspiratorio viene determinado por el flujo y el volumen prefijados, mientras que la presión depende de la resistencia de la vía aérea y de la distensibilidad toraco-pulmonar.

Ventilación controlada por presión

Se denomina así porque la presión es el parámetro principal regulado y el que determinará el ciclado del aparato de inspiración a espiración, es decir, el flujo cesa cuando se alcanza la presión preestablecida. Dependiendo de las características mecánicas del sistema respiratorio, para un mismo nivel de presión, el nivel de volumen *tidal* será variable. Así, en un paciente al que estuviéramos ventilando en una modalidad limitada por presión a 25 cmH₂O y en el que pudiéramos obtener en un determinado

momento 500 ml de volumen *tidal*, si se produjera un broncoespasmo nos encontraríamos con que el VT descendería. Por lo tanto, en este tipo de modalidad no aseguramos un volumen *tidal* constante.

En este tipo de ventilación, la presión inspiratoria programada es constante y se establece como variable independiente, mientras que el volumen y el flujo varían de acuerdo con el nivel de presión establecido y con los cambios en la impedancia a la ventilación. El tiempo inspiratorio se prefija en el ventilador, mientras que el flujo disminuye a medida que la presión alveolar se aproxima a la presión aplicada a la vía aérea.

La ventilación controlada por presión tiene la ventaja de que tanto la presión máxima de la vía aérea como la presión alveolar son constantes, reduciendo el riesgo de barotrauma y lesión pulmonar inducida por el ventilador. El patrón de flujo inspiratorio es decelerado y varía con las demandas del paciente, mejorando de esta forma la sincronía respiratoria. Su mayor desventaja es que el volumen *tidal* cambia con las variaciones de la mecánica respiratoria y la probabilidad de alteración del intercambio gaseoso es mayor, siendo más difícil de identificar las modificaciones en la impedancia pulmonar. Mediante el control del flujo al inicio de la fase inspiratoria, algunos ventiladores permiten ajustar el tiempo requerido para que se alcance el nivel de presión de insuflación predeterminada (tiempo de ascenso o rampa), con lo que se consigue una mejor adaptación a la demanda ventilatoria del paciente.

Variables de fase

Un ciclo ventilatorio completo, controlado por un ventilador, consta de cuatro fases: Cambio de espiración a inspiración (comienzo de la inspiración), inspiración, cambio de inspiración a espiración (final de la inspiración) y espiración. Una variable de fase es una señal física (presión, volumen, flujo o tiempo) que el ventilador mide y utiliza para iniciar alguna parte del ciclo ventilatorio.

Variables condicionales

Es la que desencadena una acción si se satisface un requisito determinado, como ocurre con la sincronización de las respiraciones mecánicas y espontáneas durante la ventilación mandatoria intermitente sincronizada (SIMV) y el suministro de suspiros.

4.4 EFECTOS SISTÉMICOS DE LA VENTILACIÓN MECÁNICA

4.4.1 EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LA VENTILACIÓN MECÁNICA

Debido a la interacción del pulmón con otros órganos (ya sean vecinos o a distancia), la ventilación mecánica puede afectar a casi cualquier órgano o sistema. Estos efectos dependerán del cambio en las presiones intratorácicas, y su magnitud estará en relación con la presión media de la vía aérea y con el estado cardiopulmonar del paciente. La presión media de la vía aérea es el promedio de presión generada durante todo el ciclo ventilatorio mecánico (inspiración y espiración), se relaciona con la cantidad y la duración de la presión aplicada, y depende de todos los factores que influyen en la ventilación, tales como la presión inspiratoria, la PEEP y la relación entre la duración de la inspiración y de la espiración. La presión media de la vía aérea es uno de los determinantes principales de la oxigenación, ya que aumenta la presión alveolar media y favorece el reclutamiento alveolar. Sin embargo, debido al incremento de la presión intratorácica que produce, también es la causa de los efectos deletéreos de la ventilación con presión positiva sobre el sistema cardiovascular.

4.4.1.1 Efectos respiratorios

La ventilación mecánica ejerce sus efectos sobre el sistema respiratorio principalmente mediante variaciones en la relación ventilación-perfusión. La ventilación

pulmonar se distribuye preferentemente hacia las zonas donde se produce un mayor descenso del diafragma, es decir, a las áreas posteriores (inferiores) durante la ventilación espontánea y a las anteriores (superiores) en el caso de la ventilación con presión positiva. En cambio, por efecto de la gravedad, la perfusión pulmonar siempre es dominante en las áreas posteriores (inferiores) del pulmón. Por estos motivos, la ventilación mecánica provocará una alteración en la relación entre ventilación y perfusión.

Cortocircuito

La causa principal de la hipoxemia es el cortocircuito intrapulmonar que se produce cuando la sangre fluye a través de alvéolos no ventilados (zonas perfundidas que no están ventiladas) y por tanto no participan en el intercambio gaseoso.

La ventilación mecánica puede reducir este cortocircuito y mejorar la oxigenación por dos mecanismos: por un lado, la aplicación de presión positiva inspiratoria produce la apertura y la expansión de los alvéolos colapsados (reclutamiento alveolar), y por otro, la utilización de PEEP previene el colapso de los alvéolos previamente abiertos por la presión inspiratoria (mantiene el reclutamiento alveolar), incrementa la capacidad residual funcional (volumen pulmonar al final de la espiración) y mejora el equilibrio entre ventilación y perfusión. En otro orden de cosas, niveles apropiados de PEEP pueden ayudar a prevenir la lesión pulmonar inducida por el ventilador, al evitar la apertura y el cierre de los alvéolos de forma cíclica.

Espacio muerto

El espacio muerto es el porcentaje de ventilación que no participa en el intercambio gaseoso. Tiene un componente anatómico, definido por las vías aéreas de conducción y la vía aérea artificial, y un componente alveolar, representado por los alvéolos que están ventilados, pero no perfundidos.

4.4.1.2 Efectos cardiovasculares

Los efectos cardiovasculares del soporte ventilatorio mecánico están en estrecha relación con la variación que se produce en la presión intratorácica.

Reducción del retorno venoso

Durante la ventilación mecánica, el aumento de la presión de la vía aérea se transmite al espacio intrapleural y a todas las estructuras intratorácicas, generando compresión de los grandes vasos que da lugar a un ascenso de la presión venosa central. Esta elevación de la presión auricular derecha reduce el gradiente de presión existente entre las venas sistémicas y el lado derecho del corazón, y se produce una reducción del retorno venoso y un descenso de la precarga ventricular derecha, lo que se traduce en disminución del gasto cardíaco e hipotensión arterial.

Aumento de la resistencia vascular pulmonar

La aplicación de grandes volúmenes o niveles altos de PEEP (>15 cmH₂O) puede producir una sobredistensión alveolar, con la consiguiente compresión de los capilares adyacentes, que lleva a un incremento de la resistencia al flujo sanguíneo pulmonar. La elevación de la resistencia vascular pulmonar induce un aumento en la resistencia a la eyección del ventrículo derecho y se produce dilatación ventricular y descenso del volumen sistólico. Puesto que ambos ventrículos comparten el tabique interventricular y el pericardio (interdependencia ventricular), la dilatación del ventrículo derecho puede ocasionar una desviación del tabique y limitar el llenado diastólico, afectando a su función (acoplamiento en paralelo), lo cual conduce a un descenso del gasto cardíaco. Este efecto es más evidente cuando hay hipovolemia o está afectada la función ventricular izquierda. La expansión del volumen intravascular o la administración de fármacos inotrópicos pueden mitigar los efectos indeseables de la ventilación con presión positiva y la PEEP sobre el gasto cardíaco.

Isquemia miocárdica

Además de la reducción del retorno venoso y el aumento de la resistencia vascular pulmonar, la ventilación mecánica puede conducir a disfunción ventricular isquémica. El flujo arterial coronario depende de la presión de perfusión coronaria (diferencia entre la presión diastólica aórtica y la presión telediastólica ventricular izquierda). La reducción de este gradiente de presión (disminución del gasto cardiaco, hipotensión arterial, aumento de la precarga) o la compresión de los vasos coronarios, como consecuencia del aumento de la presión intratorácica, pueden causar isquemia miocárdica.

4.4.1.3 Efectos renales

La caída del gasto cardiaco provocada por la presión positiva lleva a una disminución de la presión arterial y una reducción paralela del flujo sanguíneo renal, que da lugar a un descenso de la filtración glomerular y, en último término, de la diuresis. No obstante, un factor de mayor importancia en la disfunción renal inducida por la ventilación mecánica parece ser la redistribución del flujo sanguíneo dentro del riñón, que disminuye en la región exterior de la corteza y aumenta en la zona medular. Esto ocasiona una mayor reabsorción de sodio y agua, y se traduce en un descenso de la natriuresis y de la diuresis.

4.4.1.4 Efectos endocrinos

El descenso en la presión aórtica inducido por la PEEP provoca la inactivación de los barorreceptores auriculares y aórticos, y da lugar a una mayor liberación de hormona antidiurética, que es la causa del desarrollo de oliguria.

El factor natriurético atrial es otra hormona íntimamente relacionada con el balance hidroelectrolítico. Este factor se secreta en respuesta a la distensión auricular y produce un aumento de la excreción de sodio y agua, en un intento de reducir el volumen

sanguíneo. La ventilación mecánica puede reducir la presión de llenado auricular, bien por un descenso del retorno venoso o por compresión mecánica de la aurícula, lo cual reduce la secreción de esta hormona y ocasiona retención de sodio y agua.

La disminución de la perfusión renal y el aumento del tono simpático durante la ventilación con presión positiva estimulan la liberación de renina por el riñón. El aumento de la renina plasmática activa la cascada renina-angiotensina-aldosterona, lo cual provoca una reducción de la tasa de filtración glomerular y promueve la retención de sodio y agua en el túbulo distal. Ambos mecanismos tendrán efectos sobre la natriuresis y la diuresis.

4.4.1.5 Efectos neurológicos

Se derivan de las alteraciones de la perfusión cerebral y de la elevación de la presión intracraneal. Debido a que la ventilación con presión positiva puede reducir el gasto cardíaco y la presión arterial media, también puede descender la presión de perfusión cerebral (diferencia entre presión arterial media y presión intracraneal). El incremento de la presión intracraneal puede acontecer como consecuencia del incremento en la presión venosa yugular y de la reducción del retorno venoso cerebral, lo que ocasiona una disminución de la presión de perfusión cerebral. No obstante cuando la PEEP se aplica en el marco clínico apropiado (disminución de la distensibilidad pulmonar), la transmisión de la presión de la vía aérea a la aurícula derecha, y por tanto al compartimento intracraneal, es baja. El desarrollo de hipercapnia, como consecuencia de una hipoventilación, produce un aumento del flujo sanguíneo cerebral y puede elevar la presión intracraneal.

4.4.1.6 Efectos sobre el aparato digestivo

Efectos en la mucosa gástrica

La ventilación con presión positiva incrementa la resistencia esplácnica, disminuye el flujo venoso esplácnico y puede contribuir al desarrollo de isquemia de la

mucosa gástrica. Este es uno de los factores implicados en la mayor incidencia de úlceras gástricas y de hemorragia digestiva en los pacientes graves ventilados mecánicamente, por lo que debe realizarse profilaxis de la gastritis erosiva.

Disfunción hepática

Este efecto parece estar relacionado con el descenso del gasto cardiaco (como consecuencia de la reducción del retorno venoso), el movimiento descendente del diafragma (con compresión mecánica de la superficie del hígado) y la disminución del flujo arterial y portal (por aumento de la resistencia esplácnica), y todo ello puede conducir al desarrollo de isquemia hepática. Viene reflejada por un aumento de la bilirrubina sérica aunque no haya enfermedad hepática previa.

4.5 PRESIÓN POSITIVA AL FINAL DE LA ESPIRACIÓN (PEEP)

La presión positiva al final de la espiración (PEEP) es la presión alveolar que se establece por encima de la presión atmosférica al final de la espiración. Existen 2 tipos de PEEP:

(i) La PEEP que es aportada por la ventilación mecánica y que el clínico debe programar, denominada PEEP aplicada o extrínseca;

(ii) La PEEP que se produce por una espiración incompleta, denominada auto-PEEP. No nos extenderemos con este tipo de PEEP al no ser relevante en este trabajo.

4.5.1 PEEP APLICADA (EXTRÍNSECA)

Este tipo de PEEP es uno de los parámetros básicos que se deben programar a la hora de conectar a un paciente a la ventilación mecánica. Unos niveles bajos de PEEP se denominan PEEP fisiológica, mientras que niveles superiores se han denominado PEEP suprafisiológica. La PEEP fisiológica está indicada en la mayoría de los pacientes ventilados y su objetivo es el de vencer el colapso al final de la espiración. Se ha visto, además, que en pacientes sometidos a ventilación mecánica y que no estaban hipoxémicos, la aplicación de PEEP disminuye los episodios de hipoxemia y la incidencia de neumonía. Esto último se demostró en un ensayo clínico aleatorizado en el que 131 pacientes sometidos a ventilación mecánica, con radiografía de tórax normal y una relación entre la presión parcial de oxígeno y la fracción inspiratoria de O₂ (PaO₂/FiO₂) por encima de 250 mmHg, se asignaron a 2 grupos. Uno de los grupos (n=66) recibió PEEP entre 5-8 cmH₂O y el segundo grupo (n=65) no recibió PEEP. El primero de estos grupos tuvo menor incidencia de neumonía asociada a ventilación mecánica (9,4% frente a 25,4%) y presentó también menos episodios de hipoxemia, definida en este estudio como PaO₂/FiO₂ <175 mmHg (19% en el grupo que recibió

PEEP frente al 54% en el grupo que no recibió PEEP). Sin embargo, estos beneficios de aplicar PEEP de forma profiláctica, como la denominaron los autores, no se vieron reflejados en un descenso de la mortalidad, estancia en unidades de pacientes críticos o estancia hospitalaria (Manzano y cols. 2008). Una de las explicaciones que puede tener esta menor incidencia de neumonía es que la PEEP disminuye las fugas de líquido alrededor del neumotaponamiento del tubo endotraqueal (Lucangelo y cols. 2008) con lo que las microaspiraciones de contenido gástrico (causa principal de neumonía en estos pacientes) pueden verse limitadas.

La aplicación de niveles altos de PEEP (suprafisiológica) está indicada en la mayoría de los pacientes con SDRA y en otros tipos de insuficiencia respiratoria hipoxémica. Se ha visto que su empleo mejora la oxigenación y la VILI, pero no ha demostrado, por el contrario, que disminuya la evolución clínica (mortalidad, duración de la VM, etc.). En un estudio en pacientes con SDRA en el que se pautó la PEEP según la presión esofágica o según una tabla dependiendo de la FiO_2 empleada, el grupo en el que la PEEP se pautó según la presión esofágica recibió niveles más altos de PEEP (18 frente a 12 cmH_2O) y tuvo una relación PaO_2/FiO_2 mayor (280 frente a 191 mmHg) a las 72 horas; sin embargo, la mortalidad a los 28 días fue menor pero no estadísticamente significativa (Talmor y cols. 2008). Cuando se utilizan niveles altos de PEEP para tratar otras causas de insuficiencia respiratoria hipoxémica, como es el caso del edema pulmonar de origen cardiogénico con el objetivo adicional de mejorar la función cardiaca, no se ha visto que, aparte de los producidos por la ventilación, se obtengan otros beneficios. Esto fue valorado en un estudio en el que, a 12 pacientes recibiendo VM, se les valoró la función del ventrículo izquierdo antes y después de aplicar una PEEP de 10 cmH_2O , observándose cómo no había cambios en la función cardiaca (Fellahi y cols. 1998).

4.5.2 CONTRAINDICACIONES PARA EL EMPLEO DE PEEP

No existen contraindicaciones absolutas en el uso de la PEEP. Sin embargo, hay que valorar las consecuencias adversas que pueden presentarse, especialmente cuando se pautan niveles altos en pacientes con problemas intracraneales, con patología pulmonar focal o unilateral, hipotensión, hipovolemia, fístula broncopleural, embolismo pulmonar, etc.

El aumento de la presión intratorácica secundario a la aplicación de PEEP puede disminuir el flujo sanguíneo cerebral y generar elevación de la presión intracraneal, disminución de la presión arterial media o ambos. El resultado final será una disminución de la presión de perfusión cerebral y deterioro neurológico secundario. Este aspecto es actualmente polémico ya que en estudios observacionales en pacientes con hemorragia subaracnoidea se ha visto cómo el aumento progresivo de la PEEP aplicada se ha asociado con una disminución de la presión de perfusión cerebral, pero causado por la disminución de la presión arterial media que se produce al aplicar niveles altos de PEEP, no por una elevación de la presión intracraneal *per se* (Muench y cols. 2005). Por el contrario, otro estudio observacional en pacientes con traumatismo craneoencefálico mostró que la aplicación de PEEP se asoció con un aumento de la presión de perfusión cerebral debido a una disminución de la presión intracraneal (Huynh y cols. 2002). La razón para explicar estos resultados contradictorios es incierta, pero podría estar relacionada con los distintos efectos que tiene la aplicación de PEEP en entidades clínicas distintas y en donde la autorregulación cerebral juega un papel importante. Teniendo en cuenta estos aspectos, parece prudente monitorizar la presión arterial media y la presión intracraneal en pacientes con patología intracraneal en los que apliquemos niveles altos de PEEP.

Por otro lado, la PEEP puede exacerbar el efecto que tiene la ventilación a presión positiva sobre la disminución del retorno venoso y, secundariamente, del gasto cardiaco, aspecto de especial importancia en pacientes hipovolémicos.

4.6 CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DEL PULMÓN

El aparato respiratorio comprende un conjunto de órganos responsables de conducir el aire (vías aéreas) hacia los pulmones, donde se lleva a cabo el intercambio gaseoso. El aire que llega a los alvéolos pulmonares presenta ciertas características importantes que son realizadas por la porción conductora que se inicia en las fosas nasales y termina en el bronquiolo terminal. Los órganos y estructuras que comprenden este sector acondicionan el aire que llega a la porción respiratoria, que comprende desde los bronquiolos respiratorios hasta los alvéolos, en cuya pared (barrera aire-sangre) se produce el intercambio de O₂ desde la luz alveolar hacia los capilares sanguíneos y CO₂, producto del metabolismo celular, en sentido contrario.

La porción conductora

Es la parte encargada de la conducción del aire inspirado hacia los pulmones y comprende: las cavidades nasales, nasofaringe, orofaringe, laringe, tráquea, bronquios y bronquiolos terminales.

La porción respiratoria

Ubicada en el parénquima pulmonar, es el lugar donde ocurre el intercambio gaseoso y comprende: los bronquiolos respiratorios, conductos alveolares, sacos alveolares y alvéolos respiratorios. Para el presente trabajo nos centraremos en esta porción.

4.6.1 DIVISIÓN FUNCIONAL DEL APARATO RESPIRATORIO

Los segmentos pulmonares se dividen en lobulillos pulmonares, cada uno de los cuales está ventilado por un bronquiolo terminal, bronquiolos respiratorios, conductos alveolares, sacos alveolares y alvéolos. Los lobulillos pulmonares se pueden reconocer

macroscópicamente en un corte de pulmón por los finos tabiques de tejido conectivo que separan unas áreas poligonales. Estos lobulillos se dividen en acinos pulmonares, que son las unidades funcionales del aparato respiratorio. Están constituidos por un bronquiolo respiratorio, conductos alveolares sacos alveolares y alvéolos (Figura I5).

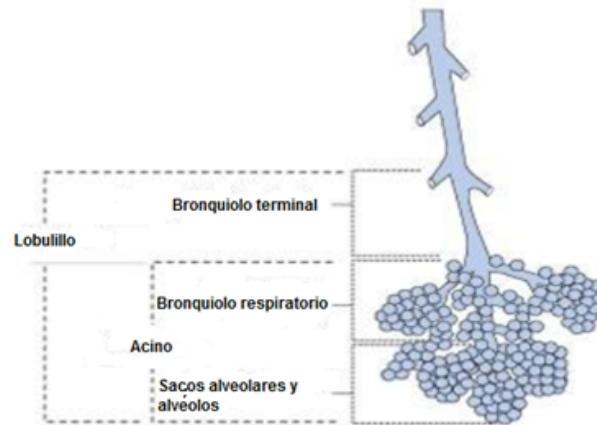


Figura I5. Esquema de la división funcional del aparato respiratorio. Nótese los componentes del lobulillo pulmonar (desde bronquiolo terminal a alveolos) y los elementos del acino pulmonar (desde bronquiolo respiratorio a alvéolos). Tomado de Kierszenbaum A. Histología y Biología celular: Introducción a la anatomía patológica. 2012.

4.6.1.2 Porción respiratoria

Bronquiolo respiratorio

Es una ramificación del bronquiolo terminal, cuyas paredes son discontinuas por la presencia de alvéolos. Es considerado una región de transición entre la porción conductora y respiratoria, y constituye la primera porción del árbol bronquial que permite el intercambio gaseoso (Figura I6). Tiene un calibre muy pequeño y está tapizado por epitelio cúbico simple en sus segmentos iniciales, con presencia de algunas células ciliadas y células de Clara (o células club), y en las porciones dístales, el epitelio se torna cúbico bajo y sin cilios, existiendo solamente células de Clara (o células club); este tipo de epitelio desaparece a nivel de las dilataciones saculares de la pared que dan

lugar a los alvéolos respiratorios. También se encuentran ocasionalmente células en cepillo y células neuroendocrinas en los bronquiolos respiratorios. Los bronquiolos se dividen originando los conductos alveolares. En la pared de los bronquios, bronquiolos y pared alveolar existen abundantes fibras elásticas que se disponen longitudinalmente. Estas fibras son responsables de la gran distensión que posee el parénquima pulmonar (Foto I17).

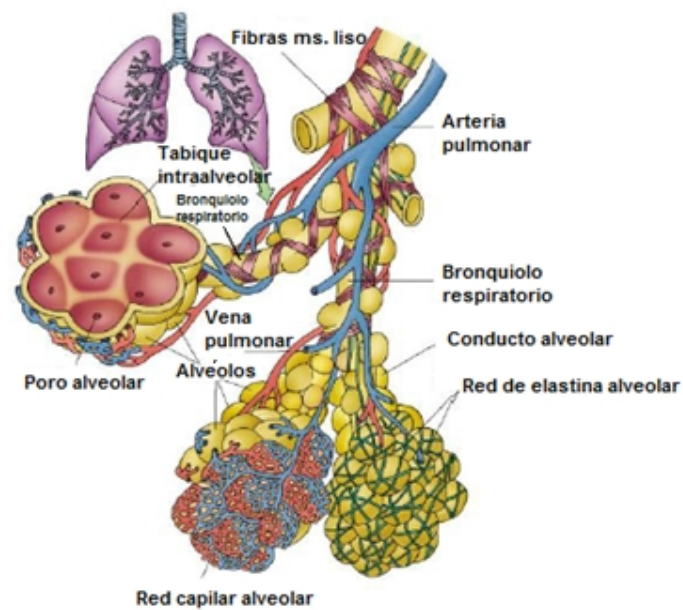


Figura I6. Esquema de la porción respiratoria. Obsérvense los bronquiolos respiratorios, el conducto alveolar, los alvéolos y el saco alveolar. La arteria y vena pulmonar acompañan a la porción respiratoria hasta capilarizarse. Tomado de Leslie P. Gartner. Texto: Atlas de histología.

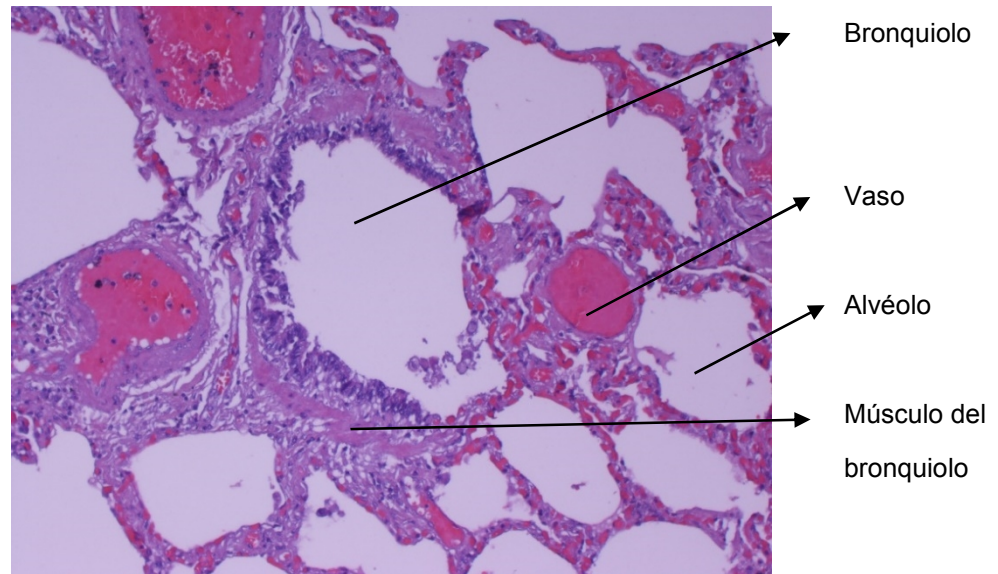


Foto I17. Bronquiolo teñido con hematoxilina eosina. x100 (Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Universidad de La Laguna).

Conducto alveolar

Los bronquiolos respiratorios se dividen en dos, dando lugar a los conductos alveolares. Estos son largos y tortuosos. Se caracterizan por poseer alvéolos y sacos alveolares en sus paredes. Son los últimos segmentos en presentar fibras musculares lisas, que se aprecian a manera de pequeños almohadillados que hacen prominencia hacia la luz del conducto. Estos pequeños tractos se encuentran revestidos por un epitelio simple plano que se continúa con las células alveolares.

Saco alveolar y alvéolos

El conducto alveolar termina en un alvéolo simple y en sacos alveolares que contienen dos o más alvéolos que se abren en un área común denominada atrio. El escaso tejido conectivo que rodea a los alvéolos contiene capilares y fibras elásticas y constituyen los septos o tabiques alveolares que pueden ser gruesos o delgados (Foto I18).

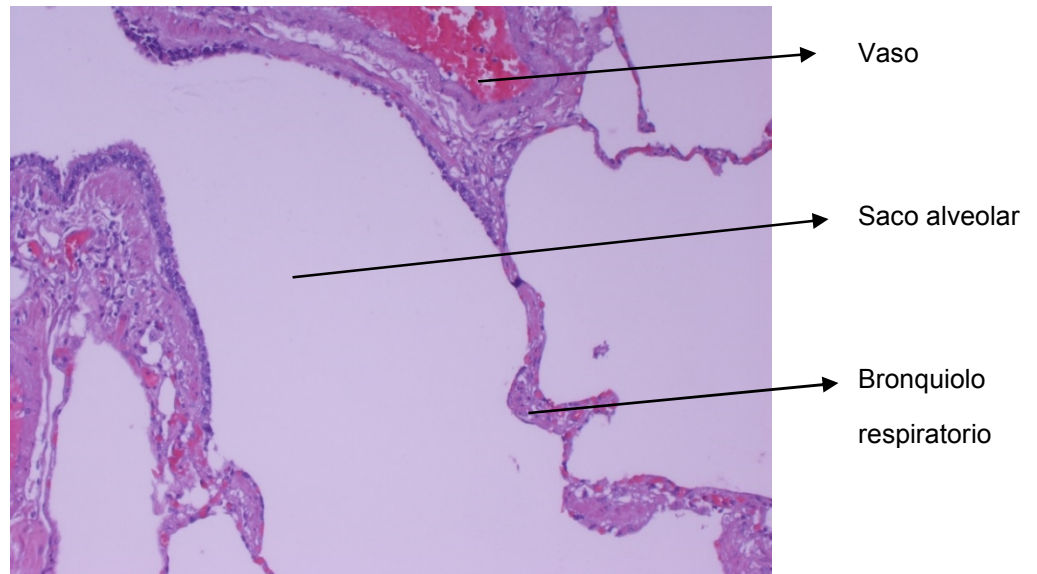


Foto I18. Bronquiolo respiratorio teñido con hematoxilina-eosina. x100 (Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Universidad de La Laguna).

Alvéolo pulmonar

Es la unidad funcional, y está considerada como la estructura más pequeña y numerosa de las vías respiratorias. El número total de alvéolos es de aproximadamente 300 millones y cada alvéolo mide de unos 200 a 300 μm de diámetro. Se ha calculado que la superficie alveolar total de ambos pulmones es de alrededor de 143 m^2 . La mayor parte de alvéolos se abren directamente en un saco alveolar o un conducto alveolar, muy pocos en un bronquiolo respiratorio.

El epitelio pulmonar está compuesto por neumocitos I y II. Los primeros tapizan casi por completo la superficie alveolar y ejercen una función estructural. Los neumocitos II son muy activos metabólicamente, producen el surfactante y, en caso de lesión, se transforman en neumocitos I. En el epitelio pulmonar también son de destacar los macrófagos alveolares y fibroblastos, encargados estos últimos de la síntesis de colágeno y elastina, componentes de la matriz extracelular, así como mastocitos y escasas células musculares lisas.

Las células epiteliales están dispuestas a modo de un epitelio escamoso simple cuya superficie está cubierta por una película de agente tensioactivo pulmonar

compuesto por un fosfolípido secretado principalmente por los neumocitos tipo II y también, probablemente, por las células de Clara o células club (Foto I19).

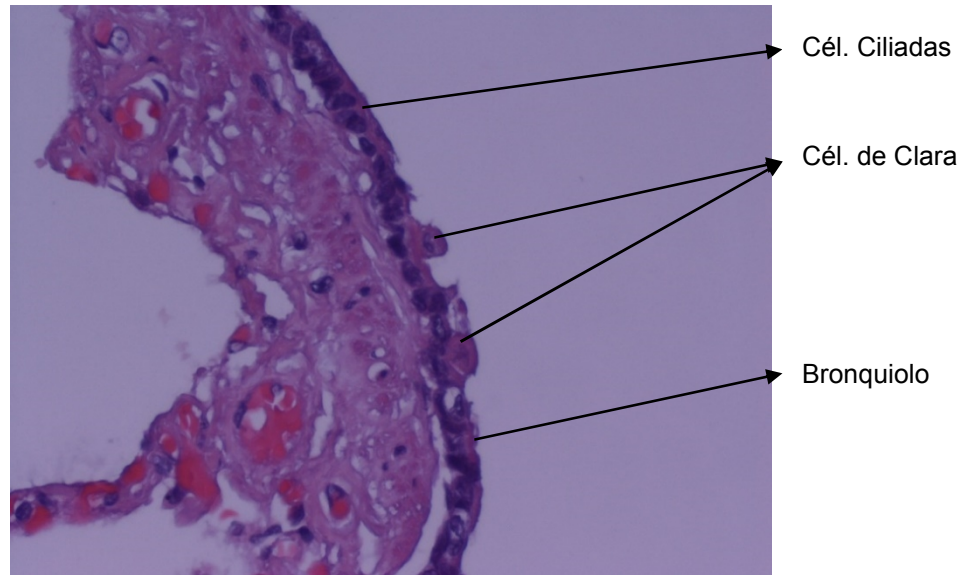


Foto I19. Células de Clara o células club, teñidas con hematoxilina-eosina. x400
(Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Universidad de La Laguna).

Esta sustancia es responsable de la expansión alveolar normal y de la prevención del colapso alveolar durante la espiración. Los capilares presentes en el tabique son de tipo continuo y se encuentran adyacentes a las células alveolares. En la pared de los alvéolos se encuentran los poros de Kohn (Foto I20), que son orificios que comunican dos alveolos, permitiendo la circulación de aire de un alvéolo a otro equilibrando la presión del aire a nivel alveolar y también permitiendo la migración de los macrófagos alveolares.

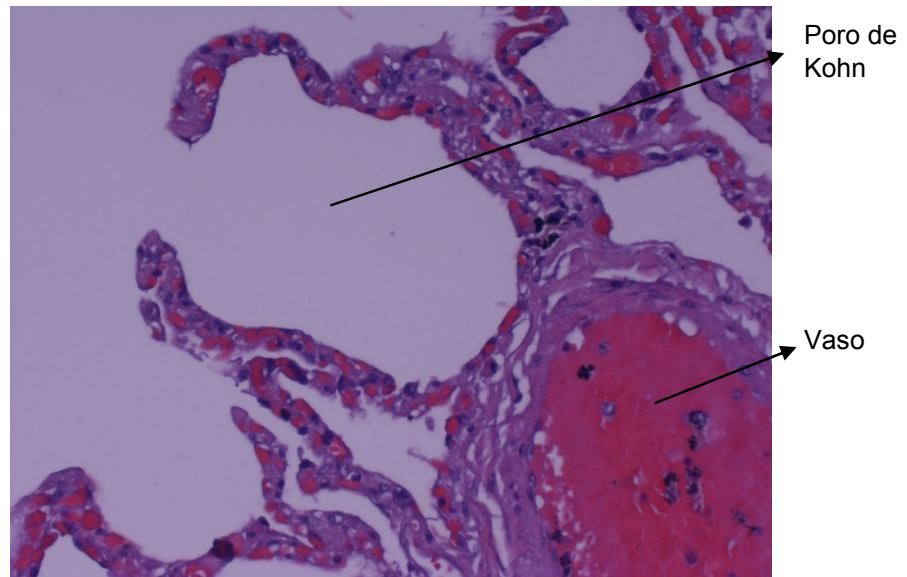


Foto I20. Poro de Kohn teñido con hematoxilina-eosina. x400 (Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Universidad de La Laguna).

Consideramos a mayor detalle los componentes alveolares (Fotos I21, I22 y I23):

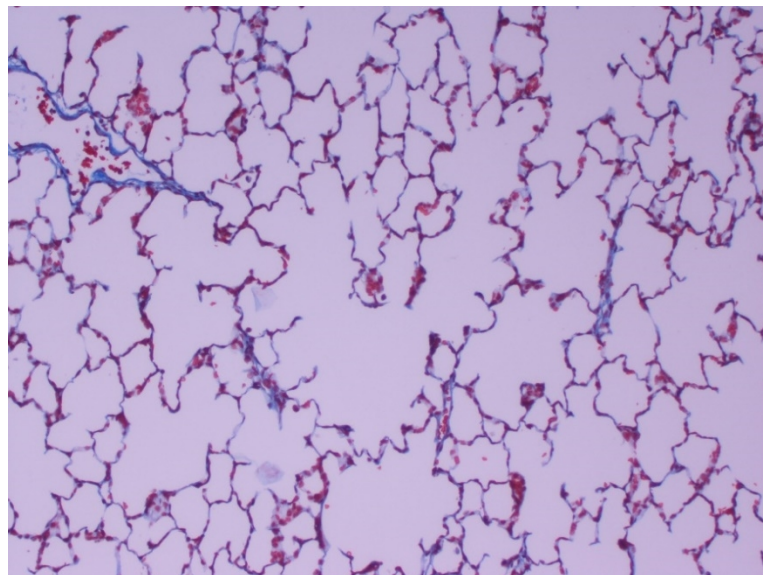


Foto I21. Conductos y sacos alveolares teñidos con Tricrómico de Masson. x100 (Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Universidad de La Laguna).

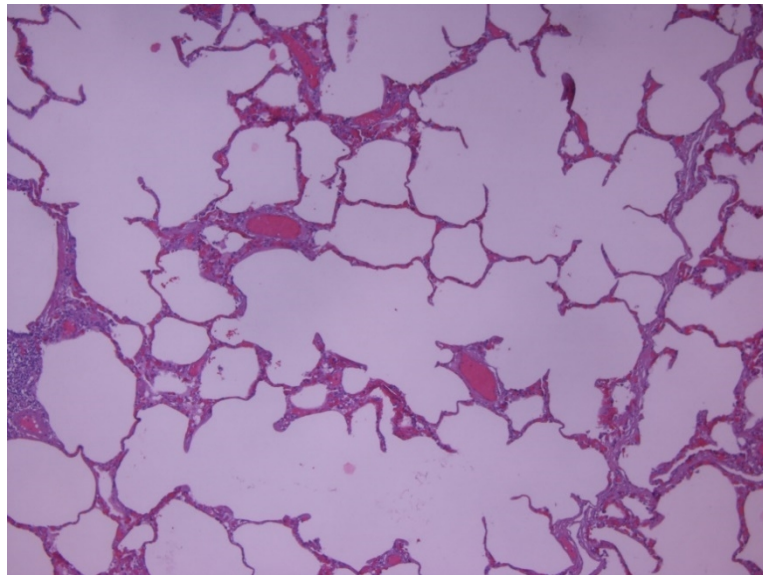


Foto I22. Alvéolo teñido con hematoxilina-eosina. x200 (Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Universidad de La Laguna).

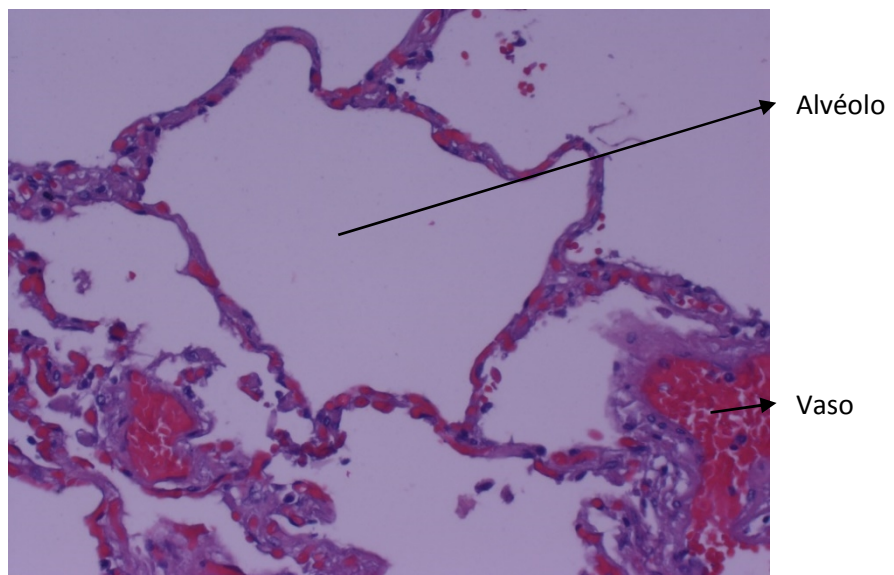


Foto I23. Alvéolo teñido con hematoxilina-eosina. x400 (Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Universidad de La Laguna).

Neumocitos I

Constituyen el 40% de la población celular y cubren el 90% de la superficie de los alvéolos. Son células planas, delgadas, con núcleos aplanados. En su citoplasma hay vesículas pinocíticas, con escasas mitocondrias, retículo endoplásmico y lisosomas. Se unen entre sí y con los neumocitos II por medio de uniones oclusivas que evitan el paso de líquido extracelular a la luz alveolar. No tienen la capacidad de dividirse (Foto I24).

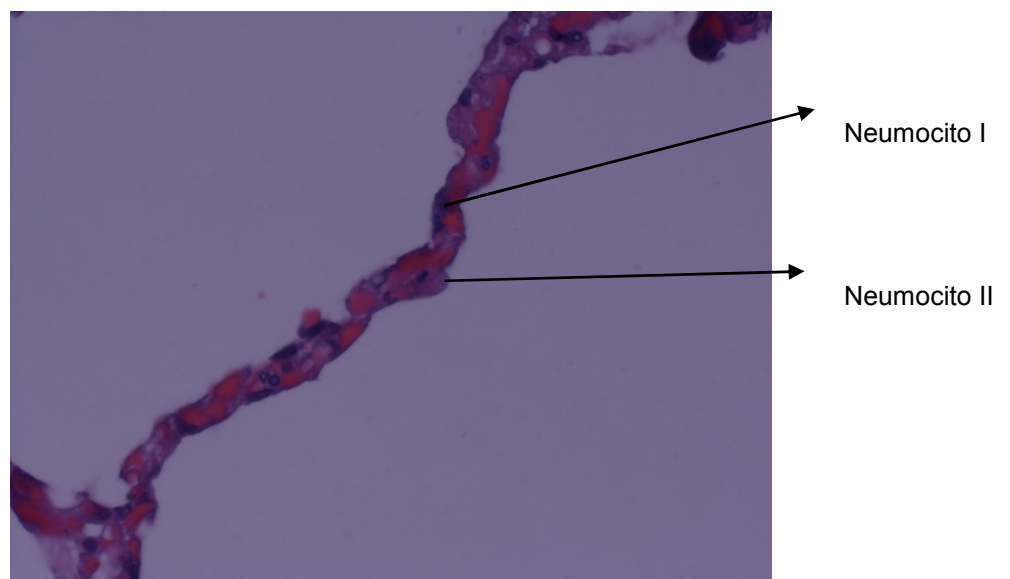


Foto I24. Pared alveolar con neumocitos I y II. Apreciamos también la presencia de vasos sanguíneos. Hematoxilina-eosina. x400 (Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Universidad de La Laguna).

Neumocitos II

Representan el 60% de la población celular alveolar, pero solamente cubren el 10% de la superficie de los alvéolos. Poseen una forma redondeada o cilíndrica que se proyecta y sobresale hacia la luz alveolar, estando sus superficies libres cubiertas por numerosas y cortas microvellosidades. Su citoplasma contiene abundantes mitocondrias, retículo endoplasmático rugoso, lisosomas y cuerpos laminares que no

son otra cosa que gránulos secretores que contienen surfactante pulmonar. Esta sustancia es expulsada a la superficie alveolar a través de un mecanismo de exocitosis y forma una película sobre las células alveolares. El surfactante está compuesto por lípidos como el fosfolípido dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y colesterol, también por proteínas que organizan el surfactante e intervienen en la respuesta inmunitaria.

Las proteínas que intervienen en la estructura del surfactante corresponden a:

- Proteína surfactante A (SP-A), es la más abundante y regula su síntesis y secreción por el neumocito II. Interviene en las respuestas inmunitarias.
- Proteína surfactante B (SP-B), es una proteína organizadora del surfactante, interviene en la absorción y diseminación del surfactante sobre la superficie alveolar.
- Proteína surfactante C (SP-C), interviene en la orientación de la DPPC en el interior del surfactante y mantiene la capa delgada en el interior de los alvéolos.
- Proteína surfactante D (SP-D), interviene en la respuesta inflamatoria local. Al igual que SP-A, participa en los sistemas de defensa innatos, induciendo una aglutinación masiva de microorganismos que posteriormente pueden ser eliminados en el mucus expulsado por las células ciliares a través de las vías respiratorias altas.

Macrófagos alveolares

Son células que pertenecen al sistema fagocitario mononuclear. Se localizan en la superficie de los alvéolos, por encima de las células que lo tapizan, también están presentes en el tabique inter-alveolar y en el espacio aéreo del alvéolo. Fagocitan partículas extrañas, como el polvo que ingresa con el aire y en la insuficiencia cardíaca fagocitan los eritrocitos que se introducen en los alvéolos. Estas células pueden permanecer durante toda la vida en el tejido conectivo del tabique, así como, en la superficie pleural o en los ganglios linfáticos del hilio pulmonar, evidenciándose como una coloración negruzca al examen macroscópico (Foto I25).

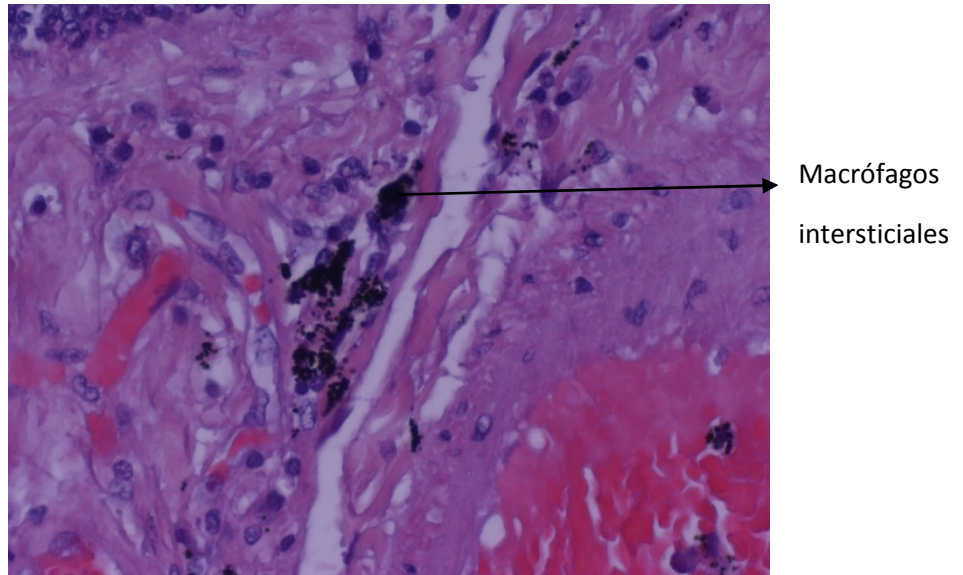


Foto I25. Macrófagos intersticiales cargados con pigmento antracótico. Hematoxilina-eosina. x400 (Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Universidad de La Laguna).

Tabique alveolar o septo alveolar: barrera aire-sangre

La pared alveolar está diseñada para hacer óptima la difusión gaseosa entre el medio externo e interno. El aire alveolar está separado de la sangre por cuatro membranas (Figura I7):

- Citoplasma de la célula epitelial (neumocito I)
- Membrana basal de la célula epitelial
- Membrana basal del capilar
- Citoplasma de la célula endotelial.

En teoría, el espesor de estas cuatro estructuras debería ser tan pequeño como $0,2 \mu\text{m}$; sin embargo, el espesor real es de alrededor de $2,2 \mu\text{m}$, debido a la presencia, en grandes áreas, de espacios con líquido libre, células fijas y libres del sistema inmune y tejido conectivo (colágeno III y elastina). El tejido elástico es un componente funcional importante de la pared alveolar porque permite que los pulmones se distiendan al recibir el aire inspirado y, posteriormente, a través de un mecanismo de recuperación de la

energía almacenada, permite la espiración del aire. Adicionalmente, la elastina evita el colapso de los bronquiolos, que carecen de cartílago, fijándolos directamente al parénquima pulmonar e indirectamente a la pleura. El tabique alveolar no tiene un grosor uniforme, posee zonas más delgadas en las que las membranas basales de las células epiteliales y de los capilares parecen fundirse (barrera aire-sangre o membrana alveolo-capilar), zonas en las que se realiza el intercambio gaseoso. Por las zonas más gruesas es por donde se movilizan los líquidos entre los espacios aéreos y el intersticio.

Por su parte, los capilares pulmonares están constituidos por células endoteliales destacando, a nivel funcional, su permeabilidad al agua y a moléculas e iones. El epitelio alveolar impide el paso de iones, lo que lo hace vulnerable a agentes químicos, mecánicos o humorales que pueden alterar la permeabilidad capilar pulmonar. Su integridad funcional y estructural es esencial para una adecuada homeostasis cardiovascular, pulmonar y sistémica (Orfanos y cols. 2004).

La matriz extracelular ocupa el espacio existente entre el epitelio alveolar y el endotelio capilar. Del lado del capilar consiste esencialmente en una fusión de membranas basales de los componentes epitelial y endotelial. Del otro lado, es más ancha e incluye fibrillas de colágeno. El lado de más grosor se encuentra principalmente vinculado con el intercambio de líquidos a través del endotelio, siendo el más delgado el responsable de la mayor parte del intercambio gaseoso. El tejido intersticial se encuentra en todo el pulmón y es la vía de drenaje desde los capilares hacia los vasos linfáticos.

La resistencia al estrés de la barrera aire-sangre la proporcionan las membranas basales alveolar y endotelial que contienen grandes cantidades de colágeno tipo IV. Los componentes moleculares de la membrana basal están organizados en dominios específicos hacia adentro y afuera de la célula. Las integrinas son los receptores de adhesión a través de los cuales las células alveolares interaccionan entre ellas proporcionando una dinámica bidireccional entre el citoesqueleto y la matriz extracelular. Las integrinas se encuentran en los llamados sitios focales de adhesión,

que favorecen la unión intercelular. Otras moléculas, tales como las cadherinas, desempeñan también un papel en la transmisión de señales hacia las células alveolares y son objeto de deformación, induciendo alteraciones en la función de barrera epitelial y endotelial (Vlahakis y cols. 2005).

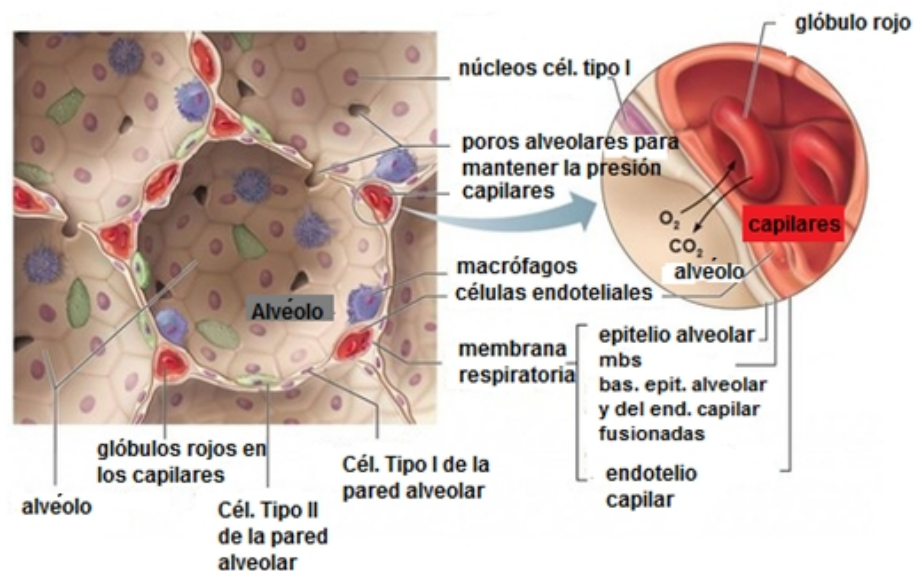


Figura 17. Detalle de la barrera respiratoria.

Célula endotelial

Las células endoteliales, que revisten la pared de los capilares sanguíneos de tipo continuo, se encuentran en contacto con los alvéolos y presentan un citoplasma muy delgado. Su característica más importante es la de poseer numerosas vesículas transcitóticas. El endotelio capilar pulmonar posee funciones fisiológicas e inmunológicas, como son la síntesis y liberación de agentes vasoactivos, del tipo de la angiotensina II, prostaciclina, tromboxano A₂, óxido nítrico (NO) y endotelinas, encargados de regular el tono vascular y la vasoconstricción pulmonar hipóxica (fenómeno adaptativo exclusivo del pulmón en la hipoxia, en el que las arterias pulmonares pequeñas sufren vasoconstricción, que producen redistribución del flujo desde áreas pobremente oxigenadas, a las zonas mejor ventiladas del pulmón, reduciendo el cortocircuito intrapulmonar, lo cual mejora la entrega de oxígeno).

Además, el endotelio es capaz de producir enzimas (enzima convertidora de la angiotensina, óxido nítrico sintetasa, lipoproteinlipasas y nucleotidasas), receptores, moléculas transductoras de señales intracelulares y moléculas de adhesión celular. A su vez segrega factores de crecimiento, citoquinas, especies reactivas de oxígeno (ROS), e interviene en la regulación de la coagulación y la trombolisis (Ventrice y cols. 2007).

La pleura

Cubre cada cavidad torácica y comprende la pleura visceral, que recubre el pulmón, y la pleura parietal, que reviste paredes de la cavidad torácica; entre ambas se encuentra la cavidad pleural. Esta contiene una pequeña cantidad de un líquido seroso que evita que los pulmones se friccionen durante la respiración. La pleura visceral se encuentra revestida externamente por un epitelio simple plano que corresponde al mesotelio. Estas células descansan sobre una membrana basal y debajo existe tejido conectivo rico en fibras elásticas (Foto I26).

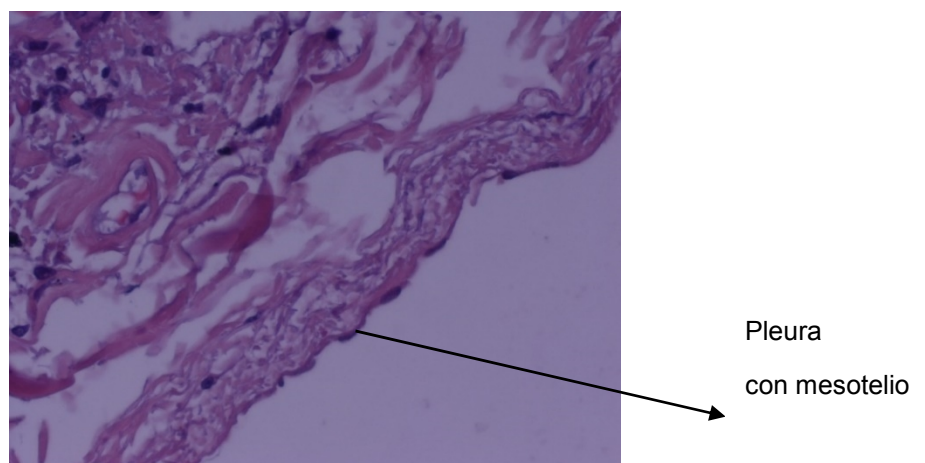


Foto I26. Pleura parietal con mesotelio y visceral. Hematoxilina-eosina. x400
(Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Universidad de La Laguna).

4.7 HISTOPATOLOGÍA DE LA LESIÓN PULMONAR AGUDA

La alteración histológica que se observa en la lesión pulmonar aguda se denomina daño alveolar difuso (DAD) y fue descrito por Katzenstein y cols. en 1976.

Aunque los fenómenos de destrucción y reparación se pueden solapar en el tiempo, el siguiente esquema ayuda a entender la secuencia de aparición de las lesiones histológicas que caracterizan el SDRA (Figura 18).

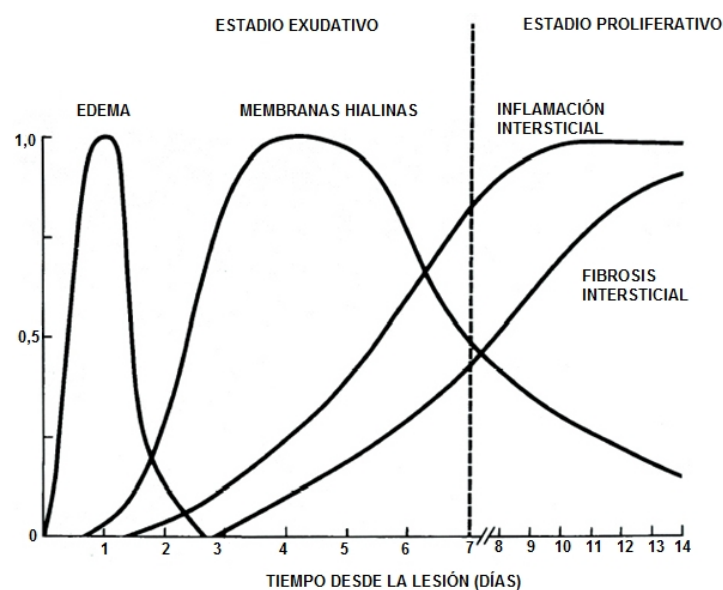


Figura 18. Distribución temporal de los trastornos histológicos en la lesión pulmonar aguda.

La aparición de lesiones pulmonares se ha dividido clásicamente en tres fases:

- **Fase exudativa (0-7 días):** Inicialmente se produce una lesión directa (tóxicos, irritantes) o indirecta (respuesta inflamatoria) de las células epiteliales alveolares que causan un aumento de la permeabilidad endotelial, extravasándose a la luz alveolar un líquido rico en proteínas (a diferencia del edema cardiogénico). Esta fase, por tanto, se caracteriza por la presencia inicial de edema en el intersticio alveolo-capilar, seguido de destrucción de los neumocitos I que tapizan los alvéolos, sustituidos por la aparición de un material PAS positivo, denominado membranas hialinas. Estas membranas, son el

signo más distintivo del DAD y están constituidas por fibrina y detritus procedentes de la destrucción de los neumocitos I, como se ve con microscopía óptica (Foto I27).

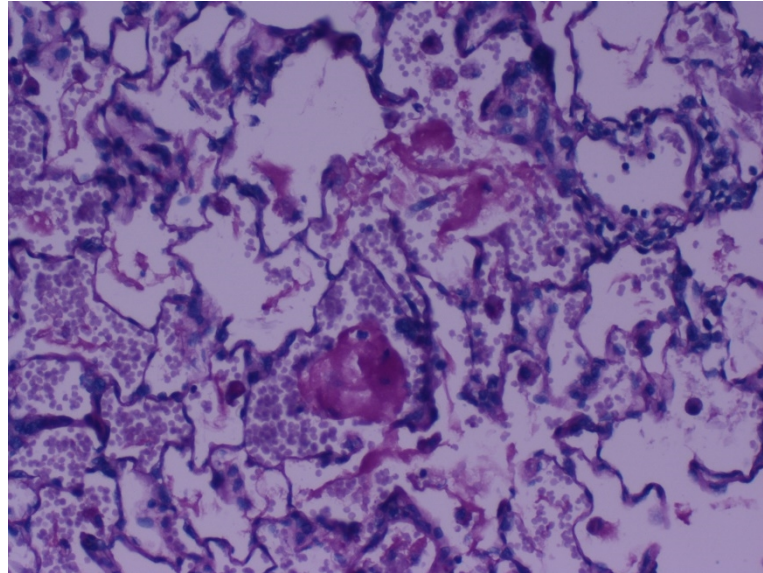


Foto I27. Membranas hialinas con tinción de PAS. X400. (Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Universidad de La Laguna).

- **Fase proliferativa (7-21 días):** Caracterizada por la proliferación de los neumocitos tipo II que tapizan la superficie alveolar. En la microscopía electrónica se observan unos cuerpos lamelares que dan una imagen de reparación formada por células altas que recubren el interior del alvéolo. Si el estímulo de la noxa continúa y el proceso pulmonar mantiene su actividad se va a producir un depósito de colágeno en el intersticio, ensanchándolo, al tiempo que disminuye el tamaño de los alvéolos y los separa, produciéndose una fibrosis pulmonar que caracteriza las fases avanzadas del DAD (Foto I28).

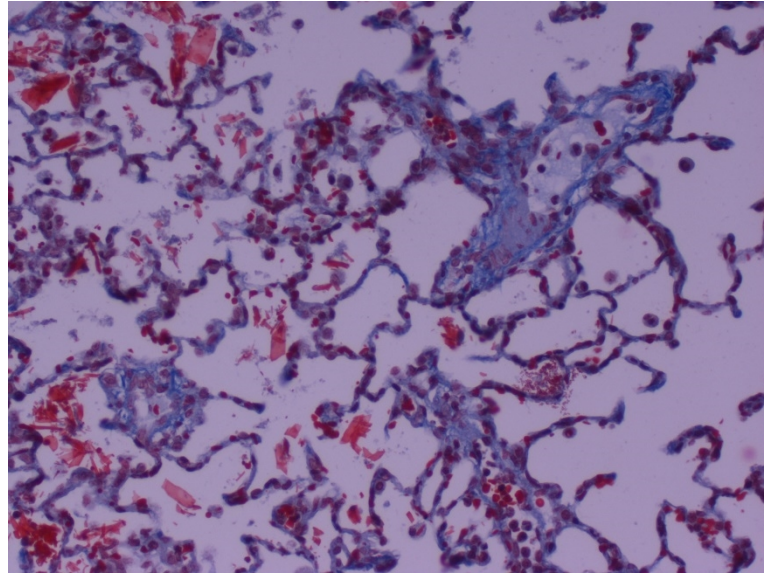


Foto I28. Fibrosis vista con tinción de Masson-Goldner. X200 (Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Universidad de La Laguna).

- **Fase fibrótica:** La actividad fibroblástica tiene lugar desde el inicio, pero desde el punto de vista clínico, se evidencia a partir de la 2-3 semana, afectando al pronóstico.

4.8 LESIÓN PULMONAR INDUCIDA POR LA VENTILACIÓN MECÁNICA

La VM, como todo procedimiento médico, no está exenta de complicaciones, siendo una de las más serias la lesión pulmonar inducida por la ventilación mecánica (que recibe el acrónimo de VILI, del inglés *Ventilador Induced Lung Injury*). Esta lesión puede afectar a distintos órganos y empeorar la evolución de los pacientes ventilados mecánicamente (Dreyfuss y cols. 1995, 1998). Este fenómeno se puede producir en los pulmones previamente sanos o en los que ya están dañados y presenta una incidencia muy variable dependiendo de los estudios realizados pero, en pacientes ventilados mecánicamente por otras causas distintas a SDRA, se sitúa alrededor del 24% (Gajic y cols. 2004).

Cuando la lesión pulmonar que se produce es consecuencia de la ventilación mecánica, podremos utilizar el término, ya comentado, de VILI. Si, por el contrario, no se puede demostrar una relación de causalidad entre la lesión pulmonar y la ventilación mecánica, hablaríamos de lesión pulmonar asociada a la ventilación mecánica o VALI (*Ventilador Associated Lung Injury*). En muchas ocasiones, el término VALI es más apropiado en el contexto clínico porque es virtualmente imposible probar, salvo en investigaciones de laboratorio, que la lesión pulmonar es consecuencia de la ventilación mecánica. En la presente tesis doctoral emplearemos el término VILI en lugar de VALI, al ser el más usado en la literatura científica.

Solo 3 años después de la primera descripción de SDRA (Ashbaugh y cols. 1967) y gracias al análisis de las propiedades mecánicas pulmonares a través de modelos teóricos de elasticidad pulmonar, se desarrolló la base conceptual de la VILI (Mead y cols. 1970). En ese trabajo se llegó a la conclusión de que la aplicación de altas presiones transpulmonares en pulmones expandidos de manera heterogénea podría contribuir al desarrollo de hemorragias pulmonares y de membranas hialinas. Posteriormente, se demostró por primera vez la relación existente entre presión en la vía aérea y el daño pulmonar y, de esta forma, que la ventilación mecánica podía

producir lesión pulmonar aguda en pulmones sanos. Ratas ventiladas con presiones inspiratorias de 30 o 45 cmH₂O desarrollaron edema pulmonar a los 60 y 20 minutos, respectivamente (Webb y cols. 1974). Otro aspecto clínicamente relevante que se observó en ese estudio fue que la aplicación de niveles de PEEP entre 10-14 cmH₂O manteniendo constante el nivel de presión tele-inspiratoria producía menor cantidad de edema pulmonar.

Cada vez que un paciente se conecta a la ventilación mecánica, debemos tener en mente los aspectos anteriormente expuestos y utilizar estrategias ventilatorias dirigidas a minimizar o impedir que esta lesión se desarrolle. Surge así el concepto de ventilación mecánica protectora, que tiene como principal objetivo la utilización de parámetros ventilatorios que han demostrado, por el momento, que no son lesivos para el pulmón. Esta forma de proteger al pulmón que está siendo ventilado cobró verdadera importancia tras los estudios publicados por la *Acute Respiratory Distress Syndrome network (ARDS network)*, red científica que, entre otros objetivos, estudia y divulga las medidas preventivas relacionadas con las lesiones producidas por la ventilación mecánica. Varios de sus estudios demostraron una reducción del riesgo relativo de muerte del 22% cuando se utilizaba la ventilación mecánica protectora en los pacientes conectados a ventilación mecánica (The ARDS network, 2000 y Brower y cols. 2004).

La presentación clínica de la VILI es indistinguible de la del SDRA. Los pacientes típicamente desarrollan hipoxemia moderada-severa o requieren de forma progresiva un aumento de la FiO₂ para mantener una oxigenación adecuada. Esto se suele acompañar de taquipnea, taquicardia, ansiedad, etc. La radiografía de tórax típicamente muestra un nuevo infiltrado intersticial o una progresión de infiltrados previos u opacidades alveolares de disposición, generalmente, bilateral. Otras pruebas de imagen como la tomografía axial computarizada (TAC) torácica, muestran consolidaciones heterogéneas y zonas no aireadas en las zonas declives pulmonares. Diferentes estudios han mostrado una buena correlación entre la masa de pulmón no aireada, calculada mediante la TAC torácica, y la intensidad de las alteraciones en la

oxigenación (Gattinoni y cols. 1987). La ecografía pulmonar (Copetti y cols. 2008) mostraría trastornos en la línea pleural (disminución o ausencia de deslizamiento pleural o engrosamiento de la misma), consolidaciones alveolares y zonas pulmonares parcheadas (alternancia entre zonas pulmonares que muestran unas características ecográficas de alteración intersticial en forma de líneas B con otras zonas de patrón pulmonar normal en forma de líneas A con deslizamiento pleural). Además se ha visto, en pacientes politraumatizados con afectación pulmonar, cómo puede predecir el desarrollo de SDRA (Leblanc y cols. 2014). Aunque la TAC es el patrón de oro, la ecografía pulmonar es una técnica de imagen que muestra un excelente rendimiento al no precisar el traslado de estos pacientes (generalmente intubados, conectados a ventilación mecánica y hemodinámicamente inestables) a la sala de la TAC, no producir radiaciones ionizantes, poder realizarla a la cabecera del paciente y además las veces que la consideremos oportuna para monitorizar la evolución clínica.

Así, a nivel clínico, podríamos hablar de unas manifestaciones similares a las establecidas en la Conferencia de Consenso Americana-Europea de SDRA de 1994 (Tabla 1) (Bernard y cols. 1994) o a la más reciente Definición de Berlín del SDRA (Tabla 2) (ARDS Definition Task Force. 2012).

En lo que a afectación histológica se refiere, lo que se aprecia en la VILI sería indistinguible de los hallazgos relativos al daño alveolar difuso (Tabla 3) (Katzenstein y cols. 1976).

Infiltrados bilaterales en la radiografía de tórax
Deterioro del intercambio gaseoso con una relación $PaO_2/FiO_2 < 200$ mmHg
Presión de enclavamiento pulmonar menor de 18 mmHg o ausencia de datos de hipertensión de aurícula izquierda
Al menos un factor de riesgo asociado con el desarrollo de SDRA

Tabla 1. Criterios clínicos de SDRA según Conferencia de Consenso Americana-Europea de 1994

Momento de aparición: Dentro de la primera semana del comienzo de la causa desencadenante o nuevo empeoramiento de la sintomatología respiratoria.
Imágenes radiológicas (Rx. de tórax o TAC): Opacidades bilaterales no atribuibles a derrames pleurales o a colapso lobar o pulmonar
Origen del edema: Fallo respiratorio no atribuible a fallo cardíaco o a sobrecarga hídrica, siendo necesaria la valoración objetiva (por ejemplo con ecocardiografía) que excluya el edema hidrostático.
Oxigenación: <p>Afectación leve: PaO_2/FiO_2 entre 200-300 mmHg con PEEP o CPAP ≥ 5 cmH₂O</p> <p>Afectación moderada: PaO_2/FiO_2 entre 100-200 mmHg con PEEP ≥ 5 cmH₂O</p> <p>Afectación severa: PaO_2/FiO_2 menor 100 mmHg con PEEP ≥ 5 cmH₂O</p>

Tabla 2. Definición de Berlín de SDRA

Edema intersticial e intraalveolar
Presencia de membranas hialinas
Hiperplasia de células alveolares (neumocitos tipo II)
Fibrosis intersticial

Tabla 3. Criterios histológicos de SDRA

4.8.1 MECANISMOS DETERMINANTES DE VILI

Podríamos hablar de cuatro determinantes en el desarrollo de esta entidad clínica: la sobredistensión alveolar (que recibe también el nombre de volutrauma), la apertura y cierre continuo de los alvéolos (atelectrauma), el empleo de presiones en vía aérea altas (barotrauma) y, por último, la liberación de mediadores inflamatorios a la circulación sistémica con el ulterior desarrollo de una disfunción multiorgánica múltiple (biotrauma).

La sobredistensión alveolar y las atelectasias cíclicas son los principales desencadenantes de la lesión pulmonar durante la ventilación mecánica con presión positiva. La aplicación repetida de una excesiva tensión y deformación del tejido pulmonar afecta a estructuras como el fibroesqueleto y la microvascularización pulmonar, las pequeñas vías aéreas y distales y los tejidos yuxta-alveolares, reproduciendo aspectos clínicos e histológicos de la lesión pulmonar aguda y del síndrome de distress respiratorio agudo.

4.8.1.1 Sobredistensión alveolar

En cada respiración, la presión necesaria para expandir los pulmones se compone, a su vez, de dos tipos de presiones, una que se generará para superar la resistencia de la vía aérea y otra para superar las propiedades elásticas de los pulmones. Cuando el flujo de aire es cero (como ocurre al final de la inspiración), la principal fuerza para mantener expandido el pulmón será la presión transpulmonar (la diferencia entre la presión alveolar y la presión pleural).

Son pocos los métodos de los que disponemos en la clínica para controlar la sobredistensión regional, utilizando habitualmente la limitación de la presión de insuflación del ventilador como estrategia equiparable para controlar la sobredistensión alveolar. La presión alveolar es relativamente fácil de valorar clínicamente y se corresponderá con la presión de la vía aérea durante un periodo de flujo cero. En un

paciente con ventilación mecánica que no hace esfuerzos espontáneos, la presión en la vía aérea que se mide durante el periodo en donde el flujo de aire se detiene al final de la inspiración es lo que se denomina presión plateau. Desafortunadamente, la presión pleural, la otra variable necesaria para medir la presión transpulmonar, es más difícil de obtener utilizando en la clínica la presión esofágica que, en ocasiones, resulta complicada de determinar y no se obtiene en todos los pacientes ventilados. De esta forma, la presión plateau es la más utilizada en la práctica clínica habitual como indicador de la sobredistensión pulmonar.

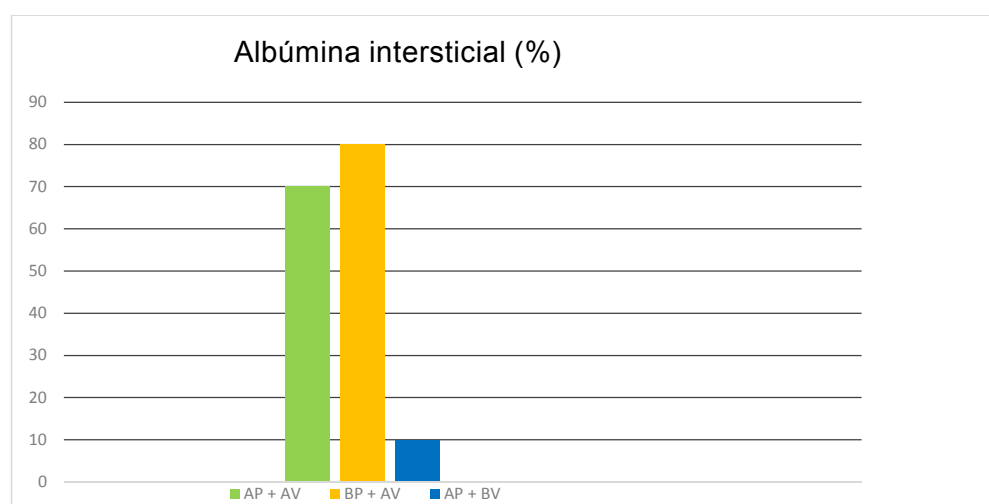
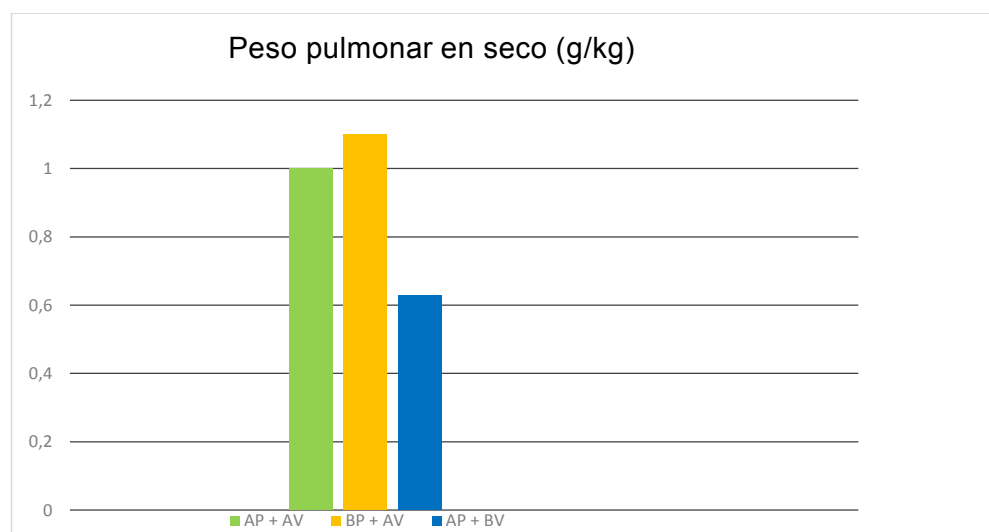
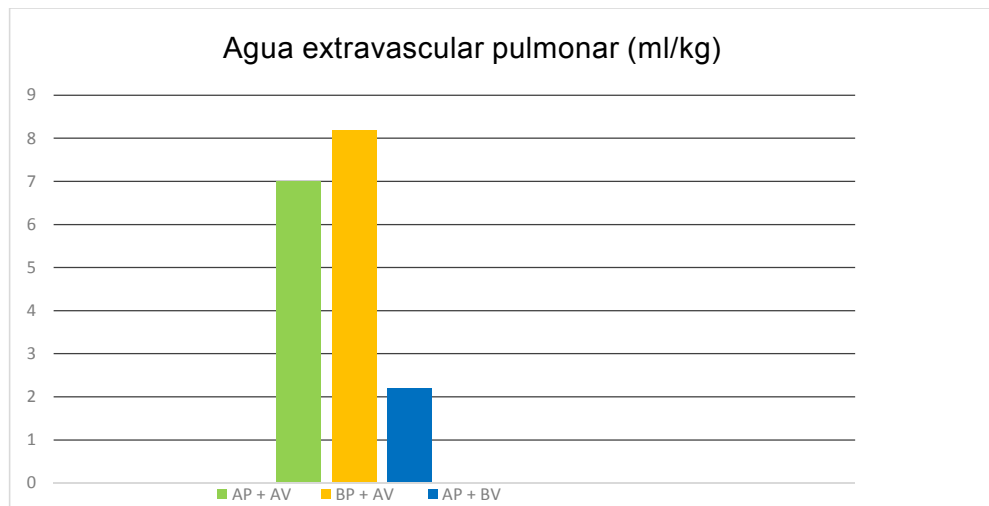
Por otra parte, hay matices que debemos tener en cuenta a la hora de interpretar los valores obtenidos de presión plateau. Si el paciente no está realizando esfuerzos respiratorios, la presión plateau representará la presión que se encarga de distender los pulmones y la caja torácica. En los casos en los que esta última ha perdido sus características normales y se encuentra, por ejemplo, rígida (secundaria a patologías que ocasionan restricción, como la presencia de ascitis, derrame pleurales, etc.), una gran parte de la presión entregada por el ventilador, se disipará en insuflar más la pared torácica que los pulmones, no siendo en estos casos las altas presiones en la vía aérea, valoradas a través de la presión plateau, indicativas de excesivas fuerzas de estiramiento (Slutsky y cols. 2013).

La lesión pulmonar ocasionada por una distensión alveolar excesiva conducirá a una elevada tensión en el alvéolo en cada insuflación del respirador y será la pieza clave para el desarrollo de la VILI. Por otro lado, la interacción de la pared torácica, relativamente rígida, y del abdomen con los pulmones, generan mayores tensiones y fuerzas (*stress* y *strain*) que el peso de los pulmones en sí como responsables de la deformación pulmonar. El análisis con microscopía láser de pulmones lesionados, indica la presencia de estructuras alveolares en dos estados, colapsadas y sobredistendidas, junto con un número variable de “bolsas” de aire de diferentes dimensiones rodeadas por líquido y edema (Hubmayr y cols. 2002). Los alvéolos llenos de líquido crean áreas con alta tensión superficial, generando unidades pulmonares inestables que se abren y

cierran continuamente por efecto de la ventilación mecánica. Este hecho es clave para desarrollar estrategias protectoras de ventilación mecánica y para manejar convenientemente a los pacientes sometidos a estas técnicas.

A nivel celular, la adaptación y respuesta de las células alveolares es más complicada. Desde un punto de vista mecánico, la barrera alveolo-capilar normal, cuando está sometida a tensión y a fuerzas de estiramiento, sufre, en primer lugar, una ruptura de las uniones interendoteliales, originando una fuga de proteínas al espacio intersticial. A medida que aumenta la tensión sobre las células, tanto el endotelio como el epitelio alveolar se rompen, y la fuga de proteínas origina el edema pulmonar (West y cols. 1991).

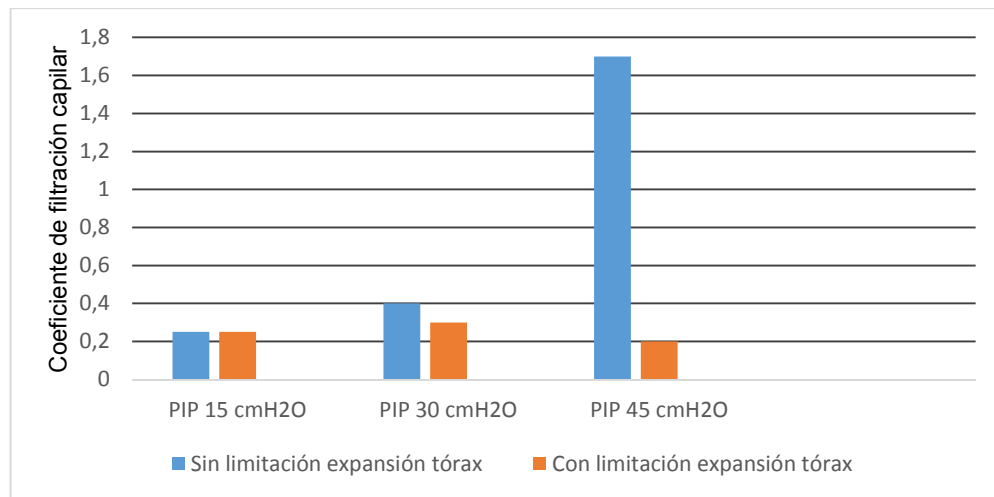
Diferentes estudios en animales demostraron que los VT altos utilizados son los responsables de la VILI, pero no las altas presiones empleadas, reemplazándose el término de barotrauma, que hacía referencia a la lesión producida por presiones altas, por el de volutrauma. En uno de estos experimentos (Dreyfuss y cols. 1995), tres grupos de ratas se ventilaron con distinta estrategia ventilatoria. Uno utilizando altas presiones y altos volúmenes *tidal*; otro con bajas presiones y altos volúmenes *tidal*; y el tercero con altas presiones y bajos volúmenes *tidal*. El único que no desarrolló lesión pulmonar fue aquel en el que se emplearon bajos volúmenes *tidal*. En este estudio se demostró que la lesión pulmonar inducida por la ventilación mecánica se desarrollaba en mayor grado como consecuencia de emplear altos volúmenes *tidal*, más que por el empleo de altas presiones inspiratorias (Gráficas I1, I2, I3).



Gráficas 11, 12, 13. Los efectos de varias modalidades de ventilación a presión positiva en ratas. El agua extravascular pulmonar, el peso pulmonar en seco y la albúmina a nivel intersticial son indicadores del desarrollo de lesión pulmonar. Estos trastornos se indujeron en ratas ventiladas con altas presiones y altos volúmenes *tidal* (AP + AV), bajas presiones y altos volúmenes *tidal*

(BP + AV), pero no en aquellos animales ventilados con altas presiones pero bajos volúmenes *tidal* (AP + BV).

En otro de los trabajos (Hernandez y cols. 1989), se valoró si el aumento de la permeabilidad capilar era el resultado de la sobredistensión pulmonar o debido a un efecto directo de la presión inspiratoria aplicada. Para ello compararon el coeficiente de filtración capilar (una medida de la permeabilidad capilar) en conejos en los que se utilizó ventilación mecánica con diferentes presiones inspiratorias (15, 30 o 45 cmH₂O) durante 1 hora. En uno de los grupos experimentales se limitó la expansión torácica por medio de un yeso que abarcaba todo el tórax y abdomen. El grupo en el que no se limitó la expansión torácica desarrolló lesión pulmonar secundaria a la ventilación mecánica a presiones inspiratorias de 30 y 45 cm H₂O, en los que se obtuvo un coeficiente de filtración capilar superior, en un 31% y 430 % respectivamente, al basal. El grupo en donde se limitó la expansión torácica no desarrolló lesión pulmonar con ninguna de las presiones utilizadas, no aumentando el coeficiente de filtración capilar (Gráfica I4), concluyendo los autores que la distensión pulmonar producida por el volumen, más que las presiones empleadas, producen daño microvascular en los pulmones. Estos hallazgos se confirmaron posteriormente en un estudio practicado en corderos, en el cual se apreció que la sobredistensión pulmonar incrementa la permeabilidad vascular a las proteínas (Carlton y cols. 1990).



Gráfica I4. Efecto de limitar la expansión torácica por medio de un yeso en el tórax sobre el desarrollo de VILI en conejos. Los conejos fueron ventilados con presiones inspiratorias pico (PIP) de 15, 30 o 45 cmH₂O. La lesión pulmonar se valoró por los cambios en el coeficiente de permeabilidad vascular. Los animales en donde no se limitó la expansión torácica experimentaron lesión pulmonar a niveles de PIP de 30 y 45 cmH₂O. Esta complicación se previno completamente en el grupo en donde se limitó la expansión torácica, indicando que la lesión pulmonar se debe a que los elevados volúmenes *tidal* inducen un incremento en la presión de vía aérea (volutrauma) y no porque se alcancen niveles elevados de presión *per se*.

Estos estudios experimentales revelan que la utilización de volúmenes inspiratorios altos, más que las presiones intratorácicas elevadas, por sí solos, originan lesión pulmonar inducida por la ventilación mecánica en animales con pulmones sanos. Existe también evidencia de que la sobredistensión alveolar puede inducir o exacerbar una lesión pulmonar en humanos. En un estudio observacional de 332 pacientes sometidos a ventilación mecánica, VT altos fueron identificados como factores independientes de riesgo para VILI (odds ratio 1,3, por cada ml que superase los 6 ml/kg peso ideal), junto con la transfusión de hemoderivados, la acidemia y la enfermedad restrictiva pulmonar previa (Gajic y cols. 2004). Por lo tanto, es el efecto negativo que produce sobre el pulmón la sobredistensión del tejido pulmonar más que la presión en la vía aérea lo que lesiona en mayor medida las unidades pulmonares.

4.8.1.2 Atelectrauma

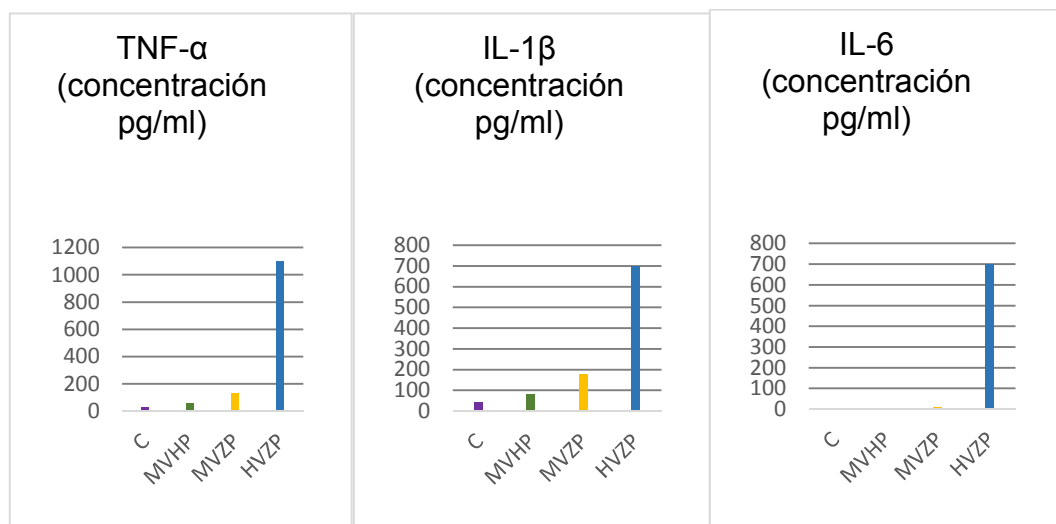
La expansión alveolar cíclica (durante la inspiración) y el colapso (durante la espiración) generan unas fuerzas que, por efectos de la distensión que generan, cizallan las estructuras alveolares y originan lesión pulmonar en modelos animales. Este fenómeno de apertura y cierre repetido ha servido como explicación para la formación de edema pulmonar. Este proceso, denominado atelectasias cíclicas o atelectrauma, se ve facilitado cuando se ventila sin PEEP o con un nivel inadecuado de la misma, dando lugar a fenómenos de carácter inflamatorio en el alvéolo.

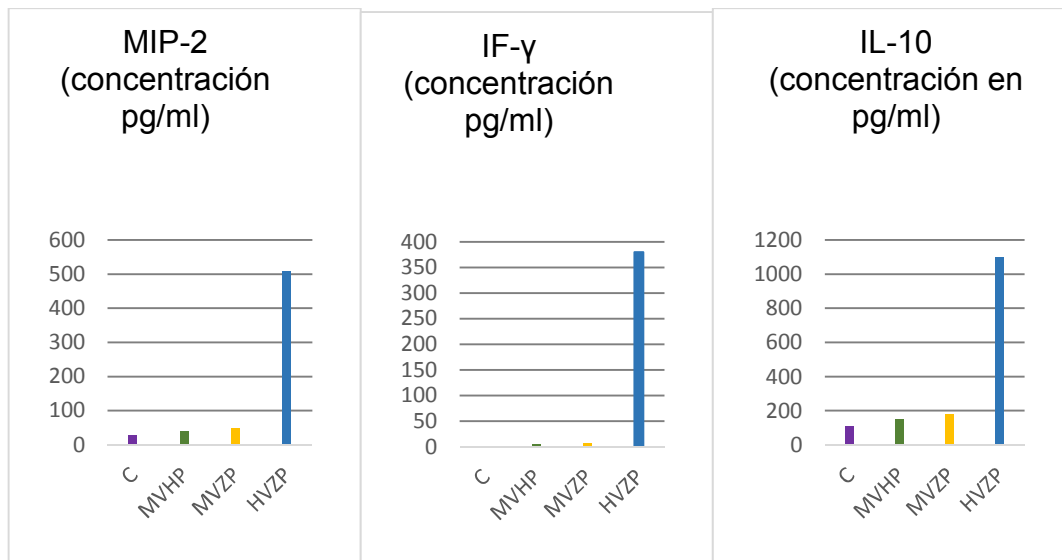
En estudios experimentales en animales y humanos en los que se empleó la ventilación mecánica con niveles bajos de PEEP se apreció cómo se producía elevación de los marcadores inflamatorios en el lavado broncoalveolar (BAL). En un trabajo en el que se compararon pacientes con SDRA con otros pacientes ventilados por otras causas y en el que se estudiaron ciertos parámetros que estaban relacionados con la migración transendotelial de células polimorfonucleares (a través de la expresión de moléculas de adhesión y de organización del citoesqueleto), se apreció cómo los PMN en sangre y en BAL se activaban, como lo demostraba el descenso en la expresión de la L-selectina CD62L, la disminución del contenido de F-actina y la elevación en la expresión de la beta2 integrina CD11b. Además, el grado de activación de polimorfonucleares aumentaba con el grado de lesión pulmonar y con el nivel de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), IL-6 e IL-8 (Chollet-Martin y cols. 1996).

En otro estudio experimental, en el que se analizó el agua extravascular pulmonar (EVLW) dependiendo de los niveles de PEEP y de los volúmenes *tidal* utilizados, se estudió a 21 cerdos a los que se les provocó un edema pulmonar con ácido oleico. Se distribuyeron en 3 grupos según la forma en la que se programaban los parámetros ventilatorios. En uno de los grupos se empleó un VT de 12 ml/kg sin PEEP, en otro grupo PEEP de 10 cmH₂O y VT de 12 ml/kg y en el último grupo se combinó PEEP de 10 cmH₂O y VT de 6 ml/kg. Se concluyó que en el grupo en el cual se utilizó

PEEP de 10 cmH₂O de forma precoz y VT de 6 ml/kg, el EVLW se redujo (Colmenero y cols. 1997).

En otro estudio, se emplearon diferentes estrategias ventilatorias para valorar la liberación de mediadores inflamatorios y cómo se veía esto afectado dependiendo de diferentes niveles de PEEP empleada. Los autores establecieron 4 grupos de animales (ratas Sprague-Dawley): grupo control (C) que se ventiló con VT de 7 ml/kg y PEEP de 3 cmH₂O, grupo con moderado VT y alta PEEP (MVHP: VT de 15 ml/kg y PEEP de 10 cmH₂O), grupo de moderado VT y sin PEEP (MVZP: VT de 15 ml/kg y PEEP de 0 cmH₂O) y, por último, el grupo con alto volumen y sin PEEP (HVZP: VT de 40 ml/kg y PEEP de 0 cmH₂O). Se observó que la combinación de 0 cmH₂O de PEEP con VT altos (40 ml/kg) producía un aumento en la concentración de mediadores inflamatorios (TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-10, IFN- γ MIP-2 -proteína inflamatoria de los macrófagos- medidos por ELISA) en el lavado pulmonar que podía llegar hasta 56 veces con respecto al grupo control. Si, por el contrario, se empleaba PEEP (grupo MVHP), la liberación de, por ejemplo, TNF- α solo era 3 veces superior con respecto al grupo control (Tremblay y cols. 1997) (Gráfica I5).



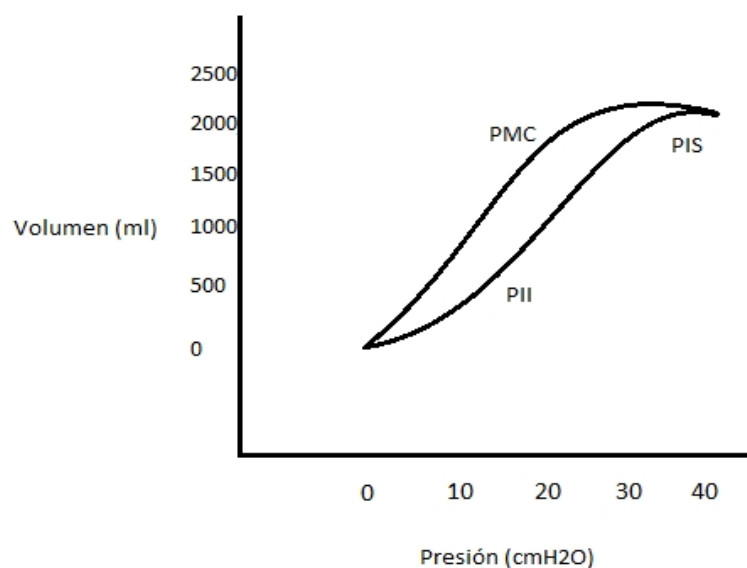


Gráfica 15. Efecto de diferentes estrategias ventilatorias sobre la producción de citoquinas en el lavado pulmonar de ratas. C: Grupo control (7 ml/kg y PEEP de 3 cmH₂O); MVHP: VT de 15 ml/kg y PEEP de 10 cmH₂O; MVZP: VT de 15 ml/kg y PEEP de 0 cmH₂O y HVZP VT de 40 ml/kg y PEEP de 0 cmH₂O.

Este estudio, que sirve también para enlazar con el siguiente apartado referente al biotrauma, apoya el concepto de que la ventilación mecánica puede tener una influencia significativa sobre la liberación de mediadores inflamatorios y que juega un papel crucial en el inicio de una posible respuesta inflamatoria sistémica. Además, con el empleo de PEEP y la limitación de los fenómenos de roce, comentados con anterioridad, se puede disminuir este fenómeno.

Por lo tanto, cierto nivel de PEEP es beneficioso para limitar la aparición de VILI, coincidiendo la mayoría de los estudios en que la PEEP debería establecerse basándose en el análisis de la curva presión-volumen (curva P-V) y de su punto de inflexión inferior. Esta curva (Gráfica 16) es la representación gráfica del volumen pulmonar para una presión estática determinada (en ausencia de flujo en la vía aérea). En el eje de ordenadas se representa el volumen y en el de abscisas la presión. En el caso de la lesión pulmonar, la curva tiene una morfología sigmoidea en la que se pueden

diferenciar, en su parte inspiratoria, dos puntos de máxima curvatura en los que la distensibilidad cambia con mucha rapidez. Son los denominados puntos de inflexión, uno inferior y otro superior. El punto de inflexión inferior (PII) corresponde con el volumen y presión a la cual existe un mayor aumento de la distensibilidad del sistema respiratorio. Este punto reflejaría la reexpansión del parénquima atelectásico y ha sido considerado como el punto de mínima presión requerida para reclutar un alvéolo colapsado. El nivel de PEEP a partir de este punto mejora la oxigenación en pacientes con lesión pulmonar (Suter y cols. 1975, Matamis y cols. 1984). En cambio, el punto de inflexión superior reflejaría el inicio de la sobredistensión alveolar e indicaría qué presión no se debe superar. En los últimos años también se ha prestado atención a la rama espiratoria de la curva P-V y al punto de inflexión que en ella aparece, denominado punto de máxima curvatura (PMC), como la zona en la que comenzaría el desreclutamiento alveolar (Albaiceta 2009).



Gráfica 16. Curva P-V. PII: Punto de inflexión inferior. PIS: Punto de inflexión superior. PMC: Punto de máxima curvatura.

Una crítica al uso de la curva presión-volumen es que no tiene en cuenta aumentos de la presión pleural o intraabdominal.

Con el objetivo de inducir colapso alveolar y valorar si niveles de PEEP ajustados según el punto de inflexión de la curva P-V mejoraban la oxigenación, se estudió a 16 conejos a los que se les realizó, de forma repetida, lavados bronco-alveolares para disminuir sus niveles de surfactante. A 8 de esos animales se les ventiló con PEEP por debajo del PII y a los 8 restantes con PEEP ajustada según este PII. Se observó cómo, en este último grupo, la oxigenación arterial era mejor y cómo en el grupo con menor PEEP existía mayor incidencia de membranas hialinas (Argiras y cols. 1987). Similar conclusión referente a la mejora de la oxigenación cuando se ajustaba la PEEP según el PII se obtuvo en un experimento realizado con posterioridad. En cambio, a diferencia del primero de los estudios no se apreciaron cambios histológicos significativos (Sohma y cols. 1992). Estos experimentos han sido cuestionados haciendo referencia a que el PII representa solo el inicio del reclutamiento alveolar y que no se ha encontrado una correlación entre el PIS y la sobredistensión alveolar (Lichtwarck-Aschoff y cols. 2000). Es por ello por lo que actualmente se pretende estudiar el PMC de la rama espiratoria al asumir que la PEEP es un fenómeno espiratorio. Una estrategia ventilatoria dirigida a evitar completamente el colapso alveolar podría utilizar este punto como referencia a la hora de pautar la PEEP. De todas formas, se han obtenido excelentes resultados clínicos en pacientes con SDRA cuando se administra de forma precoz una estrategia ventilatoria basada en VT bajos (5-8 ml/kg peso ideal) y en valores de PEEP por encima de 2 cmH₂O del PII (Villar y cols. 2006).

4.8.1.3 Barotrauma

El barotrauma fue el primero de los mecanismos determinantes de la VILI que se describió. En 1745, Fothergill advirtió de la presencia de barotrauma en su estudio sobre la resucitación de un hombre mediante la insuflación pulmonar (Fothergill 1745). Como consecuencia de presiones transpulmonares altas se produce la ruptura de los alvéolos y fugas aéreas secundarias, en forma de neumotórax, neumomediastino, neumoperitoneo o enfisema subcutáneo. Con anterioridad comentamos que la presión

plateau es la medida más relevante para prevenir el barotrauma producido por la VM. La incidencia de barotrauma aumenta de manera significativa en pacientes con Pplat >35 cmH₂O, lo cual se reflejó en un metaanálisis de 14 estudios (2270 pacientes con SDRA) que demostró la relación entre barotrauma y Pplat >35 cmH₂O o distensibilidad ≤30 ml/cmH₂O (Boussarsar y cols. 2002). De todas formas, el punto crucial en la génesis de la VILI es la sobredistensión pulmonar (volutrauma) y no el aumento de la presión por sí misma.

4.8.1.4 Biotrauma

Los efectos adversos de la ventilación mecánica se pensaba que eran debidos solo a factores mecánicos, como los efectos hemodinámicos secundarios a la disminución del retorno venoso o el barotrauma producido por la sobredistensión alveolar. Posteriormente, las investigaciones han revelado otros tipos de VILI, como son el daño alveolar difuso o la liberación de mediadores inflamatorios, definido esto como biotrauma (Tremblay y cols 1998). Este término hace referencia al tipo de reacción biológica que se produce en respuesta a fuerzas mecánicas. Las estrategias ventilatorias que han demostrado ser lesivas para el pulmón ocasionarían la liberación de mediadores inflamatorios y la activación del sistema inmune. Con el estudio de los mecanismos relacionados con la activación del sistema inmune por la ventilación mecánica se desarrolla el concepto de mecano-transducción (Uhlir 2002). Este término se utiliza para describir los procesos de señalización celular que aparecen en respuesta a fuerzas mecánicas externas. Los receptores transmembrana tales como las integrinas, los canales iónicos y el citoesqueleto *per se* destacan como los principales responsables en detectar estas señales mecánicas para comenzar con determinados procesos celulares.

Estos planteamientos ayudan a entender el porqué la mayoría de los pacientes con SDRA no fallezcan por hipoxemia, sino tras el desarrollo de un cuadro de disfunción multiorgánica que, al igual que afecta al pulmón, involucra a otros órganos (Plötz y cols.

2004). En estudios anteriores, en los que se utilizaron ovejas que se ventilaron con presiones pico de 50 cmH₂O (correspondiente a un VT de 50-70 ml/kg), se observó cómo fallecían por fallo multiorgánico en las 48 horas siguientes de entrar en el estudio (Kolobow y cols. 1987).

Numerosos estudios han aportado evidencia al hecho de que la ventilación mecánica en pulmones enfermos puede exacerbar la lesión pulmonar aguda presente y originar una respuesta inflamatoria. La mayoría de los estudios experimentales demuestran que la sobredistensión pulmonar y/o los fenómenos cíclicos de apertura y cierre alveolar pueden ocasionar un incremento en la liberación de citoquinas (Halbertsma y cols. 2005). A esto se añade que, al estar aumentada la permeabilidad pulmonar, estas citoquinas pueden experimentar fenómenos de translocación y pasar del alvéolo a la circulación sistémica. La lesión pulmonar y la respuesta inflamatoria forman un proceso complejo en el que las citoquinas juegan un papel importante. Las citoquinas son proteínas de bajo peso molecular que establecen señales entre las células involucradas en la respuesta inflamatoria. Se producen por las células epiteliales bronquiales, bronquiolares y alveolares, pero también por los macrófagos alveolares y los neutrófilos. El balance entre las citoquinas pro-inflamatorias como el TNF- α , IL-1, IL-6 e IL-8 y las anti-inflamatorias, como la IL-2, IL-4, es esencial para dirigir la respuesta inmune.

En un experimento en donde se sometió a células pulmonares aisladas (macrófagos alveolares) a fenómenos cíclicos de estiramiento, se apreció como existía un aumento en la liberación de mediadores inflamatorios, incluyendo el TNF- α , IL-6 e IL-8 (Pugin y cols. 1998). La principal fuente de estas citoquinas son los macrófagos alveolares y se ha visto que el TNF- α e IL-1 inducen la activación del factor de transcripción NF- κ B, proteína de unión a ADN que actúa como mensajero común en la liberación de las citoquinas y la inflamación y cuyo bloqueo disminuye la aparición de VILI. Esto se considera un paso crucial en la transcripción de genes necesarios para perpetuar la respuesta inmunitaria innata que finalmente se traduce en la activación y

extravasación de leucocitos polimorfonucleares y de otras células inmunitarias, un proceso que comienza en los primeros minutos del inicio de la ventilación mecánica. La dexametasona previene el incremento de IL-8, TNF- α y NF- κ B (Held y cols. 2001).

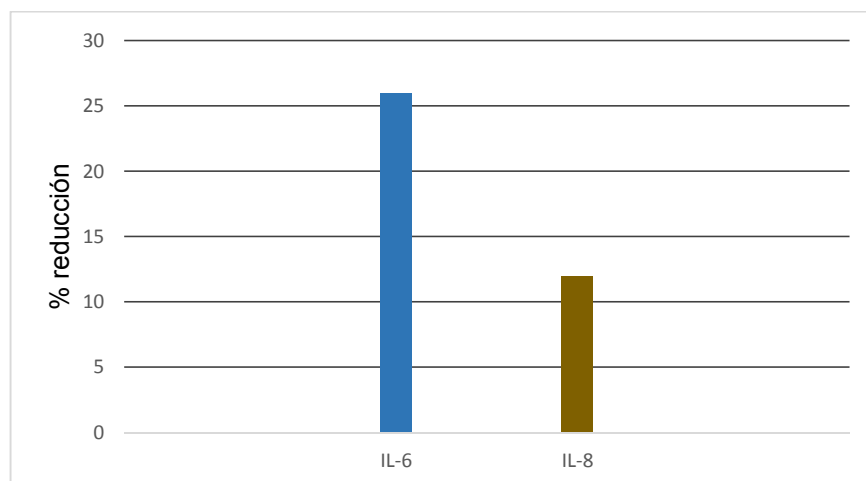
Los leucocitos son principalmente activados y atraídos a los pulmones por medio de las quimioquinas y por la IL-8 (Puneet y cols. 2005). Además, si empleamos productos con actividad quimiotáctica de PMN, como el leucotrieno B₄, no se ocasiona lesión pulmonar al no aumentar la permeabilidad a las proteínas de la barrera epitelial (Martin TR y cols. 1989), indicando que otros factores, posiblemente las citoquinas, son necesarias para activarlos. Esta activación y atracción de leucocitos es un aspecto muy importante en el biotrauma. En estudios experimentales utilizando animales con PMN poco activos se apreció una reducción significativa del grado de VILI (Kawano y cols. 1985). Esto sugiere que los mediadores liberados desde los neutrófilos juegan un papel importante en la VILI.

Otro aspecto importante en la VILI es la relación existente entre las citoquinas y el surfactante. La disfunción del surfactante, o su déficit, es un aspecto relevante en la lesión pulmonar. La inflamación y, más específicamente, las citoquinas como el TNF- α y la IL-1 disminuyen el surfactante y, directa o indirectamente, inducen filtrado alveolar de proteínas que secundariamente inhiben la función del surfactante (Rimensberger 2002).

En estudios en humanos también se ha visto que el biotrauma es un factor importante en el desarrollo de VILI y que la VM puede inducir la liberación de mediadores de la inflamación que puede ser limitada utilizando estrategias ventilatorias que minimicen la sobredistensión y los fenómenos de reclutamiento y desreclutamiento alveolar. En un estudio aleatorizado en pacientes con SDRA, en un grupo se utilizó una estrategia ventilatoria convencional (VT de 10-12 ml/kg y PEEP para producir la mejor oxigenación sin producir trastornos hemodinámicos) y en el otro grupo se ventiló a los pacientes con una estrategia protectora diseñada para minimizar la tensión sobre el pulmón (VT que produjese una P_{plat} por debajo del punto de inflexión superior y PEEP

por encima del punto de inflexión inferior). Los autores apreciaron como hubo un descenso significativo de citoquinas en el lavado broncoalveolar y en el suero en el grupo tratado con ventilación protectora (Ranieri y cols. 1999).

De forma similar, en un estudio posterior también se apreció un descenso (Gráfico 17)) de la IL-6 y de la IL-8 (de un 26% y 12% respectivamente) en el grupo de pacientes ventilados con VT de 6 ml/kg peso ideal ($P_{plat} < 30$ cmH₂O) frente a los ventilados con VT de 12 ml/kg peso ideal ($P_{plat} < 50$ cmH₂O). Además, los niveles de IL-6 e IL-8 se asociaron con un aumento de la mortalidad mientras que el volumen *tidal* bajo se asoció con una atenuación más rápida de la respuesta inflamatoria (Parsons y cols. 2005).



Gráfica 17. Porcentaje de reducción de la IL-6 e IL-8 en el grupo ventilado con VT 6 ml/Kg con respecto al que empleó un VT de 12 ml/kg.

En otro estudio, en el que a pacientes con lesión pulmonar aguda que recibían una ventilación protectora (VT 5 ml/kg y PEEP de 15 cmH₂O), se ventilaron con VT de 12 ml/kg y PEEP de 5 cmH₂O durante 6 horas, se apreció una elevación de las citoquinas plasmáticas y en el lavado broncoalveolar dentro de la primera hora del cambio de parámetros ventilatorios (Stüber y cols. 2002).

Para estudiar cómo la VILI puede afectar a órganos a distancia, Liu YY y cols. (2014) ventilaron a un grupo de ratas con un VT de 40 ml/kg para inducir VILI y otro grupo con un VT de 6 ml/kg, encontrando que en el primer grupo con respecto al segundo se elevaron los mediadores inflamatorios en el BAL, hígado, riñón y corazón.

En el siguiente esquema se presenta un modelo de lesión pulmonar (Figura 19) relacionando la tensión y estiramiento de la pared alveolar por la ventilación mecánica con la inflamación (Marini y cols. 2004)

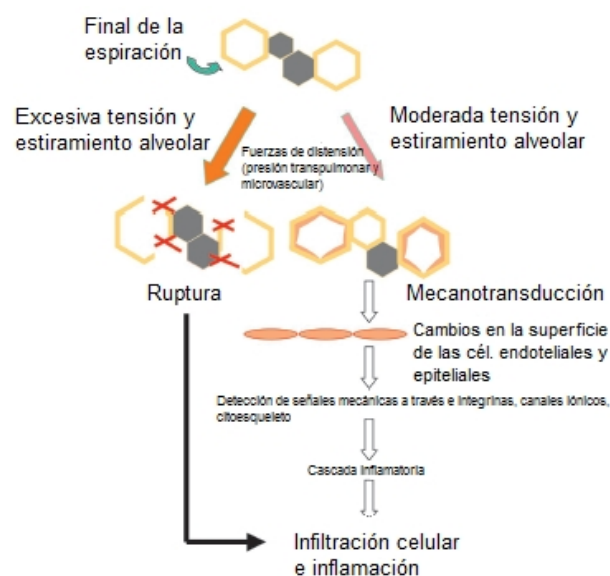


Figura 19. Modelo de lesión pulmonar.

4.8.1.5 Interrelación de acontecimientos

Cuando la ventilación ocurre a bajos volúmenes pulmonares, la lesión pulmonar puede originarse por la apertura y cierre de las unidades alveolares que ocasionan el denominado atelectrauma y que se magnifica por la heterogeneidad pulmonar. La existencia en el pulmón de zonas heterogéneas, con atelectasias al lado de zonas aireadas, provocan durante la insuflación grandes fuerzas de estiramiento que agravan la lesión pulmonar. Estas presiones de cizallamiento (*shear stress*) se producen por la amplificación de la presión inspiratoria en un alvéolo abierto, cuando este se encuentra

al lado de otro colapsado. Además, debido al daño de la barrera epitelial y del endotelio capilar, se pierde el surfactante perialveolar, lo que hace al alvéolo más proclive al colapso.

Por otro lado, la ventilación mecánica que ocasiona sobredistensión alveolar aumentará la permeabilidad de la barrera alveolo-capilar y el edema pulmonar y la aplicación de excesiva presión al alvéolo conducirá a la rotura del epitelio alveolar. El aire pasa al espacio intersticial, desde el cual sigue los planos de tejido, para acumularse en el mediastino, pleura, peritoneo o regiones subcutáneas.

Por lo tanto, la VM aplicada de forma lesiva originará unas alteraciones estructurales (desprendimiento de células epiteliales bronquiales y alveolares, formación de una membrana hialina rica en proteínas, etc.), biológicas (adherencia de neutrófilos al endotelio vascular dañado, liberación de mediadores pro y anti-inflamatorios, etc.), fisiológicas (entre otras, hipoxemia, hipercapnia, disminución de la distensibilidad) y sistémicas (por fenómenos de translocación bacteriana que pueden desencadenar en fallo multiorgánico).

En las siguientes figuras I10, I11, I12 se muestra la secuencia de estos hechos (Slutsky y cols. 2013).

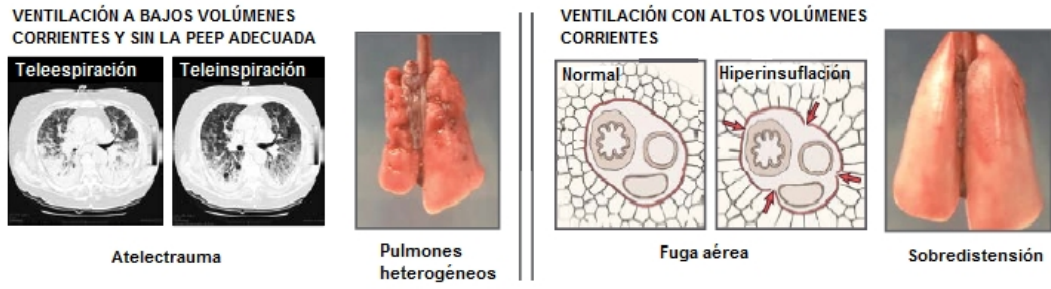


Figura I10

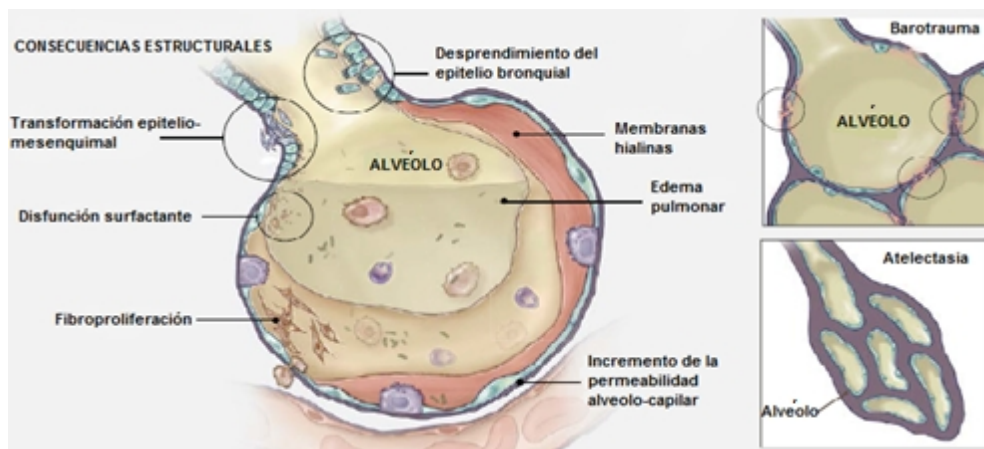


Figura I11

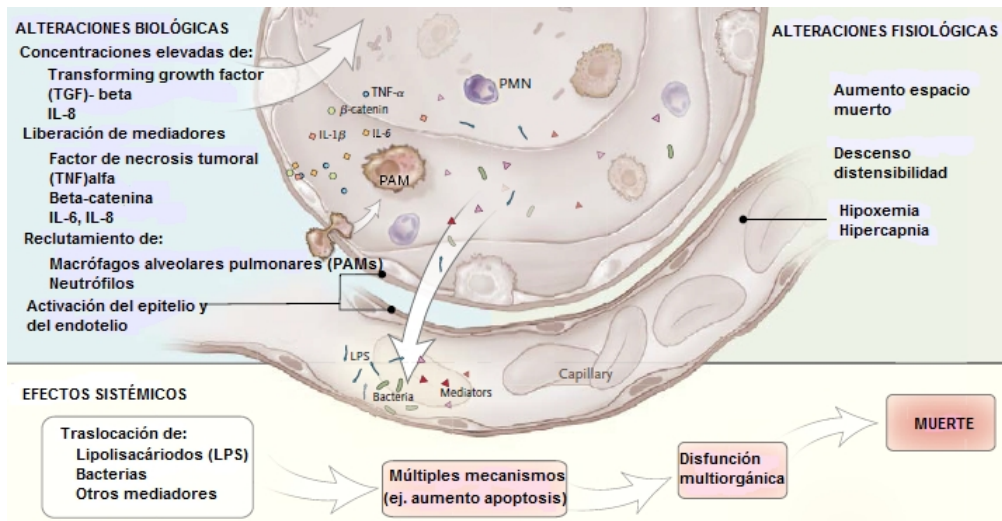


Figura I12

Figuras I10, I11, I12. Desde el atelectrauma y la sobredistensión alveolar al biotrauma.

4.9 LESIÓN PULMONAR ASOCIADA A LA HIPEROXIA (HALI)

El descubrimiento de O₂ en el siglo XVIII y su vinculación con el metabolismo levantó rápidamente especulaciones sobre su uso potencial para el tratamiento de enfermedades cardíacas y pulmonares. Casi al mismo tiempo comenzó la preocupación de que la utilización de O₂ puro podía causar daño pulmonar. Ahora, casi 240 años después del descubrimiento del O₂, el límite superior médicamente seguro y la duración de la fracción inspirada de O₂ (FiO₂) continúan resultando inciertos. Según los estudios que se han realizado en animales y en humanos, altas concentraciones de oxígeno pueden causar un amplio abanico de lesiones a nivel pulmonar, desde una afectación leve del árbol traqueo-bronquial hasta el desarrollo de un daño alveolar difuso (Deneke y cols. 1980), siendo esto último indistinguible del SDRA.

En la segunda mitad de la década de 1960 se describió cómo la exposición a FiO₂ elevadas utilizadas durante la ventilación mecánica alteraba el intercambio gaseoso y ocasionaban alteraciones estructurales del aparato respiratorio a distintos niveles (Nash y cols. 1967). Estos autores apreciaron un mayor grado de lesiones pulmonares en aquellos pacientes ventilados durante más de 10 días con FiO₂ mayor de 0,9. Los pulmones de estos pacientes presentaban cambios histológicos similares a los descritos con anterioridad en modelos animales con lesión pulmonar asociada a la hiperoxia (HALI), caracterizados por una fase exudativa que progresaba a una fase proliferativa o fibrótica. Entre los mecanismos involucrados en la aparición de estas alteraciones funcionales en humanos están sobre todo los mecánicos, consistentes en la producción de atelectasias por reabsorción, la hipercapnia hiperóxica, el daño del epitelio bronquial con aparición de bronquitis hiperóxica y la disminución de la eficacia del epitelio ciliar y de la función bactericida bronquial. Como consecuencia de todos estos fenómenos se originan alteraciones funcionales consistentes en la disminución de la distensibilidad pulmonar, alteración de la mecánica pulmonar y empeoramiento del intercambio gaseoso, además de un aumento de la susceptibilidad a la infección.

Los radicales libres de oxígeno pueden promover una respuesta inflamatoria con la liberación de citoquinas y factores de crecimiento endotelial que ocasione daño celular y apoptosis. Dentro de los sistemas fisiológicos antioxidantes, existen tres procesos enzimáticos que tienen lugar en las células de los animales para metabolizar el oxígeno:

- 1.- La superóxido-dismutasa (SOD) convierte el anion superóxido en especies menos lesivas, como el peróxido de hidrógeno (Figura 11). La SOD existe a nivel extracelular, citoplasmático (conteniendo manganeso), y mitocondrial (conteniendo cobre y zinc). En aquellas situaciones en las que se administran altas concentraciones de O₂ durante largo tiempo, la SOD ofrece protección frente al exceso de ROS. Los intentos de incrementar artificialmente los niveles de SOD para proporcionar esta protección en estados de enfermedad han sido en su mayoría infructuosos. La perspectiva de desarrollar moléculas que catalizan la misma reacción, miméticos de SOD, es una potencial vía terapéutica para el futuro.
- 2.- La catalasa tiene una distribución similar a la SOD y convierte el peróxido de hidrógeno en moléculas menos dañinas (Figura 113).
- 3.- La glutatión-peroxidasa reacciona también frente a las ROS y detiene las reacciones de peroxidación lipídica, utilizando como catalizador al glutatión reducido (dos moléculas de glutatión-peroxidasa son oxidadas a una molécula de glutatión reducido), produciendo agua.

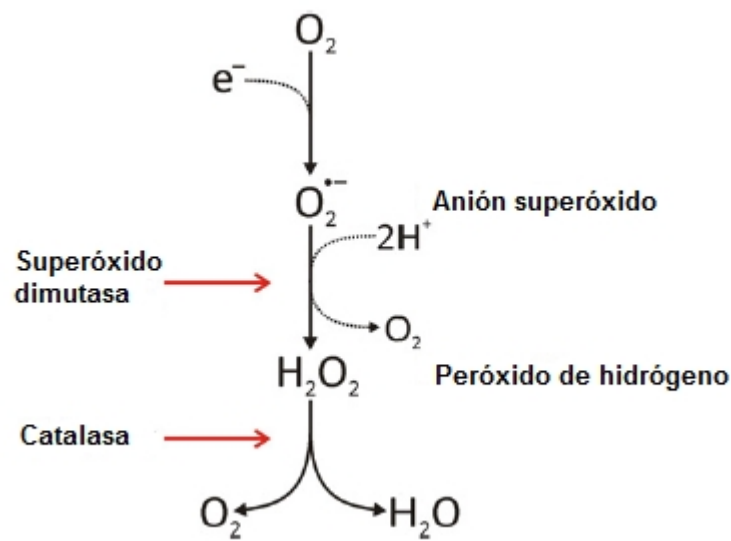


Figura I13. La reducción del oxígeno a agua catalizada por 2 sistemas enzimáticos antioxidantes.

Aunque la hiperoxia daña tanto al epitelio alveolar como a los macrófagos y el endotelio vascular, esto puede ocurrir a través de distintos pasos. Un hallazgo continuo en modelos animales es la apreciación de que el endotelio vascular es más susceptible a la hiperoxia, siendo además el daño más extenso y manifestándose temporalmente antes que el daño en el epitelio alveolar, entre 40-60 h antes (Crapo y cols. 1980). El daño endotelial ocasiona agregación plaquetaria a lo que sigue la infiltración neutrofílica, aspectos ambos que se relacionan con la generación de especies reactivas de oxígeno que dan lugar a una lesión secundaria.

La susceptibilidad del endotelio capilar a la hiperoxia puede estar relacionada con su mayor actividad en la regulación de numerosas sustancias vasoactivas que pasan a través de la circulación pulmonar (serotonina, noradrenalina, bradiquinina, angiotensina, prostaglandinas, activador del plasminógeno tisular, etc.). También, el endotelio es una fuente de óxido nítrico que puede potenciar la lesión celular por medio de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno. Hay que considerar que la ventilación mecánica utilizando parámetros ventilatorios que ocasionen sobredistensión y

deformación alveolar también afecta al metabolismo endotelial, lo que unido a la alteración descrita puede exacerbar la HALI. Por último, el endotelio vascular no posee la misma capacidad de producción de sustancias antioxidantes como la que tienen las células alveolares.

Tras la lesión inicial ocasionada tanto a nivel endotelial como epitelial, se libera IL-1 la cual inicia la producción y liberación de otras citoquinas, como la IL-6 y la IL-8. Sucesivamente, estas citoquinas estimulan la liberación de otras moléculas que atraen y activan a neutrófilos, macrófagos y otras células inflamatorias, ocasionando un aumento de la permeabilidad vascular y de la producción de especies reactivas de oxígeno. Las citoquinas antiinflamatorias, como la IL-10, IL-11, IL-13, y algunos factores de crecimiento están sobreestimulados en respuesta a esta hiperoxia, en particular la IL-11, que parece que limita la peroxidación lipídica y la permeabilidad capilar-alveolar, así como el daño sobre el ADN. Entre estos factores de crecimiento está el factor de crecimiento del endotelio vascular (cuya producción está estimulada por la hiperoxia) o el factor de crecimiento queratinocítico, el cual puede inducir la hiperplasia de las células alveolares tipo II, lo cual caracteriza la respuesta adaptativa a la hiperoxia crónica. Además, estos factores de crecimiento disminuyen el daño sobre el ADN y pueden proteger al epitelio alveolar y al endotelio vascular. Estas citoquinas y factores de crecimiento ejercen un efecto protector ya sea por la liberación de mecanismos de defensa antioxidante como por la atenuación de las vías de señalización de muerte celular (Bhandari y cols. 2006).

En diferentes modelos de pulmones hiperóxicos se ha visto un incremento de la actividad de la caspasa, que se considera como una vía irreversible de la apoptosis. Así, se ha demostrado un papel crítico de la activación de la caspasa-8 en el desarrollo de esta muerte celular (Wang X y cols. 2003). Un paso clave en el HALI es el relacionado con el desencadenamiento (*triggering*) de la apoptosis, o muerte celular programada, a partir de moléculas de señalización que instruyen a la célula a destruirse. Por el contrario, la necrosis, o muerte celular no programada, ocurre secundaria a la lesión que

produce peroxidación lipídica en la membrana celular, disfunción enzimática y fragmentación del ADN. El comienzo de la apoptosis ocurre a través de una vía extrínseca y de otra intrínseca. En la primera de ellas están involucrados los receptores de la superficie celular que activan las proteasas (enzimas que inician el catabolismo), como la caspasa-8. La vía intrínseca se cree que es más importante durante el HALI y se inicia tras el daño que sufre la membrana de la mitocondria por las especies reactivas de oxígeno y la liberación de citocromo C dentro del citoplasma, lo que origina la activación de la caspasa 9 (a través de la activación del factor activador de la proteasa apoptótica). Frente a estas señales de apoptosis, estudios recientes evalúan la participación de vías de señalización antiapoptótica como la que se realiza a través de TLR4 (*tool-like receptor 4*), que se relaciona con la inmunidad innata y cuya deficiencia se ha relacionado con mayor mortalidad por HALI, como se demostró en un modelo de ratón sometido a hiperoxia y en el cual el déficit de TLR4 facilitó la susceptibilidad a la hiperoxia (Zhang y cols. 2005).

4.10 PREVENCIÓN DE VILI

Hace algo más de 50 años, un trabajo realizado en pacientes quirúrgicos demostró que el empleo de volúmenes *tidal* altos (>10 ml/kg peso ideal) durante la intervención quirúrgica producía menos acidosis e hipoxemia (Bendixen y cols. 1963). Estos hallazgos fueron muy importantes para la época debido, entre otros aspectos, a la falta de monitorización existente, y el empleo VT de 10-12 ml/kg supuso un estándar en el manejo ventilatorio de todos los pacientes (quirúrgicos o no). El empleo de VT altos, como ya hemos comentado, lesiona el pulmón a través del aumento de la presión transmitida al alvéolo o presión transpulmonar.

En 1995 se publicó el primer estudio prospectivo aleatorizado que comparó en 28 pacientes, la estrategia de ventilación mecánica convencional para el SDRA (VT de 12 ml/kg, mínima PEEP, normocapnia) con una nueva técnica de ventilación de protección pulmonar que se basaba en volúmenes *tidal* bajos (VT 6ml/kg), PEEP por encima del PII de la curva P/V, mantener una presión diferencial entre la Pplateau y la PEEP (*driving pressure*) menor de 20 cmH₂O, hipercapnia permisiva y empleo de modos de ventilación controlados por presión. Con esta estrategia protectora se apreció una mejoría de la función pulmonar y mayores posibilidades de destete de la ventilación mecánica (Amato y cols. 1995). Esta estrategia ventilatoria se validó posteriormente en un estudio que incluyó a 53 pacientes con SDRA. Los parámetros ventilatorios empleados fueron, en el grupo de ventilación protectora, VT 6 ml /kg, *driving pressure* y presión pico de en la vía aérea por debajo de 20 y 40 cmH₂O respectivamente y PEEP 2 cmH₂O por encima del PII. En el grupo de ventilación convencional se empleó VT 12 ml/kg, presión parcial de CO₂ entre 35-38 mmHg y PEEP titulada a la mejor PaO₂/FiO₂. Este estudio apreció una mejoría de la supervivencia a los 28 días en el grupo de ventilación protectora (mortalidad 38%) frente al grupo de ventilación convencional (mortalidad 71%), mayor éxito en el destete de la ventilación mecánica (66% en el que

se utilizó ventilación protectora frente a un 29% del grupo control) y una baja tasa de barotrauma (7% en el grupo a estudio frente a 42% en el grupo ventilación convencional) (Amato y cols. 1998). Posteriormente, en un estudio prospectivo sobre 861 pacientes con SDRA se confirmó una reducción del 22% en la mortalidad de esta estrategia respecto a la convencional (The Acute Respiratory Distress Syndrome Network, 2000).

Por lo tanto, podemos decir que la prevención de la VILI podría, básicamente, abordarse a partir de dos enfoques: 1) limitando la sobredistensión y deformación alveolar a través de la reducción del VT y, de esta forma, del volumen pulmonar teleinspiratorio (lo cual puede ser evaluado indirectamente por la presión plateau); y 2) reduciendo la apertura y cierre alveolar (atelectrauma) gracias a la utilización de una PEEP adecuada.

Mientras que el primero de los abordajes es, actualmente, incuestionable gracias a estudios en los que se ha demostrado que la reducción de la mortalidad en pacientes con SDRA es debido, entre otros aspectos, a la disminución del VT, el segundo de los planteamientos ha sido más difícil de demostrar y continúa siendo debatido. Estudios clínicos de alta calidad (Brower y cols. 2004, Meade y cols. 2008 y Mercat y cols. 2008), no han podido demostrar que estrategias en las que se utilizan niveles altos de PEEP mejoren la supervivencia. Aunque un metaanálisis (Briel y cols. 2010) de estos ensayos clínicos demostró una reducción del riesgo relativo de mortalidad en los pacientes más graves (aquellos que presentaban SDRA frente a los que tenían lesión pulmonar aguda sin SDRA), cuando se utilizaban niveles altos de PEEP, esto no se puede tomar como prueba definitiva, aunque sí como hipótesis para ser estudiada por otros estudios randomizados.

A estos dos enfoques podríamos añadir un tercero, que sería el del control de la FiO_2 utilizada para evitar que el oxígeno sea también otro factor determinante de la VILI.

Por otro lado, no parece recomendado emplear en todos los pacientes intubados y conectados a ventilación mecánica sin SDRA una ventilación protectora (VT entre 4-8 ml/kg del peso ideal). Sí sería conveniente, en pacientes con factores de riesgo de

desarrollar lesión pulmonar una estrategia ventilatoria que limite el VT a 6-8 ml/kg peso ideal. Entre estos factores de riesgo se situaría, entre otros, a los pacientes politraumatizados, aquellos que han precisado politransfusión de hemoderivados, los pacientes sépticos o a los pacientes sometidos a cirugías de alto riesgo, tanto en el intraoperatorio como si en el postoperatorio deben permanecer conectados a ventilación mecánica. En el resto de pacientes sometidos a ventilación mecánica y que no presenten factores de riesgo de LPA/SDRA, el empleo de VT por debajo de 10 ml/kg puede ser suficiente.

Actualmente está en curso un estudio multicéntrico en pacientes sin SDRA ingresados en Unidades de Críticos, conectados a VM con una expectativa de seguir ventilados mayor de 24 h, en los que se estudiarán dos estrategias ventilatorias, una con un VT entre 4-6 ml/kg peso ideal y otra con un VT entre 8-10 ml/kg peso ideal. El objetivo principal de este estudio es investigar el número de días en que los pacientes están sin ventilación mecánica y la supervivencia a los 28 días (Simonis y cols. 2015).

Como la utilización de VT bajos puede inducir al desreclutamiento alveolar y a la formación de atelectasias, la alternativa a emplear VT altos para evitar esta complicación es por medio del empleo de niveles moderados de PEEP. A diferencia de los pacientes con SDRA, que tienen una cantidad importante de pulmón reclutable y mayores requerimientos de oxigenación, los pacientes sin SDRA no necesitan niveles elevados de PEEP para conseguir estos objetivos, sugiriéndose que en los pacientes sin LPA/SDRA, pero con factores de riesgo de presentarla, una PEEP de 8 cmH₂O podría utilizarse inicialmente, ajustándose posteriormente según los requerimientos del paciente (Lellouche y cols. 2013). Esto se sienta sobre la base de la alta prevalencia de SDRA y lo impredecible de su desarrollo en pacientes con factores de riesgo, quedando fuera de esta estrategia de ventilación protectora profiláctica los pacientes sanos sometidos a cirugía electiva de moderado o bajo riesgo.

5. JUSTIFICACIÓN

Millones de pacientes en todo el mundo son sometidos, por diferentes motivos, a ventilación mecánica (Weiser y cols. 2008). Ya sea para una intervención quirúrgica que precise anestesia general, como por un SDRA secundario a una causa infecciosa, estos pacientes serán intubados y conectados a ventilación mecánica. Desde ese momento empieza el riesgo para que desarrollen una lesión pulmonar asociada o inducida por la ventilación mecánica y será responsabilidad del clínico utilizar una estrategia ventilatoria que se adapte a las necesidades de los pacientes y que limite el daño que el ventilador pueda producir en el pulmón.

Entre todos los parámetros ventilatorios que podemos controlar, y que se han estudiado extensamente a lo largo de los años, la fracción inspirada de oxígeno (FiO_2) que pautemos será un elemento clave en la génesis del daño pulmonar. La exposición a altas concentraciones de O_2 durante largos periodos de tiempo puede causar, por sí sola y en ausencia de ventilación mecánica, una lesión pulmonar, pero la combinación de ambas puede acelerar e incrementar esta lesión.

La presente tesis doctoral pretende valorar los efectos de diferentes concentraciones de oxígeno en pulmones de ratas sanas sometidas a una estrategia de ventilación mecánica protectora. Limitando la sobredistensión alveolar, con el empleo de volúmenes *tidal* bajos, y limitando la formación de atelectasias, por medio de la aplicación de PEEP, queremos demostrar que, a mayor cantidad de O_2 empleada, existirá mayor grado de lesión pulmonar. Con los resultados que obtengamos pretendemos aportar más datos sobre los efectos que tiene emplear oxígeno a dosis altas, a pesar de utilizar una estrategia de ventilación mecánica protectora, y ver a partir de qué concentración las alteraciones pulmonares son más importantes.

6. OBJETIVOS

- Apreciar, a través del estudio histológico de los pulmones de los animales estudiados, el grado de lesión histológica según la FiO_2 utilizada.
- Estudiar la formación de edema pulmonar, según la FiO_2 empleada, por medio de la relación existente entre el peso de un fragmento de pulmón recién extraído del animal de experimentación (peso húmedo), y el peso de ese mismo fragmento pulmonar una vez ha sido sometido a procesos de desecación (peso seco).
- Valorar el grado de afectación de la presión parcial de oxígeno y de la presión parcial de CO_2 tras del análisis de las gasometrías arteriales realizadas en los grupos experimentales con diferentes concentraciones de oxígeno.
- Determinar el grado de afectación de la mecánica respiratoria estudiando las presiones en la vía aérea y la distensibilidad pulmonar cuando empleamos distintas FiO_2 .
- Evaluar la puesta en marcha de mecanismos inflamatorios y antiinflamatorios mediante su análisis al emplear una estrategia protectora de ventilación mecánica unida a distintas concentraciones de oxígeno.
- Evaluación de las especies reactivas de oxígeno que se generen con distintas concentraciones de oxígeno.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

Hemos utilizado como animal de experimentación la rata albina macho con una edad aproximada de 90 días y un peso que osciló entre 310 y 400 gramos, de la variedad Sprague-Dawley. Los animales seleccionados procedían del Estabulario Central de la Universidad de La Laguna y de la Unidad de Investigación del Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín.

Todos los procedimientos de anestesia, quirúrgicos y microquirúrgicos se realizaron de acuerdo a la normativa de Helsinki sobre el trato de animales de investigación: así, el presente trabajo fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación y Bienestar Animal (CEIBA) en su reunión del 28 de mayo de 2012 (número de registro: CEIBA2011-0030 ULL). Las ratas tenían acceso libre a comida y agua, empleándose como alimento pienso completo (Tekland Global 14%®), con la siguiente composición alimentaria: proteína bruta (14,3%), grasa (4%), hidratos de carbono (48%), vitaminas A, D₃, E, B₁, B₂, B₆, B₁₂, minerales y aminoácidos.

7.1 INDUCCIÓN Y MANTENIMIENTO ANESTÉSICO

Antes de comenzar la inducción anestésica de las ratas, comprobábamos que los respiradores funcionaban de manera correcta y pautábamos los parámetros ventilatorios que íbamos a utilizar (Ugo Basile, Varese, Italia. Foto MM1) según el grupo de estudio que le correspondía y ajustábamos la FiO₂ comprobando esta con un analizador de oxígeno (MaxO₂ oxygen analyzer, Maxtec. USA. Foto MM2) que situábamos en la parte final de la pieza en Y.

Los animales fueron pesados en una balanza para roedores y posteriormente anestesiados con ketamina (Imalgene® 1000, MerialLab. España) a dosis de 90 mg/kg y xylazina (Rompun 2%, Bayer Lab. Alemania) a 10 mg/kg, ambos fármacos administrados por vía intraperitoneal (i.p.) en el cuadrante abdominal inferior derecho del animal para minimizar el peligro de perforar estructuras anatómicas. La aguja se

insertó en un ángulo de aproximadamente 30° a 45° dentro de la cavidad abdominal para facilitar su penetración. El nivel anestésico se evaluó considerando los siguientes parámetros clínicos: 1) pérdida del reflejo de enderezamiento, 2) periodo de ataxia, 3) pérdida de reflejos cutáneos y osteotendinosos y 4) pérdida del reflejo corneal.

Para una mejor adaptación a la ventilación mecánica, completada la traqueotomía y conectado el animal a la VM, se administraba una dosis de un bloqueante neuromuscular no despolarizante (cisatracurio) a dosis de 0,15 mg/kg i.p.



Foto MM1. Plano cenital del respirador utilizado.



Foto MM2. Analizador de oxígeno.

Para el mantenimiento anestésico, a lo largo de todo el procedimiento experimental, cada 30 minutos se repetían los agentes anestésicos utilizados (ketamina y xylazina), así como el bloqueante neuromuscular no despolarizante (cisatracurio), a la mitad de la dosis administrada inicialmente.

7.2 REALIZACIÓN DE LA TRAQUEOTOMÍA

Tras comprobar el adecuado plano anestésico, se les practicó una traqueotomía con el objetivo de conectarlas a la ventilación mecánica. Todo el proceso experimental se realizó en condiciones de esterilidad (guantes, material quirúrgico, etc.) para evitar la introducción de agentes patógenos en el protocolo establecido. Los pasos seguidos para la realización de la traqueotomía fueron los siguientes (Fotos MM3, MM4, MM5 y MM6):

- 1.-Rasurado de la región cervical del animal.
- 2.-Localización por palpación de la zona central del cuello
- 3.-Diseción de la piel, de la zona subcutánea y de los planos musculares hasta la visualización de la musculatura pretraqueal.
- 4.-Visualización de la tráquea y, con la ayuda de material microquirúrgico, sección de esta con tijera de punta recta.
- 5.-Introducción de cánula de teflón (Vasofix safety® 14G, B. Braun Lab. Alemania) cortada previamente en bisel a 1 centímetro del extremo distal.
- 6.-Sutura de la cánula a la piel con seda (3/0)



Foto MM3. Visualización de la tráquea.



Foto MM4. Preparación de la tráquea para la incisión.

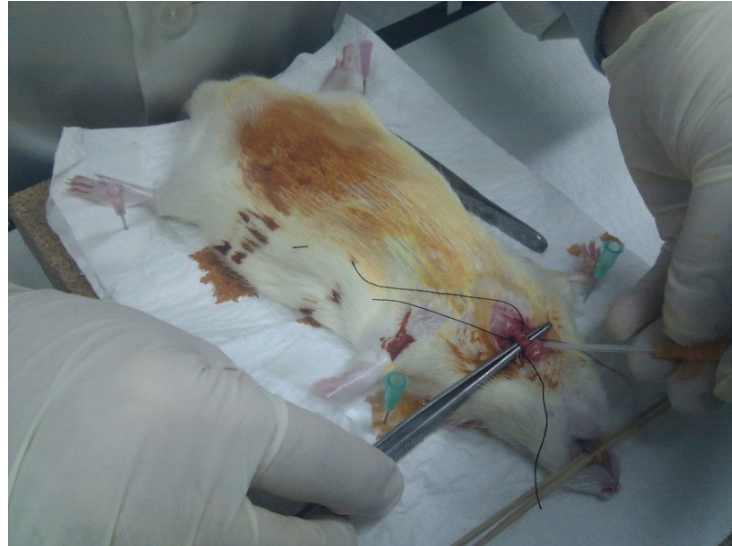


Foto MM5. Inserción de la cánula traqueal.

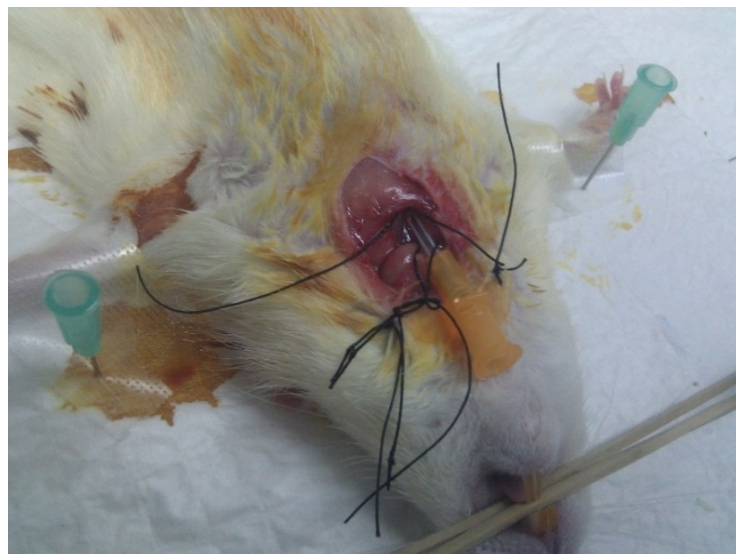


Foto MM6. Traqueotomía realizada y fijada a piel.

Completada la traqueotomía, los animales se conectaron al respirador específico para roedores.

Una vez verificada la correcta disposición de cada animal a la ventilación mecánica, se mantenían durante todo el procedimiento en decúbito supino con una inclinación de 20°.

7.3 MONITORIZACIÓN INTRAOPERATORIA

Durante las 4 horas que duró el procedimiento, los animales estuvieron monitorizados (Fotos MM7, MM8, MM9 y MM10) con: pulsioximetría, que colocábamos en una de las patas, a través de la cual obteníamos, tanto la saturación periférica de oxígeno, como la frecuencia cardiaca; con transductor de presión, colocado a nivel del tórax y conectado a la cánula de traqueotomía mediante una llave de tres pasos con el objetivo de medir la presión pico en vía aérea. Esta presión obtenida, en mmHg, la convertíamos en cm de H₂O (1mmHg=1,36 cm de H₂O); con termómetro rectal para la medición de la temperatura.

Los animales de experimentación se mantuvieron normotérmicos mediante sistemas de calentamiento externo (manta térmica dorsal y lámpara).

La distensibilidad dinámica del sistema respiratorio se obtuvo del volumen *tidal* dividido entre la diferencia de la presión inspiratoria máxima medida al final de la pausa inspiratoria y la PEEP.

La recogida de los datos de monitorización la realizamos cada 60 minutos y la mostramos en la tabla MM1:

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)					
VT (ml)					
Frec. respiratoria					
Frec. cardiaca (lpm)					
Ppico (cmH ₂ O)					
PEEP					
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)					
SatO ₂ (%)					
Temperatura (°C)					

Tabla MM1: Recogida de los datos de monitorización intraoperatoria.



Foto MM7. Monitorización del animal.



Foto MM8. Monitorización y colocación en la mesa de trabajo.



Foto MM9. Colocación de los animales en quirófano.



Foto MM10. Control de la temperatura con termómetro rectal.

7.4 EXTRACCIÓN DE MUESTRAS

Tras 4 horas de ventilación mecánica se procedía a la realización de una laparotomía para la extracción de las piezas a analizar y de las determinaciones sanguíneas. En primer lugar, se realizó una laparotomía para la localización y punción de la aorta y obtención de una gasometría arterial (Foto MM11).



Foto MM11. Localización de la aorta.

Posteriormente se localizaba el diafragma, se procedía a su apertura y verificábamos que el animal presentaba latido cardiaco. Por medio de una punción ventricular, obteníamos una muestra de sangre para el análisis de los componentes inflamatorios y de las especies reactivas de oxígeno. Posteriormente realizábamos una esternotomía para la extracción pulmonar (Foto MM12).



Foto MM12. Apertura del diafragma y punción ventricular.

Tras la esternotomía (Foto MM13) e identificación de la tráquea en todo su recorrido hasta la bifurcación bronquial, avanzábamos la cánula de traqueotomía hasta el pulmón derecho e instilábamos, en su interior, formol al 10% a través de la cánula a una presión de 20 cm de H₂O, para lograr la expansión y fijación pulmonar (Foto MM14). Posteriormente, extraíamos el pulmón derecho del animal fijándolo inmediatamente en formol al 10% para su posterior procesamiento en parafina, corte y tinción con diversas técnicas histológicas convencionales e inmunohistoquímicas. Cada tubo donde almacenábamos el pulmón derecho de los animales de experimentación estaba claramente identificado (Foto MM15).



Foto MM13. Esternotomía para la extracción pulmonar.



Foto MM14. Instilación transtraqueal de formol al 10% en el pulmón derecho.



Foto MM15. Tubos identificados en donde fijábamos las muestras del pulmón derecho en formol.

Después, extraíamos el pulmón izquierdo y cortábamos su lóbulo superior para obtener la relación peso húmedo/peso seco (índice *wet/dry*) para evaluar la gravedad del edema pulmonar (Foto MM16 y MM17). El resto del pulmón izquierdo lo utilizamos para determinar la presencia de mediadores inflamatorios y especies reactivas de oxígeno en tejido pulmonar.

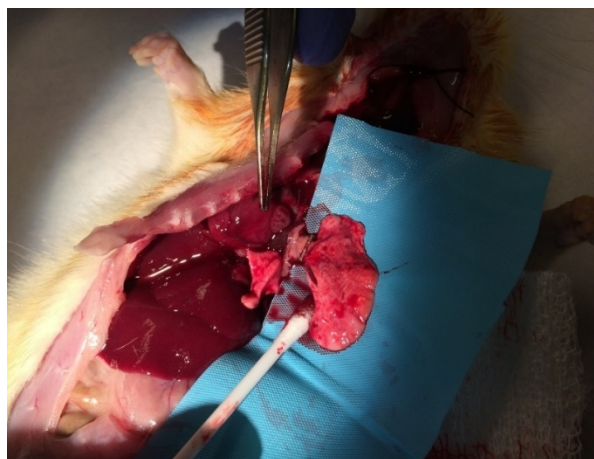


Foto MM16. Identificación del pulmón izquierdo.

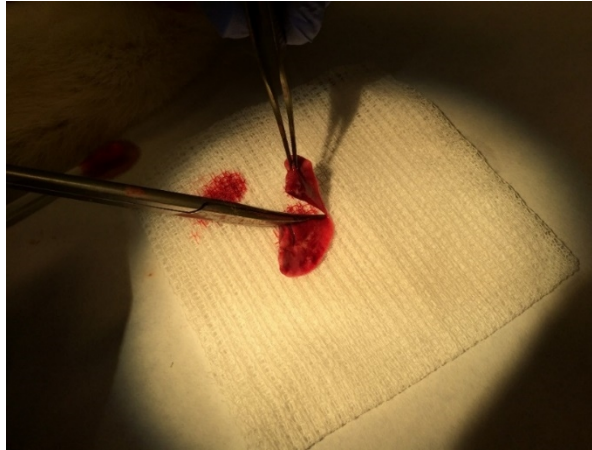


Foto MM17. Corte del lóbulo superior para el cálculo de la relación peso húmedo/seco.

Una vez obtenido el lóbulo pulmonar superior izquierdo, lo introducíamos en un tubo de Eppendorf de 1,5 ml y pesábamos en balanza (Explorer Ohaus, USA) Foto MM18. El peso obtenido lo denominábamos peso húmedo.



Foto MM18. Balanza con el tubo de Eppendorf en su interior.

Posteriormente, se introducía la muestra en una estufa (JP Selecta, España) a 50°C durante 72 horas (Foto MM19). Concluido este período, se volvía a pesar el tubo de Eppendorf. El peso obtenido lo denominábamos peso seco. Para obtener la relación entre el peso húmedo y el seco y, de esta forma, el grado de edema pulmonar, dividíamos el peso húmedo entre el peso seco (Wang J y cols. 2014).

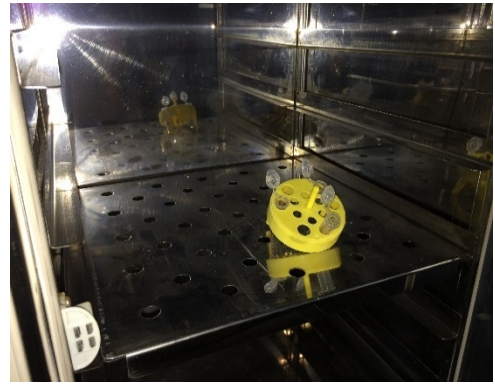


Foto MM19. Estufa en la se mantenían las muestras del lóbulo superior del pulmón izquierdo durante 72 horas a 50°C para obtener la relación peso húmedo/peso seco (índice *wet/dry*).

7.5 GRUPOS EXPERIMENTALES

Se diseñaron 4 grupos, cada uno con 6 animales, en los cuales se mantuvo constante el volumen *tidal* (VT), la PEEP y la frecuencia respiratoria, variando únicamente la FiO_2 entre los grupos. El tiempo de conexión mecánica para cada animal fue de 4 horas. Los grupos experimentales quedaron distribuidos de la siguiente manera:

Grupo FiO_2 0,21: VT 6 ml/kg; PEEP 3 cmH₂O; fr: 90 rpm; FiO_2 0,21

Grupo FiO_2 0,40: VT 6 ml/kg; PEEP 3 cmH₂O; fr: 90 rpm; FiO_2 0,40

Grupo FiO_2 0,60: VT 6 ml/kg; PEEP 3 cmH₂O; fr: 90 rpm; FiO_2 0,60

Grupo FiO_2 1: VT 6 ml/kg; PEEP 3 cmH₂O; fr: 90 rpm; FiO_2 1

La mezcla para obtener la FiO_2 de cada grupo la obteníamos a partir de un inspirómetro (Kendall Respiflo, TycoHealthcare, UK. Foto MM20). Como hemos comentado, antes de comenzar con los experimentos, verificábamos con un oxímetro que la FiO_2 que se obtenía era la correcta.



Foto MM20. Inspirómetro con el que ajustábamos la FiO_2 y disposición en quirófano.

7.6 TÉCNICAS HISTOLÓGICAS EMPLEADAS Y BASE DEL ANÁLISIS HISTOLÓGICO

Todas las muestras pulmonares fueron procesadas mediante inclusión en parafina; a continuación, una vez hechos los bloques, fueron cortados en un micrótomos Leica 3 micras de espesor para posteriormente ser teñidas con hematoxilina-eosina, tricrómico de Masson-Goldner y técnicas de inmunohistoquímica, tales como TTF-1 (marcador de células epiteliales alveolares II) y mieloperoxidasa para la determinación de macrófagos, tanto alveolares como intersticiales. Seguidamente las muestras fueron observadas y fotografiadas en un microscopio Nikon Optiphot 2 con una cámara Nikon Digital Sight (Nikon Corp. Japón) acoplada.

Para el análisis de los parámetros histológicos se realizó un recuento de 20 campos a x400 para obtener aproximadamente 400 alvéolos (media de 20 alvéolos por campo).

Se realizó un estudio cuantitativo en donde se valoraron los siguientes parámetros histológicos: septos alveolares, hemorragia alveolar, fibrina intraalveolar e infiltrados inflamatorios. Cada parámetro se valoraba de 0 a 3. A continuación, presentamos la tabla MM2 desarrollada para la recogida de estos datos.

	0	1	2	3
Septos alveolares				
Hemorragia alveolar				
Fibrina intraalveolar				
Infiltrados intraalveolares				

Tabla MM2: Recogida de datos de los parámetros histológicos a estudio.

Según lo descrito en la literatura científica (Matute-Bello y cols. 2001), se asignaba 0 en cada parámetro cuando los septos alveolares se veían finos, existía ausencia de hemorragias alveolares, ausencia de fibrina intra-alveolar y menos de 5 células intraalveolares por campo. Se asignaba 1 cuando se apreciaban los septos alveolares congestionados en menos de un tercio del campo; se observaban al menos 5 eritrocitos por alvéolo en un máximo de 5 alvéolos, fibrina en menos de un tercio del campo y de 5 a 10 células intraalveolares por campo. Se asignaba 2 cuando se observaban septos alveolares congestionados entre uno y dos tercios del campo; al menos se apreciaban 5 eritrocitos por alvéolo en más de 5 pero en menos de 10 alvéolos, fibrina entre un tercio y dos tercios del campo y de 10 a 20 células intraalveolares por campo. Por último, se valoraba con un 3 cuando los septos alveolares estaban congestionados en más de dos tercios del campo; cuando al menos 5 eritrocitos se veían por alvéolo en más de 10 alvéolos, fibrina en más de los dos tercios del campo y más de 20 células intraalveolares por campo.

Los parámetros histológicos presentes en la tabla anterior fueron analizados de la siguiente manera (Tabla MM3):

1.- Siguiendo una puntuación de los 20 campos analizados que podía variar de 0 a 60, teniendo en cuenta que en cada uno de los campos la puntuación obtenida de cada parámetro podía ser 0, 1, 2 ó 3 (ver Anexo VI).

2.- Categorizando el daño, según los puntos obtenidos, en una escala ordinal en: leve (de 0 a 20 puntos), moderada (de 21 a 40 puntos) y severa (de 41 a 60 puntos).

3.- Según el porcentaje de afectación, que podía oscilar entre el 0 y el 100%.

4.- Finalmente se estimó el daño histológico global como la suma de cada uno de los parámetros histológicos estudiados, según el porcentaje de afectación global y categorizando el daño histológico global en: leve (de 0 a 80 puntos), moderado (de 81 a 160) y severo (de 161 a 240 puntos).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	3	3	3	3	1	3	3	2	3	3	2	2	1	1	1	2	2	2	2	3	45	75	S
HA	1	0	1	2	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	2	1	14	23,33	L
FI	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	2	1	12	20	L
II	1	2	3	1	1	3	2	1	3	3	2	1	2	1	1	1	1	2	2	3	36	60	M

Tabla MM3: Tabla que utilizamos para categorizar el daño histológico en cada uno de los 24 animales estudiados (en este caso es la tabla correspondiente al tercer animal del grupo en el que se empleó FiO₂ de 0,6. Ver Anexos). En cada uno de los 20 campos analizados (marcados en azul) se valoraban los septos alveolares (SA), la presencia de hemorragias alveolares (HA), de fibrina intraalveolar (FI) y de infiltrados intestinales (II). Según el grado de afectación de estos parámetros histológicos en cada uno de los 20 campos analizados, se le puntuaba 0, 1, 2 ó 3 (mínimo 0 y máximo 60 puntos para cada parámetro histológico). Según los puntos obtenidos de cada parámetro histológico en los 20 campos se categorizaba (C en la tabla) el daño de ese parámetro como leve (L: 0-20 pts.), moderado (M: 20-40 pts.) o severo (S: 40-60 pts). También se calculaba el porcentaje de afectación de cada parámetro histológico tras el análisis de los 20 campos (ej: si lo puntos obtenidos de la afectación de uno de los parámetros histológicos tras el análisis de los 20 campos era de 45 puntos, como el máximo posible eran 60 puntos, obteníamos un 75% de afectación de ese parámetro en los campos estudiados).

Para la valoración histológica de la fibrosis alveolar empleamos el método descrito por Hübner y cols. en 2008 (Tabla MM4 a partir de la escala de Ashcroft (Ashcroft y cols. 1988).

Grado de fibrosis	Escala modificada
0	Septos alveolares: Ausencia de acúmulos de fibrina Estructura pulmonar: Normal
1	Septos alveolares: Pequeños cambios fibróticos aislados (engrosamiento septal ≤ 3 veces el grosor normal). Estructura pulmonar: Alvéolos parcialmente agrandados y ramificados, pero sin presentar masas fibróticas
2	Septos alveolares: Cambios fibróticos evidentes (engrosamiento septal >3 veces el grosor normal) con formación de conglomerados pero sin estar conectados con otros. Estructura pulmonar: Alvéolos parcialmente agrandados y ramificados, pero sin presentar masas fibróticas
3	Septos alveolares: Paredes fibróticas contiguas (engrosamiento septal >3 veces el grosor normal) en todo los campos observados al microscopio. Estructura pulmonar: Alvéolos parcialmente agrandados y ramificados, pero sin presentar masas fibróticas.
4	Septos alveolares: Variables Estructura pulmonar: Masas fibróticas únicas que ocupan menos del 10% de los campos observados al microscopio.
5	Septos alveolares: Variables. Estructura pulmonar: Masas fibróticas confluyentes que ocupan entre el 10% y el 50% de los campos observados al microscopio. Estructura pulmonar severamente dañada pero, aún, preservada
6	Septos alveolares: Variables. La mayoría no existen. Estructura pulmonar: Grandes masas fibróticas contiguas ($>50\%$ de los campos observados al microscopio). Arquitectura pulmonar generalmente no preservada
7	Septos alveolares: No existen Estructura pulmonar: Alvéolos casi obliterados con masas fibróticas.
8	Septos alveolares: No existen. Estructura pulmonar: Alvéolos completamente obliterados con masas fibróticas.

Tabla MM4: Escala modificada por Hübner y cols. para la valoración de la fibrosis.

Los cambios relativos a los cambios fibróticos observados presentes en la tabla anterior fueron analizados de la siguiente manera (Tabla MM5):

1.- Siguiendo una puntuación de los 20 campos analizados que podía variar de 0 a 160, teniendo en cuenta que en cada uno de los campos la puntuación obtenida de cada parámetro podía ir de 0 a 8 (ver Anexo VII).

2.- Según el grado de afectación, que podía oscilar entre el 0 y el tanto por mil (‰).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	4	25

Tabla MM5: Tabla que utilizamos para categorizar los cambios fibróticos en cada uno de los 24 animales estudiados (en este caso es la tabla correspondiente al primer animal del grupo en el que se empleó FiO₂ de 1. Ver Anexos). En cada uno de los 20 campos analizados (marcados en azul) se valoraba la fibrosis. Según el grado de fibrosis (tabla MM4) en cada uno de los 20 campos analizados, se le puntuaba 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 (mínimo 0 y máximo 160 puntos). A diferencia de los parámetros analizados previamente (Tabla MM3), en lugar de porcentaje de desarrollo de fibrosis en los campos estudiados, al ser los porcentajes obtenidos muy pequeños, se decidió representar el tanto por mil en lo que a desarrollo de fibrosis se refiere (ej: si un animal, tras el análisis de los 20 campos, obteníamos 4 puntos, como el máximo posible eran 160 puntos, obteníamos un 25‰ de desarrollo de fenómenos fibróticos en ese animal).

7.7 DETERMINACIÓN DE MEDIADORES INFLAMATORIOS Y DEL ESTRÉS OXIDATIVO

La IL-6 se midió en suero y pulmón por medio de ELISA utilizando los kits comercializados (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. La IL-10 en suero y el TNF- α en pulmón se midieron usando citometría de flujo CBA Flex Set (BD Biosciences, Madrid, España). La IL-10 en pulmón y el TNF- α en suero se midieron con un kit de inmunoanálisis múltiple (RCYTO-80K MILLIPLEX MAP RatCitokine/Chemokine Panel, Millipore Corp., Billerica, MA), usando tecnología Luminex de alto rendimiento (LuminexSystem, TX, USA).

Valoramos el estado oxidativo al final de las 4 horas de comenzado los experimentos midiendo el nivel total de radicales libres de oxígeno en suero y tejido

pulmonar en todos los grupos, usando el kit de análisis *in vitro* Oxiselect (Cell Biolabs, Sand Diego, CA, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. Estos análisis cuantificaron cuatro radicales libres que se producen en exceso durante la hiperoxia (óxido nítrico, peróxido de hidrógeno, radical peroxilo y peroxinitrito).

7.8 ANÁLISIS GASOMÉTRICO

Todas las gasometrías arteriales obtenidas de la aorta tras la realización de la laparotomía después de las 4 horas del experimento fueron procesadas en gasómetro (GEM 3500 Premier, Instrumentary Laboratory, España) Foto MM21.



Foto MM21. Gasómetro empleado.

Los datos fueron recogidos en la siguiente tabla MM6:

	PaO ₂ (mmHg)	PaCO ₂ (mmHg)	pH	HCO ₃ ⁻ (mmol/L)
Animal 1.1H21V				
Animal 2.2H210V				
Animal 3.3H21V				
Animal 4.4H21V				
Animal 5.5H21V				
Animal 6.6H21V				

Tabla MM6: Recogida de datos gasométricos representativa del grupo en el que se utilizó, por ejemplo, FiO₂ al 0,21. Los números y letras que aparecen en la primera columna hacen referencia a: Número del orden que ocupa la rata en ese grupo (del 1 al 6), H del inglés "Health", 21 que hace referencia a la concentración de oxígeno empleado y V que indica que ese animal fue ventilado. PaO₂: Presión parcial de oxígeno en sangre arterial; PaCO₂: presión parcial de dióxido de carbono en sangre arterial; HCO₃⁻: Bicarbonato

7.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizaron como medidas descriptivas para las variables categóricas las frecuencias absolutas y relativas, así como la media y desviación estándar o la mediana y el recorrido intercuartílico (percentiles 25 y 75 de la distribución) para las variables numéricas. Se utilizaron así mismo tablas y gráficos de resumen.

En el análisis de diferencias entre los grupos, se analizó la presencia de valores atípicos (*outliers*) mediante el test de Grubbs en la página web de acceso libre: <http://graphpad.com/quickcalcs/Grubbs1.cfm>.

Las comparaciones intergrupo se realizaron con test estadísticos no paramétricos teniendo en consideración la naturaleza de la variable (numérica; nominal;

ordinal): test Ji-cuadrado de Pearson, medidas de asociación para variables ordinales como Tau-b de Kendall y Coeficiente de correlación por rangos de Spearman; prueba de Kruskal-Wallis y el modelo lineal general para medidas repetidas (GLIM).

Aceptamos un error tipo I alfa en los contrastes de hipótesis de alfa del 5%.

El paquete estadístico utilizado para el análisis estadístico fue el SPSS, versión 21.0 y Epidat versión 3.0.

8. RESULTADOS

Para conseguir una exposición más clara de los mismos, describiremos los resultados por apartados.

Comenzaremos analizando los datos obtenidos en la monitorización intraoperatoria, a lo que seguirán los resultados de las gasometrías arteriales, el análisis de la relación obtenida entre el peso húmedo y el seco (índice *wet/dry*), el análisis de los mediadores inflamatorios y de las especies reactivas de oxígeno, para concluir con el análisis histológico de las muestras pulmonares obtenidas.

Los animales reclutados fueron en total 24 (6 en cada grupo). Tuvimos tres muertes, una en el grupo con FiO_2 de 0,6 a los 180 minutos de comenzado el experimento y dos en el grupo en que se empleó una FiO_2 de 1, a los 90 y 100 minutos respectivamente del comienzo. La causa de las muertes fue edema agudo de pulmón en los tres casos. Cuando se produjeron los fallecimientos se repitieron los experimentos para obtener el total de animales previstos para el estudio.

8.1 DATOS OBTENIDOS DE LA MONITORIZACIÓN INTRAOPERATORIA

En la monitorización de los distintos parámetros analizados durante las 4 horas que duró cada experimento, los resultados obtenidos en los 4 grupos experimentales, se reflejan en la siguiente tabla (Tabla R1):

	FiO₂ 0,21 (Media±DE)	FiO₂ 0,4 (Media±DE)	FiO₂ 0,6 (Media±DE)	FiO₂ 1 (Media±DE)	Sig
Peso (gr)	349±21,1	350,3±30,4	353,6±11,4	348,6±14,3	NS
VT (ml)	2,1±0,1	2,1±0,1	2,1±0,1	2,1±0,1	NS
Frec. cardiaca (lpm)					
Basal	286,5±5,4	290,0±7,0	291,1±5,7	287,0±6,4	NS
60 min	291,0±6,8	290,5±5,0	293,6±7,4	291,0±5,9	NS
120 min	290,6±8,2	294,1±5,7	294,8±3,5	292,5±10,2	NS
180 min	292,3±8,5	294,1±5,7	293,8±6,5	291,8±7,9	NS
240 min	292,6±5,8	295,5±6,0	293,6±4,5	292,0±6,2	NS
Ppico (cmH₂O)					
Basal	12,6±0,7	12,0±1,0	12,6±0,7	12,4±0,5	NS
60 min	12,6±0,7	12,4±1,0	13,8±0,5	14,3±0,7	S
120 min	13,1±0,7	12,9±0,7	15,0±0,0	16,0±0,5	S
180 min	12,9±0,7	13,8±1,7	15,2±0,5	15,8±0,6	S
240 min	13,1±0,7	12,9±0,7	15,2±0,5	16,3±0,0	S
Distensibilidad dinámica(ml/cmH₂O)					
Basal	0,2±0,0	0,2±0,0	0,2±0,0	0,2±0,0	NS
60 min	0,2±0,0	0,2±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	S
120 min	0,2±0,0	0,2±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	S
180 min	0,2±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	S
240 min	0,2±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	S
SatO₂ (%)					
Basal	95,0±0,5	95,0±0,5	95,0±0,6	95,0±0,9	NS
60 min	94,6±1,2	99,0±0,8	99,5±0,5	99,1±1,1	S
120 min	94,6±2,2	99,0±0,6	99,5±0,5	98,6±1,2	S
180 min	94,5±1,7	98,6±0,8	100±0,0	99,3±1,0	S
240 min	94,1±2,1	99,1±0,7	100±0,0	99,6±0,5	S
Temperatura (°C)					
Basal	36,8±0,1	36,9±0,1	37,1±0,0	37,0±0,1	NS
60 min	36,9±0,1	36,9±0,0	36,9±0,0	37,0±0,1	NS
120 min	37,0±0,0	37,0±0,1	37,0±0,0	37,0±0,0	NS
180 min	37,1±0,0	37,1±0,0	37,1±0,0	37,1±0,0	NS
240 min	37,1±0,1	37,1±0,0	37,1±0,0	37,1±0,0	NS

Tabla R1: Distribución de la monitorización intraoperatoria entre los grupos. DE: Desviación estándar; VT: Volumen tidal; lpm: latidos por minuto; Ppico: Presión pico; SatO₂: Saturación pulmonar periférica de oxígeno; S: Significación estadística; NS: No significativo (p>0,05); S: Significativo (p<0,05).

La distribución del peso ($p=0,978$. Gráfico R1), volumen *tidal* ($p=0,997$. Gráfico R2), frecuencia cardiaca (determinación basal $p=0,514$; a los 60 minutos $p=0,927$; a los 120 minutos $p=0,556$; a los 180 minutos $p=0,858$ y a los 240 minutos $p=0,950$. Gráficos R3 a R7) y temperatura (determinación basal $p=0,095$; a los 60 minutos $p=0,353$; a los 120 minutos $p=0,285$; a los 180 minutos $p=0,970$ y a los 240 minutos $p=0,822$. Gráfico R8), fueron similares en todos los grupos sin encontrar diferencias entre ellos.

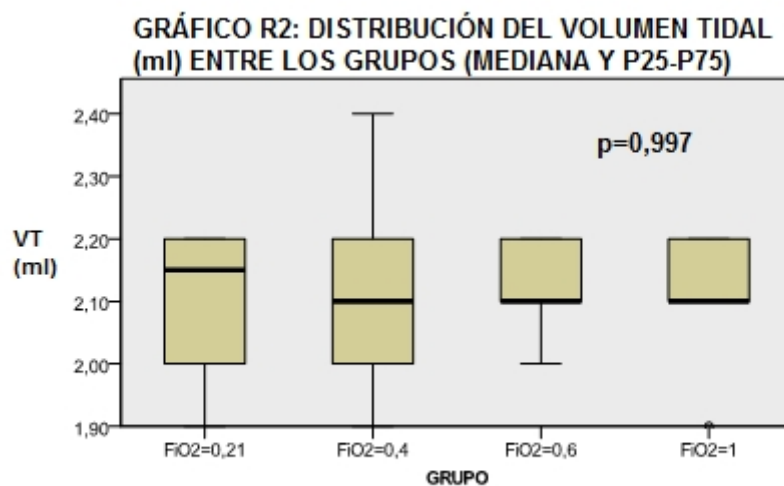
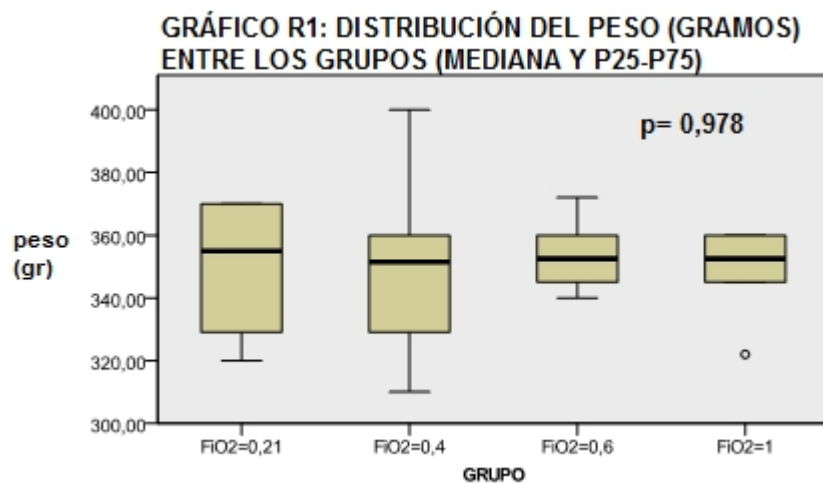


GRÁFICO R3: DISTRIBUCIÓN DE LA FRECUENCIA CARDIACA BASAL (lpm) ENTRE LOS GRUPOS (MEDIANA Y P25-P75)

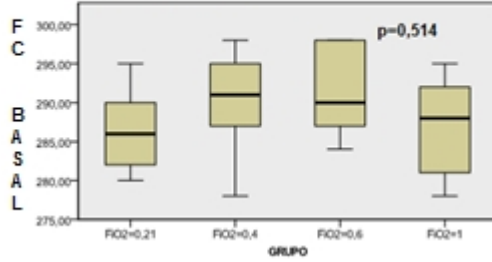


GRÁFICO R4: DISTRIBUCIÓN DE LA FRECUENCIA CARDIACA A LOS 60 MINUTOS (lpm) ENTRE LOS GRUPOS (MEDIANA Y P25-P75)

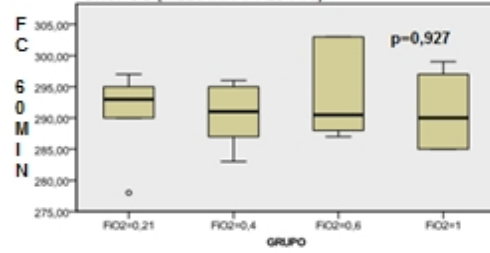


GRÁFICO R5: DISTRIBUCIÓN DE LA FRECUENCIA CARDIACA A LOS 120 MINUTOS (lpm) ENTRE LOS GRUPOS (MEDIANA Y P25-P75)

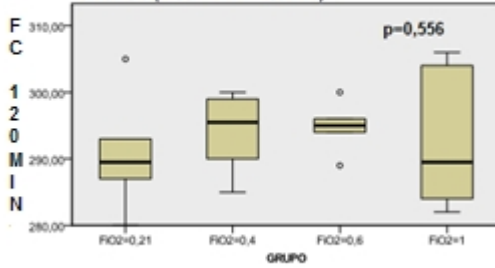


GRÁFICO R6: DISTRIBUCIÓN DE LA FRECUENCIA CARDIACA A LOS 180 MINUTOS (lpm) ENTRE LOS GRUPOS (MEDIANA Y P25-P75)

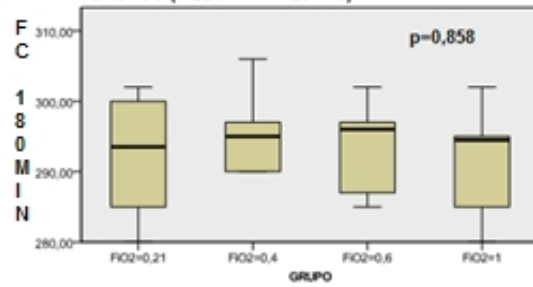
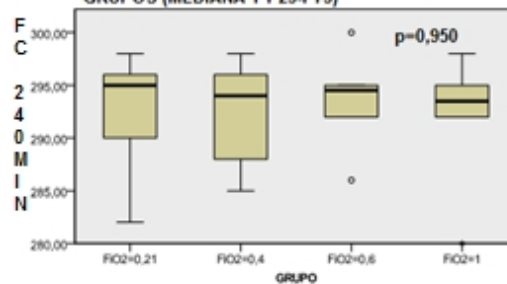
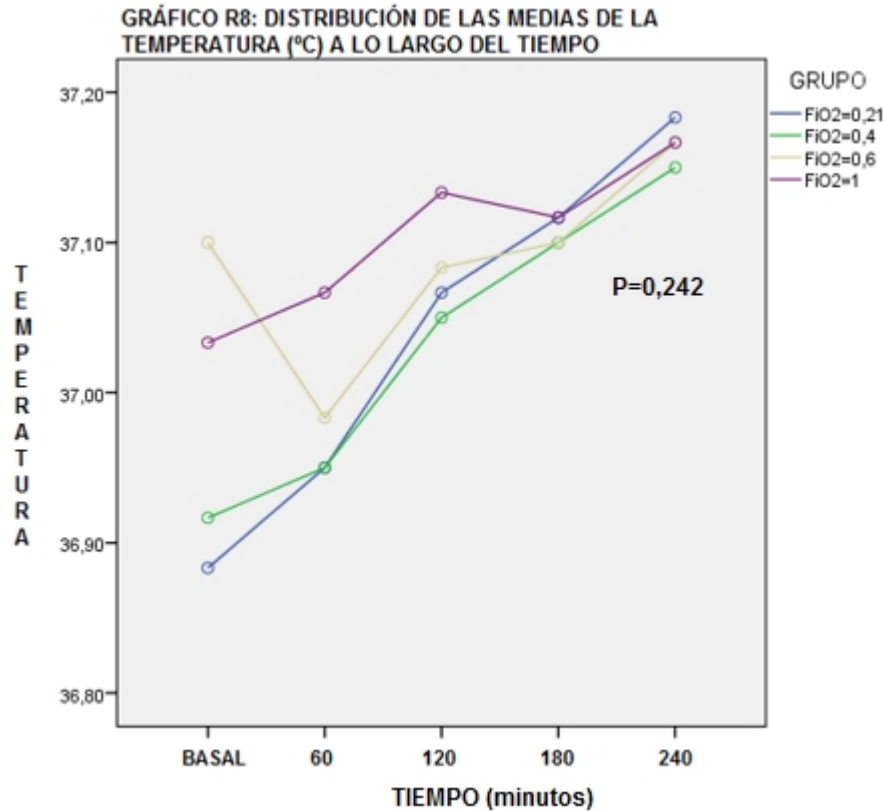


GRÁFICO R7: DISTRIBUCIÓN DE LA FRECUENCIA CARDIACA A LOS 240 MINUTOS (lpm) ENTRE LOS GRUPOS (MEDIANA Y P25-P75)

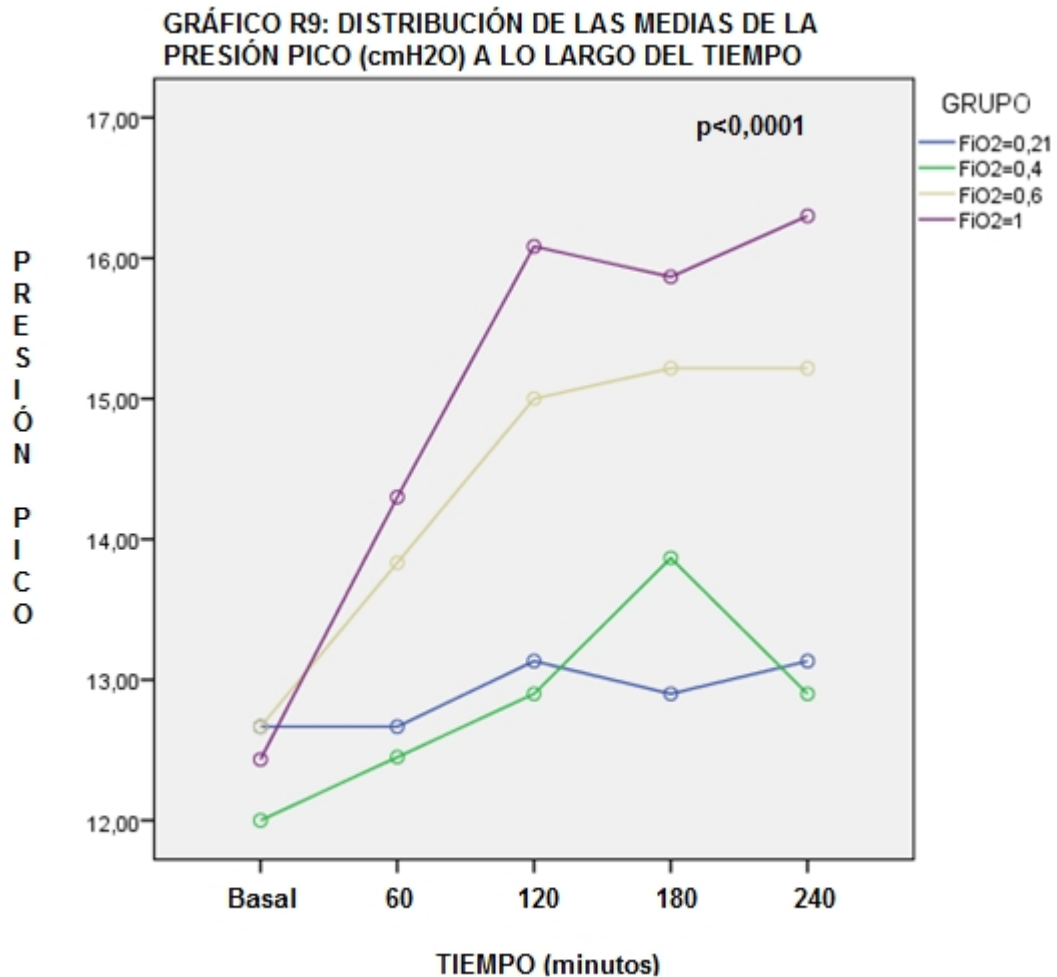




La presión pico (P_{pico}) ($p=0,437$), distensibilidad ($p=0,533$) y saturación periférica de oxígeno ($p=0,354$) no mostraron diferencias en la medición basal entre los grupos.

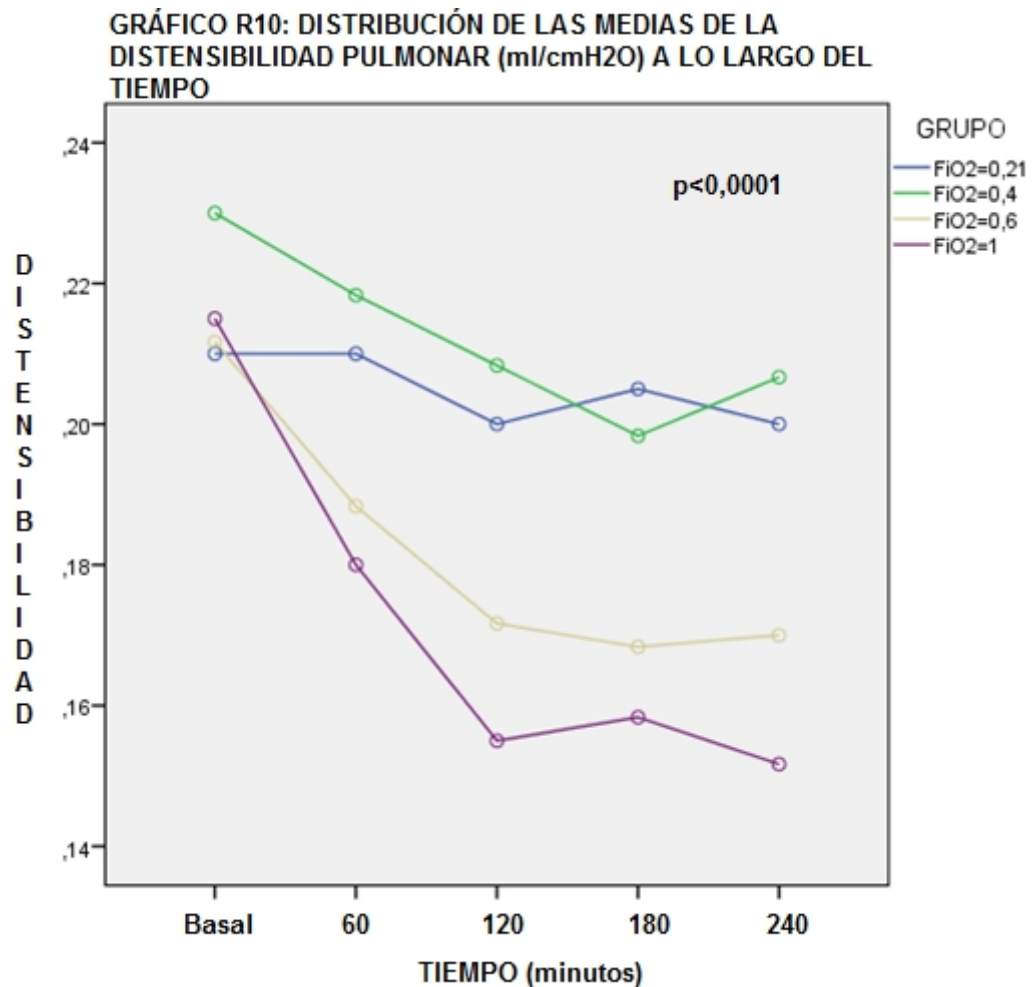
En los grupos que recibieron una FiO_2 de 0,21 y de 0,4, la presión pico no se elevó a los 60 minutos con respecto a la determinación basal, elevándose a las tres horas de comenzado los experimentos para, al finalizar los mismos, mostrar un discreto ascenso con respecto a la toma basal (ver tabla R1). En cambio, en los grupos a los que se administró una FiO_2 de 0,6 y 1, la P_{pico} mostró valores elevados con respecto a la toma basal desde los primeros 60 minutos para continuar el ascenso en las siguientes mediciones, pasando de una P_{pico} basal en el grupo de FiO_2 0,6 de $12,6 \pm 0,7$ cmH_2O a un valor de $15,2 \pm 0,5$ cmH_2O tras cuatro horas de ventilación mecánica. En el grupo de FiO_2 de 1 esta tendencia se mantuvo, terminando los experimentos con cuatro puntos más de P_{pico} que los registrados al comienzo ($12,4 \pm 0,5$ cmH_2O en la determinación basal frente a $16,3 \pm 0,0$ cmH_2O a las cuatro horas). Se apreció, por tanto, que a medida

que la concentración de oxígeno era mayor la presión pico se elevaba ($p < 0,0001$. Gráfico R9).

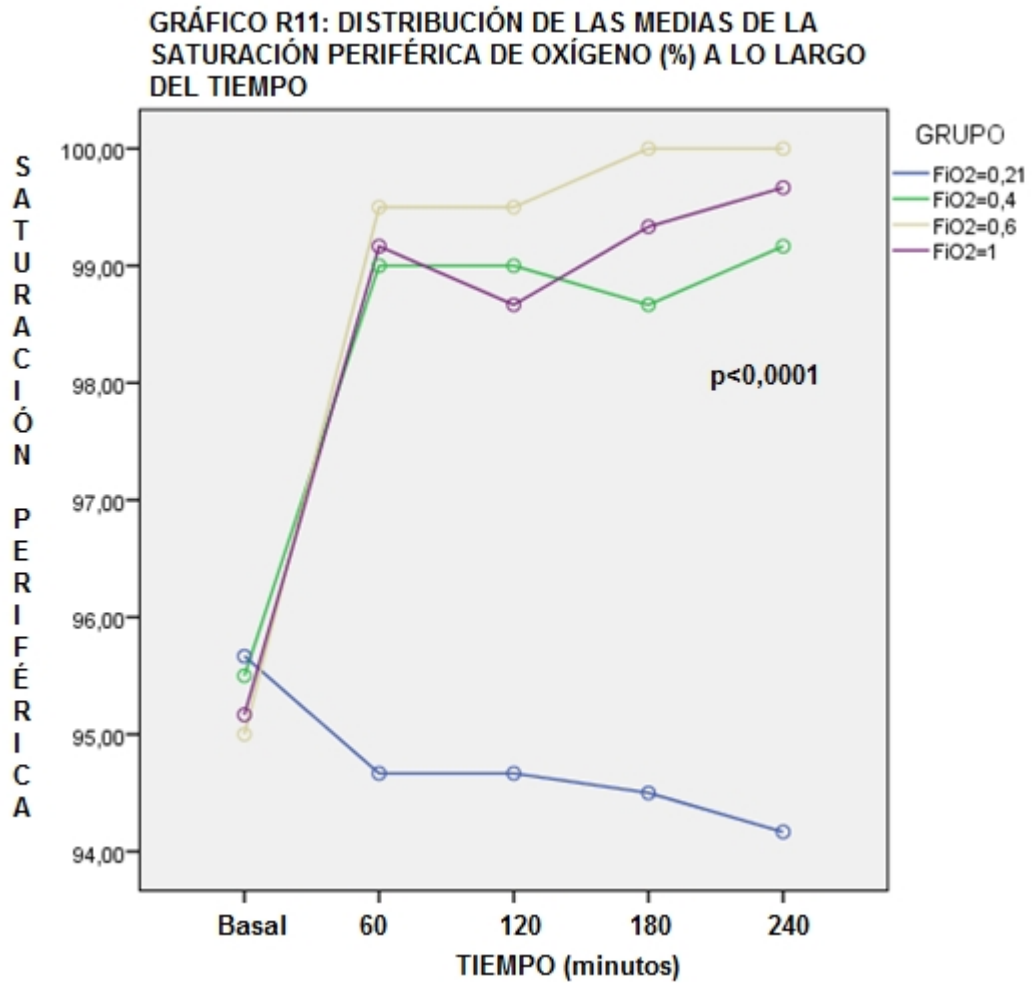


Con respecto a la distensibilidad pulmonar, asumiendo que no existían diferencias entre los cuatro grupos a nivel basal ($p=0,533$), se observó que en el grupo con FiO₂ de 0,21 tampoco existieron diferencias durante las cuatro horas de los experimentos, aspecto que no sucedió en el resto de los grupos en los cuales este parámetro descendió a medida que se desarrollaba el estudio. Sin embargo, este descenso fue más precoz en los grupos de FiO₂ de 0,6 y 1, en donde se apreció desde los 60 minutos, que en el grupo con FiO₂ de 0,4 en el cual se produjo un descenso a partir de los 120 minutos. Una vez que la distensibilidad descendió se mantuvo en esos

valores hasta el final de las cuatro horas. Por tanto, con respecto al grupo de FiO_2 al 0,21, la distensibilidad descendió según se aumentaba la concentración de oxígeno ($p < 0,0001$. Gráfico R10).



Por último, la saturación de oxígeno mostró una distribución basal similar en todos los grupos ($p=0,354$) para posteriormente elevarse de manera estadísticamente significativa ($p < 0,0001$. Gráfico R11) en todos los grupos con respecto al valor basal salvo en el grupo con la FiO_2 de 0,21 en donde no mostró diferencias y se mantuvo con valores similares a los basales.



Los datos pormenorizados de los parámetros de monitorización intraoperatoria que se recogieron en cada uno de los animales de experimentación se muestran en el Anexo I.

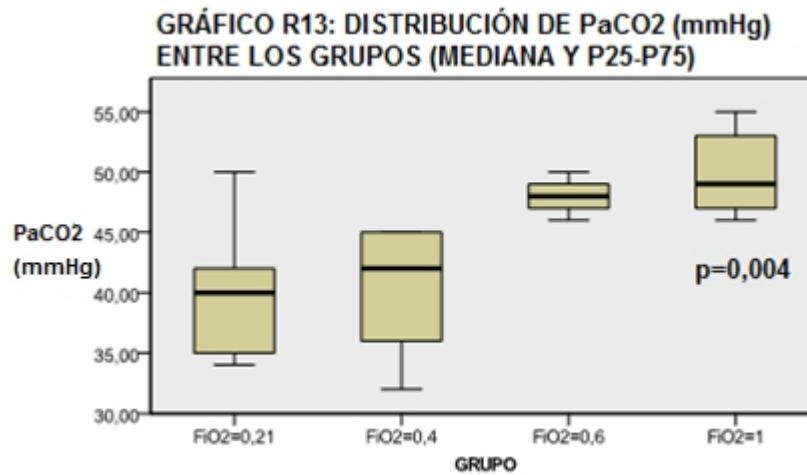
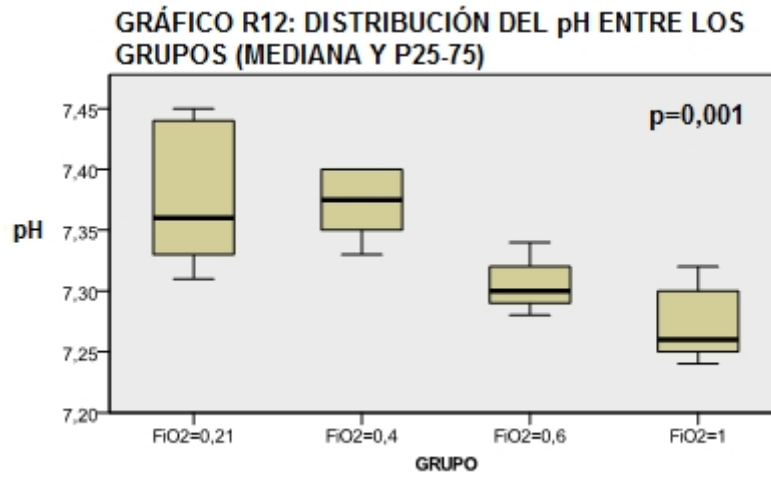
8.2 ANÁLISIS DE LAS GASOMETRÍAS ARTERIALES

Las gasometrías arteriales obtenidas al final de cada uno de los experimentos, reflejaron los siguientes datos (Tabla R2):

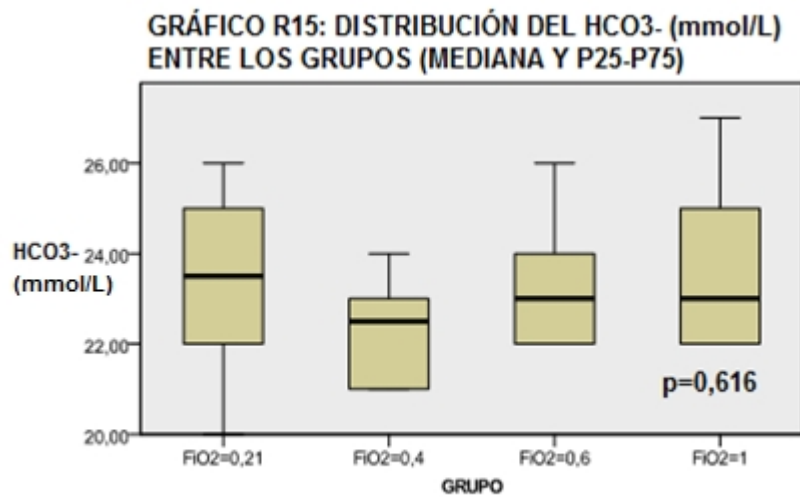
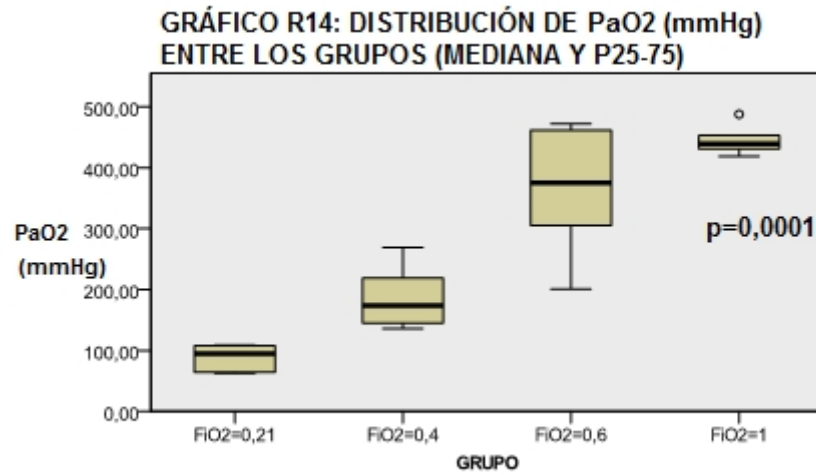
	FiO₂ 0,21 (Media±DE)	FiO₂ 0,4 (Media±DE)	FiO₂ 0,6 (Media±DE)	FiO₂ 1 (Media±DE)	p
pH	7,37±0,0	7,37±0,0	7,30±0,0	7,27±0,0	<0,05
PaO₂ (mmHg)	89±20,8	186±51,5	365±105,1	445±24,1	<0,05
PaCO₂(mmHg)	40,1±5,8	40,3±5,2	48,0±1,4	49,8±3,5	<0,05
HCO₃⁻(mmol/L)	23,3±2,1	22,3±1,2	23,3±1,5	23,6±1,9	>0,05

Tabla R2: Distribución de las gasometrías arteriales entre los grupos. DE: Desviación estándar; PaO₂: Presión parcial de oxígeno en sangre arterial; PaCO₂: presión parcial de dióxido de carbono en sangre arterial; HCO₃⁻: Bicarbonato.

En el análisis de las gasometrías arteriales, observamos que el pH y la PaCO₂ no variaron en los grupos con FiO₂ al 0,21 y 0,4, sin embargo la diferencia observada se debió a la variabilidad de estos valores gasométricos cuando se aumentó la FiO₂ a 0,6 y a 1, observándose como en los dos últimos grupos, tanto el pH (p=0,001. Gráfico R12) como la PaCO₂ (p=0,004. Gráfico R13) se modificaron, disminuyendo el primero y aumentando el segundo de estos parámetros.



Con respecto a la PaO₂ observamos un gradiente ascendente al ir aumentando la FiO₂ ($p < 0,0001$. Gráfico R14). El bicarbonato no mostró diferencias entre los grupos ($p = 0,616$. Gráfico R15).



Los datos pormenorizados de las gasometrías arteriales que se recogieron en cada uno de los animales de experimentación se muestran en el Anexo II.

8.3 RELACIÓN PESO HÚMEDO/PESO SECO. ÍNDICE WET/DRY

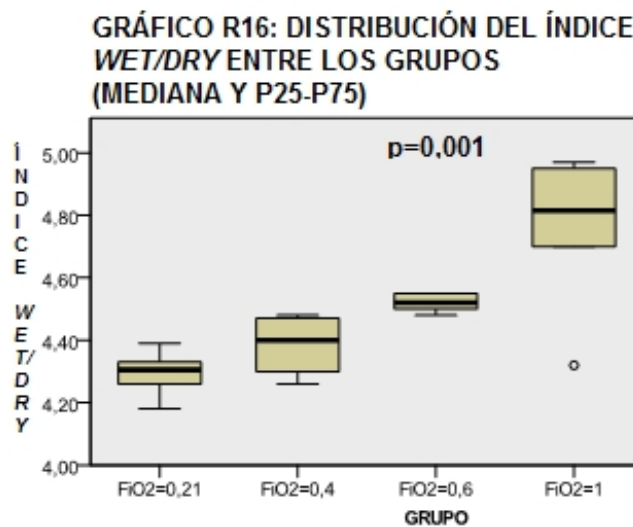
El índice *wet/dry* (pulmón húmedo/pulmón seco), medición indirecta del edema pulmonar, mostró los siguientes resultados (Tabla R3).

	FiO₂ 0,21 (Media±DE)	FiO₂ 0,4 (Media±DE)	FiO₂ 0,6 (Media±DE)	FiO₂ 1 (Media±DE)	Sig
Índice <i>wet/dry</i>	4,29±0,7	4,38±0,0	4,5±0,0	4,7±0,2	S

Tabla R3: Distribución del índice *wet/dry* entre los grupos. DE: Desviación estándar; Sig: Significación estadística; S: Significativo ($p < 0,05$).

El índice *wet/dry* se elevó a medida que la concentración de oxígeno aumentaba.

Las diferencias observadas fueron significativas ($p = 0,001$. Gráfico R16).



Los datos pormenorizados del índice *wet/dry* se encuentran en el Anexo III.

8.4 ANÁLISIS DE LOS MEDIADORES INFLAMATORIOS

Con respecto a la concentración de oxígeno administrada en cada grupo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los mediadores inflamatorios estudiados (IL-10, IL-6, TNF- α) en suero ni en pulmón (Gráficos R17 a R20). Los datos pormenorizados de los marcadores inflamatorios se encuentran en el Anexo IV.

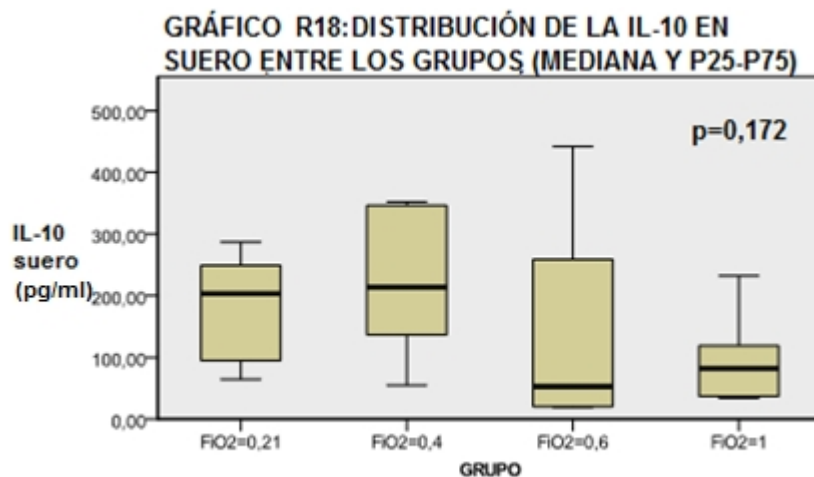
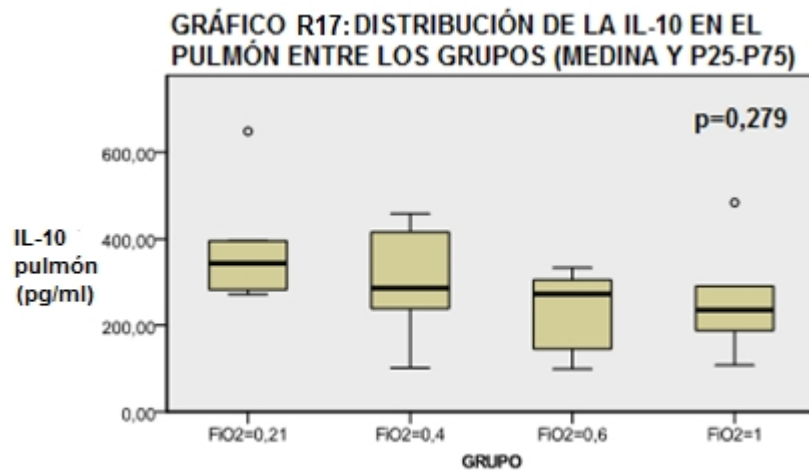


GRÁFICO R19: DISTRIBUCIÓN DE LA IL-6 EN PULMÓN ENTRE LOS GRUPOS (MEDIANA Y P25-P75)

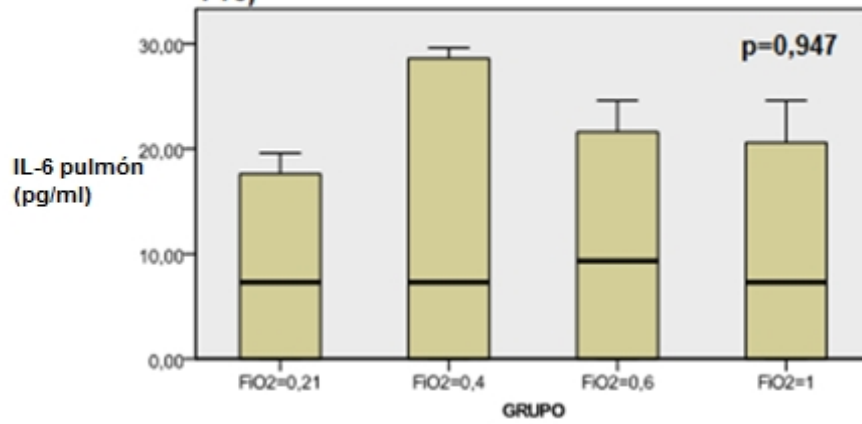
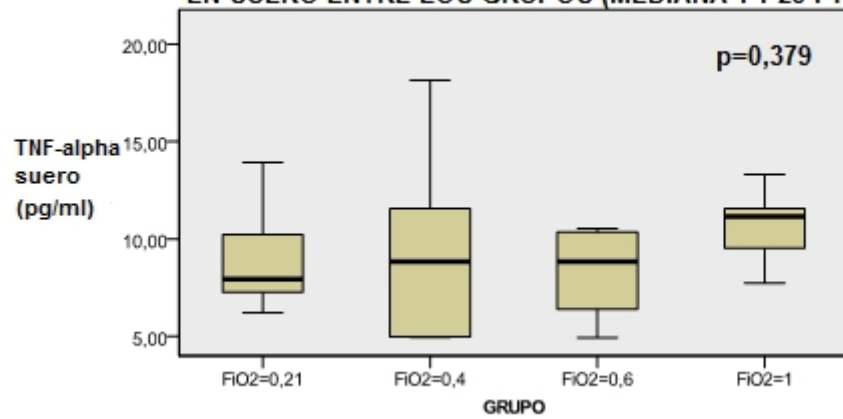


GRÁFICO R20: DISTRIBUCIÓN DE TNF- alpha EN SUERO ENTRE LOS GRUPOS (MEDIANA Y P25-P75)



8.5 ANÁLISIS DE LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (ROS)

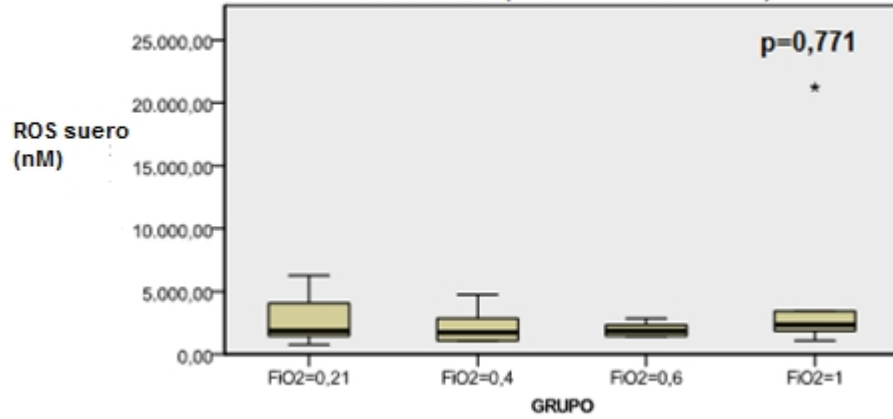
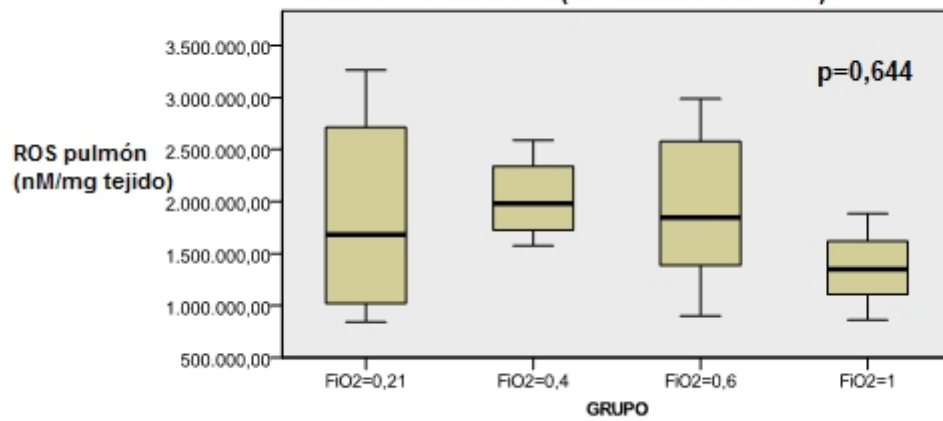
El estudio del estrés oxidativo lo realizamos a través del análisis de las especies reactivas de oxígeno que se producen en situaciones de hiperoxia. En nuestro estudio no encontramos diferencias significativas entre los grupos en lo que respecta a estas determinaciones (Gráficos R21 y R22). La distribución entre los grupos en las determinaciones realizadas en suero y pulmón se presentan en las Tablas R4 y R5. Los datos pormenorizados de las ROS se encuentran en el Anexo V.

	ROS suero (nM) Media \pm DE	Mediana ROS suero	P ₂₅ -P ₇₅ ROS suero
FiO ₂ 0,21	2716,5 \pm 2058,1	1871,0	1284,1-4614,6
FiO ₂ 0,4	2196,7 \pm 1464,4	1714,7	1079,8-3333,8
FiO ₂ 0,6	1975,6 \pm 545,6	1871,0	1453,5-2471,5
FiO ₂ 1	5385,9 \pm 7802,2	2340,0	1675,4-7887,5

Tabla R4: Distribución de las especies reactivas de oxígeno en suero entre los grupos. DE: Desviación estándar; ROS: especies reactivas de oxígeno; P₂₅-P₇₅: Percentiles 25 y 75.

	ROS pulmón (nM/mg tejido) Media \pm DE	Mediana ROS pulmón	P ₂₅ -P ₇₅ ROS pulmón
FiO ₂ 0,21	1866320,5 \pm 1083853,9	1681503,1	931418,8-2986039,5
FiO ₂ 0,4	2032157,6 \pm 426516,7	1981685,0	1651004,9-2463782,8
FiO ₂ 0,6	1939005,5 \pm 850778,5	1845437,2	1143421,1-2781373,9
FiO ₂ 1	1366670,8 \pm 511809,9	1350553,5	863109,9-

Tabla R5: Distribución de las especies reactivas de oxígeno en pulmón entre los grupos. DE: Desviación estándar; ROS: Especies reactivas de oxígeno; P₂₅-75: Percentiles 25-75.

GRÁFICO R21: DISTRIBUCIÓN DE ROS EN SUERO ENTRE LOS GRUPOS (MEDIANA Y P25-P75)**GRÁFICO R22: DISTRIBUCIÓN DE ROS EN PULMÓN ENTRE LOS GRUPOS (MEDIANA Y P25-P75)**

8.6 ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS HISTOLÓGICOS

Se realizó un recuento de 20 campos a x400 para obtener aproximadamente 400 alvéolos (media de 20 alvéolos por campo). El daño pulmonar se cuantificó a través de la siguiente clasificación (Tabla R6), ya comentado en el apartado dedicado a Material y Métodos. Los datos pormenorizados de los parámetros histológicos de todos los grupos se encuentran en el Anexo VI.

	0	1	2	3
Septos alveolares	Todos los septos son finos	Septos alveolares congestionados en menos de un tercio del campo	Septos alveolares congestionados entre uno y dos tercios del campo	Septos alveolares estaban congestionados en más de dos tercios del campo
Hemorragia alveolar	Ausencia de hemorragias	Al menos 5 eritrocitos por alvéolo en un máximo de 5 alvéolos	Al menos se apreciaban 5 eritrocitos por alvéolo en más de 5 pero en menos de 10 alvéolos	Al menos 5 eritrocitos se veían por alvéolo en más de 10 alvéolos
Fibrina intraalveolar	Ausencia de fibrina intraalveolar	Fibrina en menos de un tercio del campo	Fibrina entre un tercio y dos tercios del campo	Fibrina en más de los dos tercios del campo
Infiltrados intraalveolares	Menos de 5 células intraalveolares por campo	5 a 10 células intraalveolares por campo	10 a 20 células intraalveolares por campo	Más de 20 células intraalveolares por campo

Tabla R6: Parámetros histológicos utilizados para estudiar el daño pulmonar

8.6.1.- ANÁLISIS DE LAS ALTERACIONES APRECIADAS EN LOS SEPTOS ALVEOLARES DEPENDIENDO DE LA FIO₂ EMPLEADA

8.6.1a.- Daño en los septos alveolares según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas (Tabla R7)

	N	Media ±DE	IC _{95%}
FiO ₂ 0,21	6	5,8±1,1	(4,6-7,0)
FiO ₂ 0,4	6	9,0±3,2	(5,6-12,3)
FiO ₂ 0,6	6	31,0±7,6	(22,9-39,0)
FiO ₂ 1	6	42,5±6,5	(35,6-49,3)

Tabla R7: p<0,001 FiO₂: Fracción inspiratoria de oxígeno; DE: Desviación estándar; IC_{95%}: Intervalo de confianza.

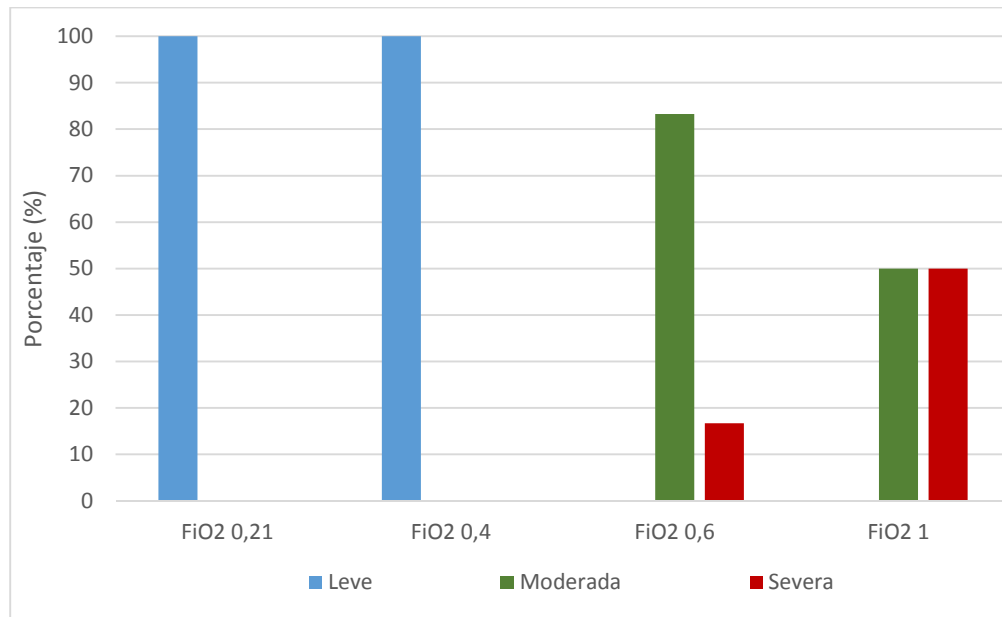
8.6.1b.- Porcentaje de afectación de los septos alveolares según los distintos grupos de ratas ventiladas (Tabla R8)

	N	% afectación ±DE	IC _{95%}
FiO ₂ 0,21	6	9,7±1,94	(7,6%-11,7%)
FiO ₂ 0,4	6	15,0±5,3	(9,3%-20,6%)
FiO ₂ 0,6	6	51,6±12,7	(38,2%-65,0%)
FiO ₂ 1	6	70,8±10,8	(59,4%-82,2%)

Tabla R8: p<0,001

8.6.1c.- Distribución del grado de afectación de los septos alveolares (Tabla

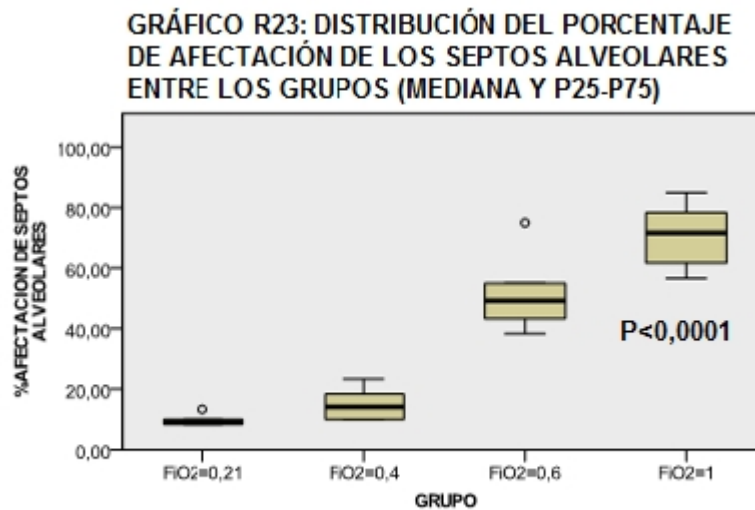
R9)



Grupo/Grado afectación	Leve	Moderado	Severo
FiO ₂ 0,21	100%		
FiO ₂ 0,4	100%		
FiO ₂ 0,6		83,33%	16,67%
FiO ₂ 1		50%	50%

Tabla R9: p<0,00001

En los datos obtenidos referentes a los daños producidos en los septos alveolares según la FiO₂ empleada se observó, con diferencias estadísticamente significativas, que a medida que se incrementaba la FiO₂ los septos alveolares se afectaban más, pasando de un 9,7% (IC_{95%} 7,6%-11,7%) de campos afectados cuando se administraba FiO₂ al 0,21, a un 70,8% (IC_{95%} 59,4%-82,2%) cuando la FiO₂ era de 1 (Gráfico R23).



Además, según la categorización empleada, observamos que en el grupo de animales ventilados con FiO_2 de 0,21 y 0,4, todos presentaban una alteración leve en los septos alveolares. En el grupo ventilado con una FiO_2 de 0,6 la gran mayoría de las alteraciones de los septos eran moderadas. Las alteraciones severas fueron más evidentes en el grupo con FiO_2 al 1 en donde la mitad de los animales presentaron alteraciones severas y la otra mitad de los cambios se etiquetaron como moderados. La mayor afectación de los septos alveolares a medida que se administraba más FiO_2 se vio refrendada al apreciar que el índice de correlación por grados de Spearman era de 0,88 ($p<0,00001$).

**8.6.2.- ANÁLISIS DE LA PRESENCIA DE HEMORRAGIAS ALVEOLARES
DEPENDIENDO DE LA FIO₂ EMPLEADA**

8.6.2a.- Presencia de hemorragias alveolares según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas (Tabla R10)

	N	Media ±DE	IC _{95%}
FiO ₂ 0,21	6	1,1±1,6	(1,0-2,8)
FiO ₂ 0,4	6	15,8±10,2	(5,0-26,6)
FiO ₂ 0,6	6	34,8±12,2	(21,9-47,6)
FiO ₂ 1	6	49,1±5,6	(43,2-55,1)

Tabla R10: p<0,001 FiO₂: Fracción inspiratoria de oxígeno; DE: Desviación estándar; IC_{95%}: Intervalo de confianza.

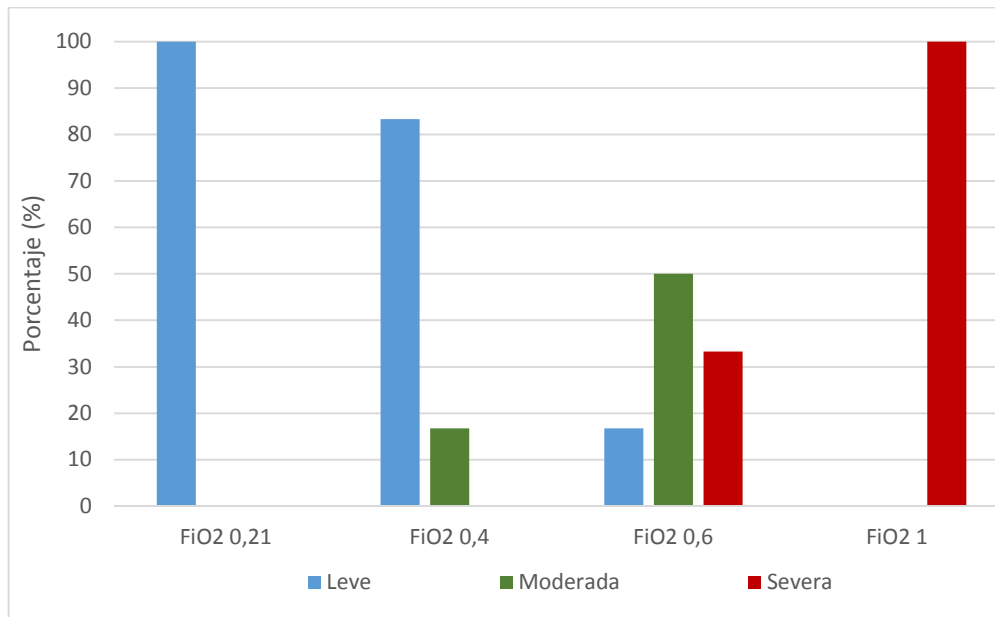
8.6.2b.- Porcentaje de presencia de hemorragias alveolares según los distintos grupos de ratas ventiladas (Tabla R11)

	N	% afectación ±DE	IC _{95%}
FiO ₂ 0,21	6	1,9±2,6	(1,0%-4,7%)
FiO ₂ 0,4	6	26,3±17,1	(8,4%-44,3%)
FiO ₂ 0,6	6	58,0±20,3	(36,6%-79,4%)
FiO ₂ 1	6	81,9±9,4	(72,0%-91,8%)

Tabla R11: p<0,001

8.6.2c.- Distribución del grado de presencia de hemorragias alveolares

(Tabla R12)

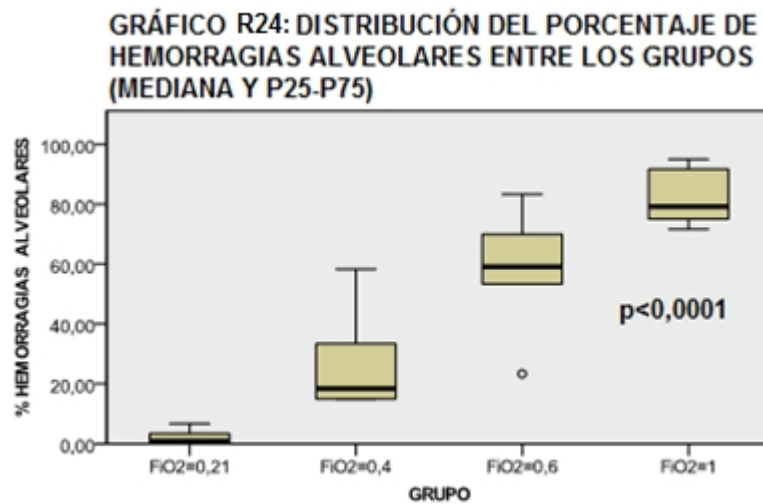


Grupo/Grado afectación	Leve	Moderado	Severo
FiO ₂ 0,21	100%		
FiO ₂ 0,4	83,3%	16,7%	
FiO ₂ 0,6	16,7	50%	33,3%
FiO ₂ 1			100%

Tabla R12: $p < 0,00001$

En lo que respecta a la presencia de hemorragias alveolares, estas se manifestaron en mayor grado a medida que aumentaba la FiO₂ administrada ($p < 0,001$). En los campos estudiados se apreció una puntuación baja en el grupo con FiO₂ al 0,21 con respecto a los demás (1,1 puntos [IC_{95%} 1,0-2,8]) y cómo, en el grupo de FiO₂ al 1 la presencia de hemorragias alveolares era más evidente (puntuación de 49,1 [IC_{95%} 43,2-55,1]). Cuando se ventiló con una FiO₂ de 0,21, cerca del 2% de los campos presentaban hemorragias alveolares frente a una mayor presencia de estas alteraciones

a medida que se aumentaba la fracción inspiratoria de oxígeno a 0,4, 0,6 y 1 (26,3%, 58% y 81 % respectivamente). Gráfico R24.



Al igual que apreciamos en el apartado anterior referente a los septos alveolares, cuando aparecieron hemorragias alveolares en el grupo de FiO_2 al 0,21, lo hicieron de una forma leve, sin embargo en los grupos a los que se aplicó una FiO_2 de 0,4 y 0,6 ya se apreciaron cambios moderados e incluso severos en el último de estos grupos. Cuando se ventilaba con una FiO_2 de 1 las hemorragias alveolares que se observaron se categorizaron como severas. El índice de correlación por grados de Spearman fue de 0,87 ($p<0,00001$).

8.6.3.- ANÁLISIS DE LA PRESENCIA DE FIBRINA INTRAALVEOLAR DEPENDIENDO DE LA FIO₂ EMPLEADA

8.6.3a.- Presencia de fibrina intraalveolar según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas (Tabla R13)

	N	Media ±DE	IC _{95%}
FiO ₂ 0,21	6	2,0±1,4	(1,0-3,4)
FiO ₂ 0,4	6	10,6±2,8	(7,6-13,6)
FiO ₂ 0,6	6	25,6±8,2	(17,0-34,2)
FiO ₂ 1	6	39,3±10,7	(28,0-50,6)

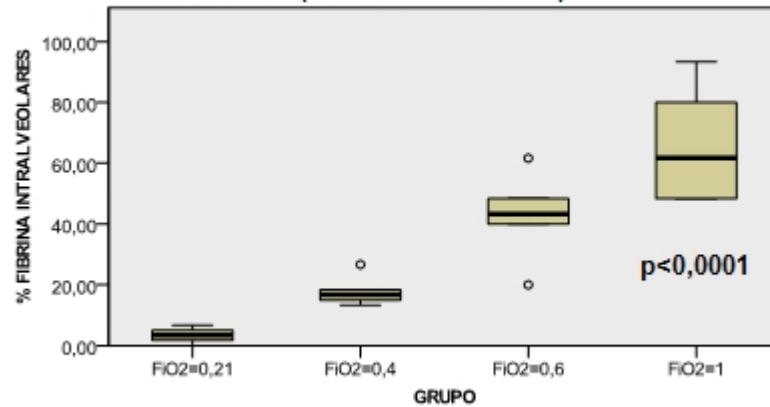
Tabla R13: p<0,001 FiO₂: Fracción inspiratoria de oxígeno; DE: Desviación estándar; IC_{95%}: Intervalo de confianza.

8.6.3b.- Porcentaje de presencia de fibrina intraalveolar según los distintos grupos de ratas ventiladas (Tabla R14 y Gráfico R25)

	N	% afectación ±DE	IC _{95%}
FiO ₂ 0,21	6	3,3±2,3	(1,0%-5,8%)
FiO ₂ 0,4	6	17,7±4,7	(12,7%-22,8%)
FiO ₂ 0,6	6	42,7±13,6	(28,4%-57,1%)
FiO ₂ 1	6	65,5±17,9	(46,7%-84,3%)

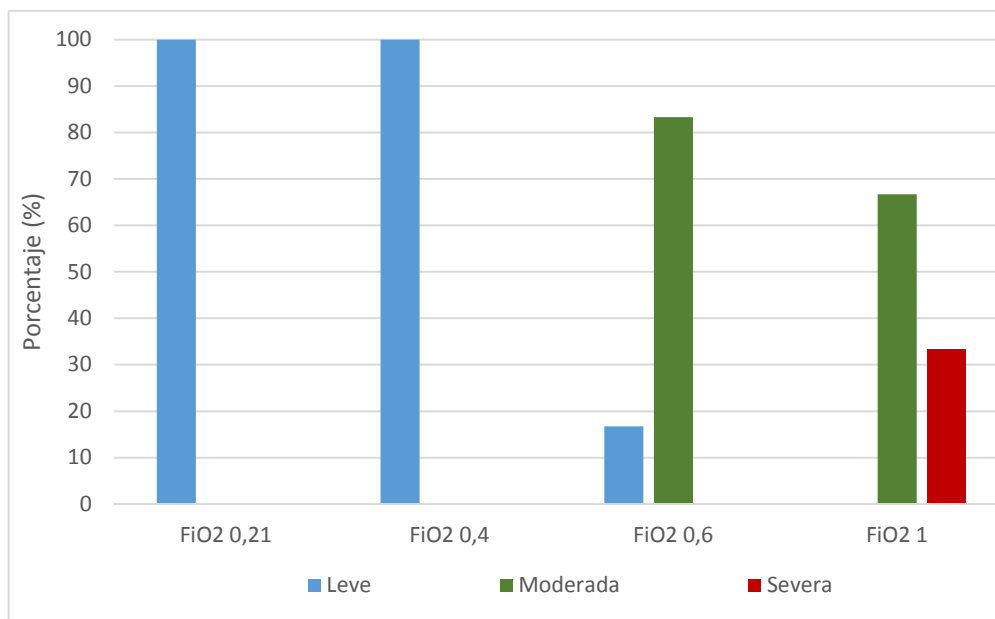
Tabla R14: p<0,001

GRÁFICO R25: DISTRIBUCIÓN DEL PORCENTAJE DE APARICIÓN DE FIBRINA INTRAALVEOLAR ENTRE LOS GRUPOS (MEDIANA Y P25-P75)



8.6.3c.- Distribución del grado de presencia de fibrina intraalveolar

(Tabla R15)



Grupo/Grado afectación	Leve	Moderado	Severo
FiO ₂ 0,21	100%		
FiO ₂ 0,4	100%		
FiO ₂ 0,6	16,7	83,33%	
FiO ₂ 1		66,67%	33,33%

Tabla R15: $p < 0,00001$

Cuando se valora la presencia de fibrina intraalveolar en los distintos grupos de animales, se apreció de manera estadísticamente significativa ($p < 0,001$) que había poca presencia en los grupos en los que se administró una FiO_2 por debajo de 0,6, si bien a partir de esta fracción inspiratoria de oxígeno la presencia de fibrina intraalveolar era mayor, categorizando estos cambios como moderados, la mayoría de ellos (83,33%) en el grupo de FiO_2 al 0,6, y severos (33,3%) en el grupo de FiO_2 al 1. El índice de correlación por grados de Spearman cuando se valoró la presencia de fibrina intraalveolar fue de 0,86 ($p < 0,00001$).

8.6.4.- ANÁLISIS DE LA PRESENCIA DE INFILTRADOS INTRAALVEOLARES DEPENDIENDO DE LA FiO_2 EMPLEADA

8.6.4a.- Presencia de infiltrados intraalveolares según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas (Tabla R16)

	N	Media \pm DE	IC _{95%}
FiO_2 0,21	6	3,0 \pm 3,0	(1,0-6,1)
FiO_2 0,4	6	13,0 \pm 1,7	(11,1-14,8)
FiO_2 0,6	6	32,6 \pm 6,5	(25,7-39,5)
FiO_2 1	6	39,3 \pm 10,7	(35,0-48,3)

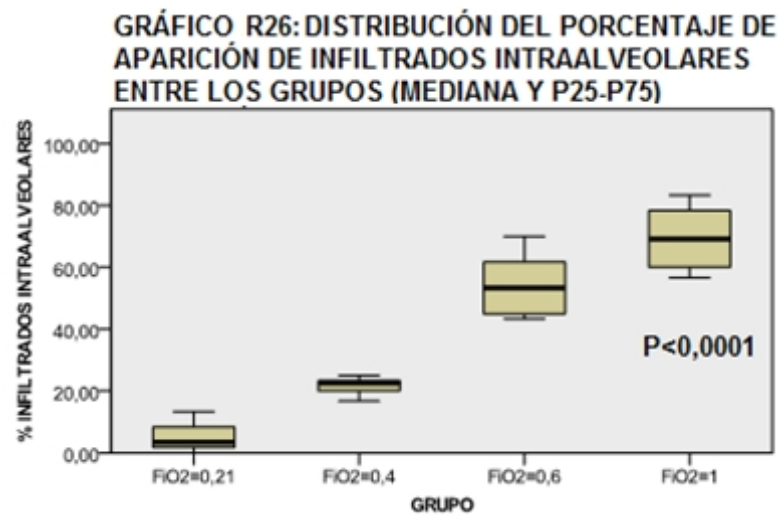
Tabla R16: $p < 0,001$ FiO_2 : Fracción inspiratoria de oxígeno; DE: Desviación estándar;

IC_{95%}: Intervalo de confianza.

8.6.4b.- Porcentaje de presencia de infiltrados intraalveolares según los distintos grupos de ratas ventiladas (Tabla R17 y Gráfico R26)

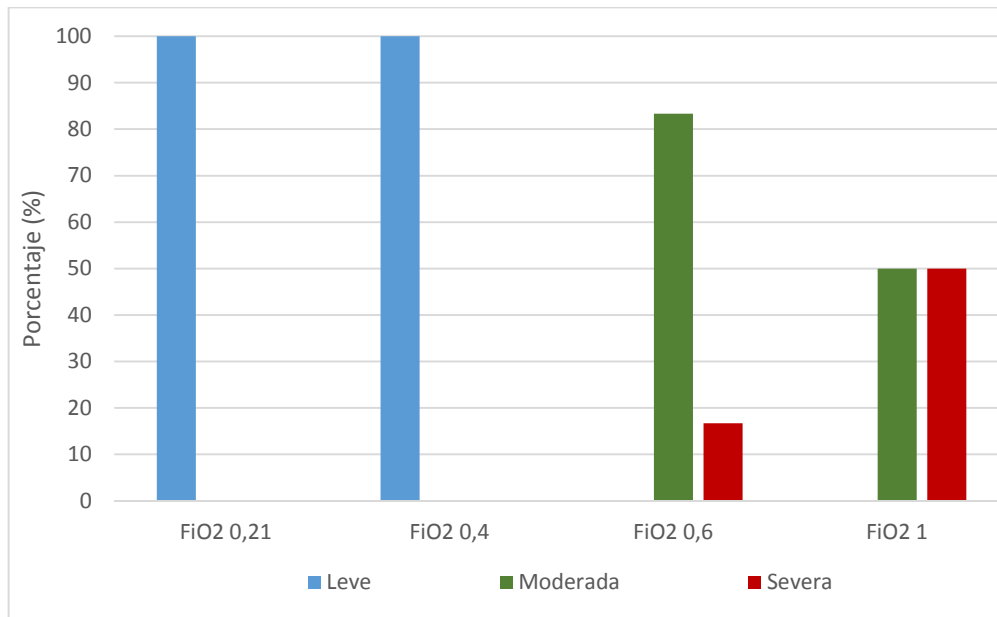
	N	% afectación \pm DE	IC _{95%}
FiO ₂ 0,21	6	5,0 \pm 5,1	(1,0%-10,3%)
FiO ₂ 0,4	6	21,6 \pm 2,9	(18,5%-24,7%)
FiO ₂ 0,6	6	54,4 \pm 10,9	(42,9%-65,9%)
FiO ₂ 1	6	69,4 \pm 10,5	(58,3%-80,5%)

Tabla R17: $p < 0,001$



8.6.4c.- Distribución del grado de presencia de infiltrados intraalveolares

(Tabla R18)



Grupo/Grado afectación	Leve	Moderado	Severo
FiO ₂ 0,21	100%		
FiO ₂ 0,4	100%		
FiO ₂ 0,6		83,33%	16,67%
FiO ₂ 1		50%	50%

Tabla R18: $p < 0,00001$

La presencia de infiltrados intraalveolares fue mayor en los grupos en donde la FiO₂ era más alta manteniendo diferencias significativas ($p < 0,001$). Se apreció cómo estos infiltrados se presentaban en menor medida en los grupos de FiO₂ al 0,21 y a 0,4 etiquetándose los cambios observados como de leves, para mostrar una evolución que iba del grado moderado a severo cuando utilizamos FiO₂ de 0,6 a 1 respectivamente. El índice de correlación por grados de Spearman cuando se valoró la presencia de fibrina intraalveolar fue de 0,86 ($p < 0,00001$).

8.6.5.- PATRÓN HISTOLÓGICO GLOBAL

8.6.5a.- Patrón histológico global según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas (Tabla R19)

	N	Media \pm DE	IC _{95%}
FiO ₂ 0,21	6	12 \pm 4,3	(7,4-16,5)
FiO ₂ 0,4	6	48,5 \pm 9,5	(38,5-58,4)
FiO ₂ 0,6	6	124,1 \pm 14,0	(109,4-138,8)
FiO ₂ 1	6	172,6 \pm 23,9	(147,5-197,7)

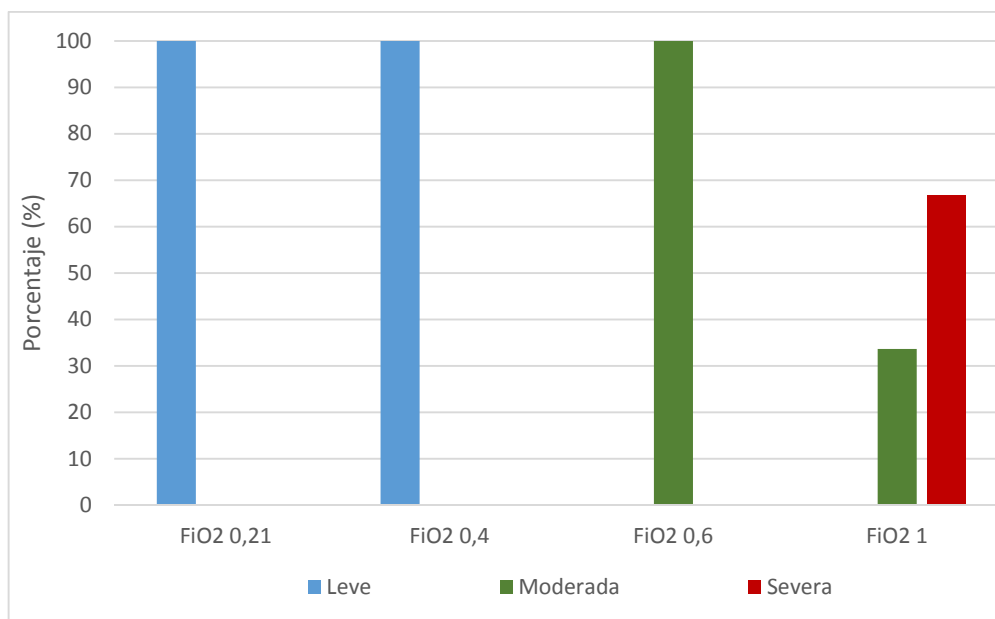
Tabla R19: $p < 0,001$ FiO₂: Fracción inspiratoria de oxígeno; DE: Desviación estándar; IC_{95%}: Intervalo de confianza.

8.6.5b.- Patrón histológico global estimado como porcentaje según los distintos grupos de ratas ventiladas (Tabla R20)

	N	% afectación \pm DE	IC _{95%}
FiO ₂ 0,21	6	5,0 \pm 1,8	(3,0%-6,9%)
FiO ₂ 0,4	6	20,2 \pm 3,9	(16,0%-24,3%)
FiO ₂ 0,6	6	51,7 \pm 5,8	(45,6%-57,8%)
FiO ₂ 1	6	71,9 \pm 9,9	(61,4%-82,4%)

Tabla R20: $p < 0,001$

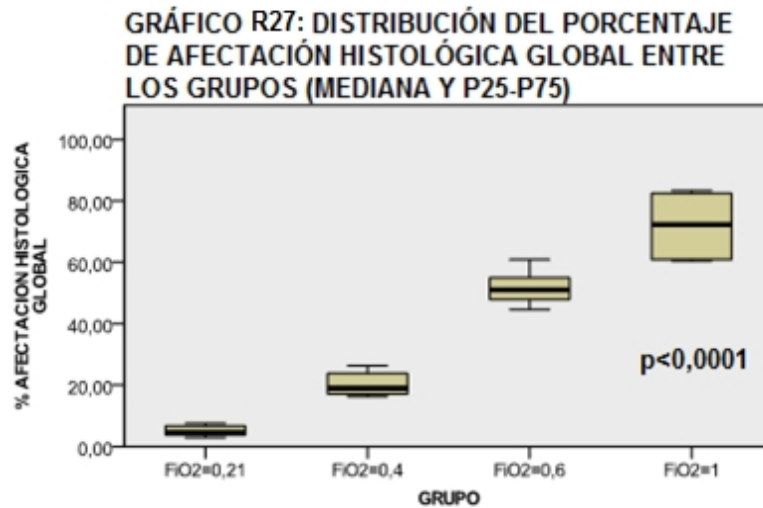
8.6.5c.- Categorización del patrón histológico global (Tabla R21)



Grupo/Grado afectación	Leve	Moderado	Severo
FiO ₂ 0,21	100%		
FiO ₂ 0,4	100%		
FiO ₂ 0,6		100%	
FiO ₂ 1		33,66%	66,67%

Tabla R21: $p < 0,0001$

Al analizar en patrón histológico global se apreció que se mantiene la tendencia vista por cada uno de los parámetros histológicos por separado. En los diferentes grupos, a medida que se aumentaba la FiO₂, los cambios histológicos eran más pronunciados, manteniendo las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$). Estos cambios se empezaron a apreciar desde que se incrementó la FiO₂ a 0,4, en donde el porcentaje de afectación pulmonar se cuadruplicó con respecto al grupo en el que se empleó una FiO₂ de 0,21 (5,0% en el grupo de 0,21 frente al 20,5% en el que se empleó 0,4). En los grupos en los que se empleó una FiO₂ de 0,6 y 1, se multiplicó por 10 y por 15 respectivamente el grado de afectación con respecto al grupo en los que se empleó una FiO₂ de 0,21 (5,0%, 51,7% y 75% respectivamente). Gráfico R27.



Por otro lado, según la categorización empleada, los cambios leves solo se pusieron de manifiesto en los grupos en los que se empleó una FiO_2 de 0,21 y de 0,4. Todos los cambios observados en el grupo con FiO_2 al 0,6 fueron moderados y la mayoría de los cambios que se apreciaron el grupo de FiO_2 al 1 fueron severos. El coeficiente de correlación por rangos de Spearman cuando se analizó el patrón histológico global fue de 0,91 ($p < 0,00001$).

8.6.6.- ANÁLISIS DE LOS CAMBIOS FIBRÓTICOS OBSERVADOS DEPENDIENDO DE LA FIO₂ EMPLEADA

Para el estudio de la fibrosis, también se realizó un recuento de 20 campos a x400 para obtener aproximadamente 400 alvéolos (media de 20 alvéolos por campo). El desarrollo de fenómenos fibróticos se cuantificó según la escala de Ashcroft (1988) modificada por Hübner (2008). Tabla R22. Los datos pormenorizados de los cambios fibróticos observados, están recogidos en el Anexo VII.

Grado de fibrosis	Escala modificada
0	Septos alveolares: Ausencia de acúmulos de fibrina. Estructura pulmonar: Normal.
1	Septos alveolares: Pequeños cambios fibróticos aislados (engrosamiento septal ≤ 3 veces el grosor normal). Estructura pulmonar: Alvéolos parcialmente agrandados y ramificados, pero sin presentar masas fibróticas.
2	Septos alveolares: Cambios fibróticos evidentes (engrosamiento septal >3 veces el grosor normal) con formación de conglomerados pero sin estar conectados con otros. Estructura pulmonar: Alvéolos parcialmente agrandados y ramificados, pero sin presentar masas fibróticas.
3	Septos alveolares: Paredes fibróticas contiguas (engrosamiento septal >3 veces el grosor normal) en todo los campos observados al microscopio. Estructura pulmonar: Alvéolos parcialmente agrandados y ramificados, pero sin presentar masas fibróticas.
4	Septos alveolares: Variables Estructura pulmonar: Masas fibróticas únicas que ocupan menos del 10% de los campos observados al microscopio.
5	Septos alveolares: Variables. Estructura pulmonar: Masas fibróticas confluyentes que ocupan entre el 10% y el 50% de los campos observados al microscopio. Estructura pulmonar severamente dañada pero, aún, preservada.
6	Septos alveolares: Variables. La mayoría no existen. Estructura pulmonar: Grandes masas fibróticas contiguas ($>50\%$ de los campos observados al microscopio). Arquitectura pulmonar generalmente no preservada.
7	Septos alveolares: No existen Estructura pulmonar: Alvéolos casi obliterados con masas fibróticas.
8	Septos alveolares: No existen. Estructura pulmonar: Alvéolos completamente obliterados con masas fibróticas.

Tabla R22: Escala modificada por Hübner y cols. que utilizamos para el estudio de la fibrosis pulmonar.

8.6.6a.- Cambios fibróticos según la puntuación obtenida en los distintos grupos de ratas ventiladas (Tabla R23)

	N	Media \pm DE	IC _{95%}
FiO ₂ 0,21	6	0,8 \pm 0,7	(0,4-1,6)
FiO ₂ 0,4	6	1,8 \pm 0,4	(1,4-2,2)
FiO ₂ 0,6	6	3,0 \pm 0,6	(2,3-3,6)
FiO ₂ 1	6	4,0 \pm 0	(4-4)

Tabla R23: $p < 0,001$ FiO₂: Fracción inspiratoria de oxígeno; DE: Desviación estándar; IC_{95%}: Intervalo de confianza.

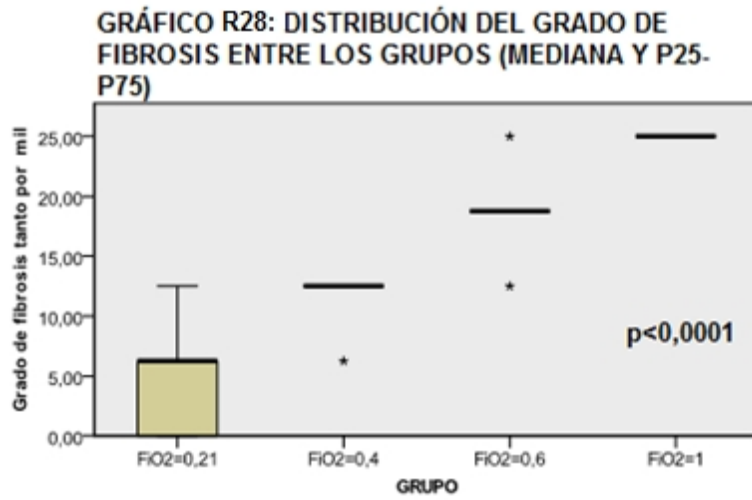
8.6.6b.- Cambios fibróticos estimados como tanto por mil según los distintos grupos de ratas ventiladas (Tabla R24)

	N	%o afectación \pm DE	IC _{95%}
FiO ₂ 0,21	6	5,2 \pm 4,7	(0,2%-10,1%)
FiO ₂ 0,4	6	11,4 \pm 2,5	(8,7%-14,1%)
FiO ₂ 0,6	6	18,7 \pm 3,9	(14,6%-22,8%)
FiO ₂ 1	6	25 \pm 0	(25%-25%)

Tabla R24: $p < 0,001$

El desarrollo de fenómenos fibróticos mostró diferencias entre los grupos, presentándose mayores cambios a medida que se aumentaba la FiO₂ ($p < 0,001$). En tanto por mil, con respecto al grupo de FiO₂ al 0,21, el grado de fibrosis se duplicó cuando se subió la FiO₂ a 0,4 y se quintuplicó cuando la FiO₂ empleada fue de 1 (5,2%o,

11,4‰ y 25‰ respectivamente). Gráfico R28. Entre los distintos grupos el coeficiente de correlación por rangos de Spearman fue de 0,93 ($p < 0,00001$).



8.7 ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE LAS ALTERACIONES HISTOLÓGICAS OBSERVADAS

8.7.1 GRUPO FiO₂ 0,21

En este grupo, las características histológicas del pulmón vienen representadas por los siguientes componentes: las células epiteliales alveolares (neumocitos I y neumocitos II), constituyentes de los alvéolos y sacos alveolares, el tabique interalveolar con fibroblastos/miofibroblastos, capilares sanguíneos, mastocitos, macrófagos, las vías aéreas mayores (bronquios y bronquiolos) y finalmente estructuras vasculares.

En la Foto R1 se aprecian algunos de los hechos previamente citados: alvéolos, sacos alveolares y vasos sanguíneos; en algunas de las estructuras vasculares de mayor calibre podemos observar un marcado edema; estas características histológicas se corresponden prácticamente con la estructura normal pulmonar.

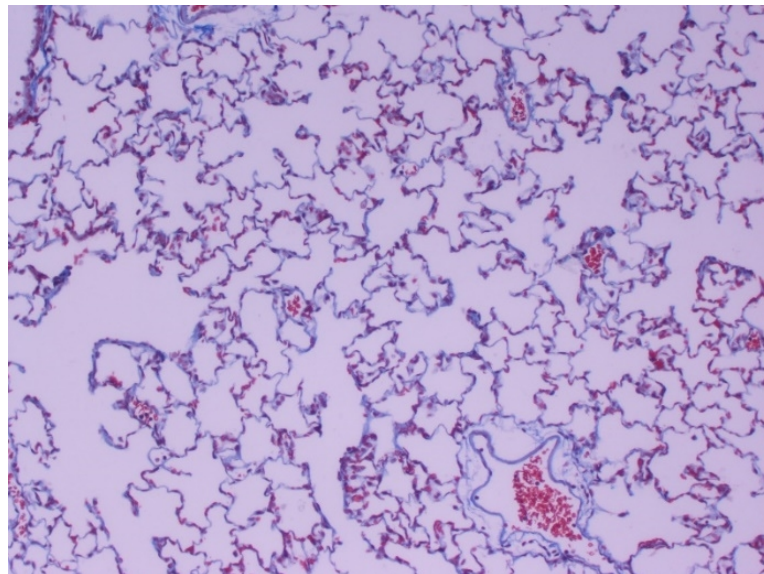


Foto R1. Masson-Goldner. x100

Cuando observamos estos hechos a mayor aumento, es de destacar la presencia de escasos elementos celulares inflamatorios que se localizan principalmente en las ya citadas áreas de edema perivascular (Foto R2).

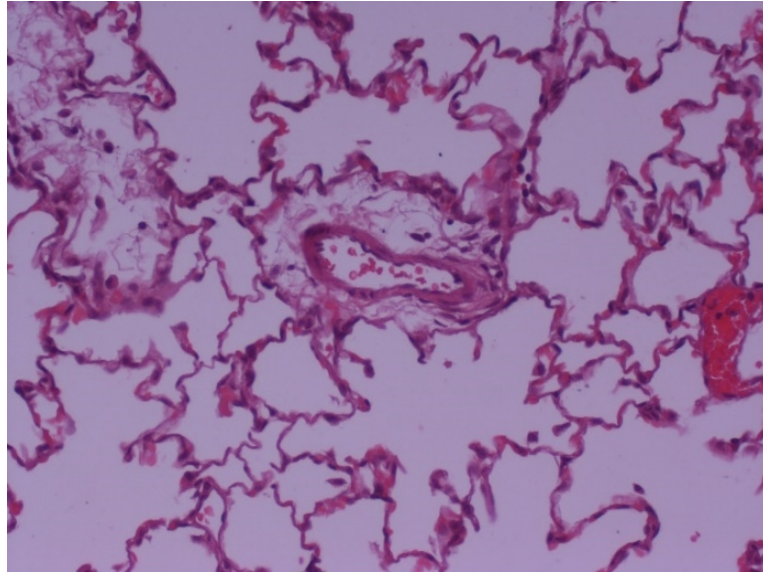


Foto R2. Hematoxilina-eosina. x200

Como ya hemos señalado, otro de los componentes habituales de los alvéolos son los macrófagos tanto los dispuestos en la luz alveolar como los intersticiales, tal y como podemos apreciar en la Foto R3 de un corte de pulmón teñido con la técnica inmunohistoquímica de la Mieloperoxidasa (MPx).

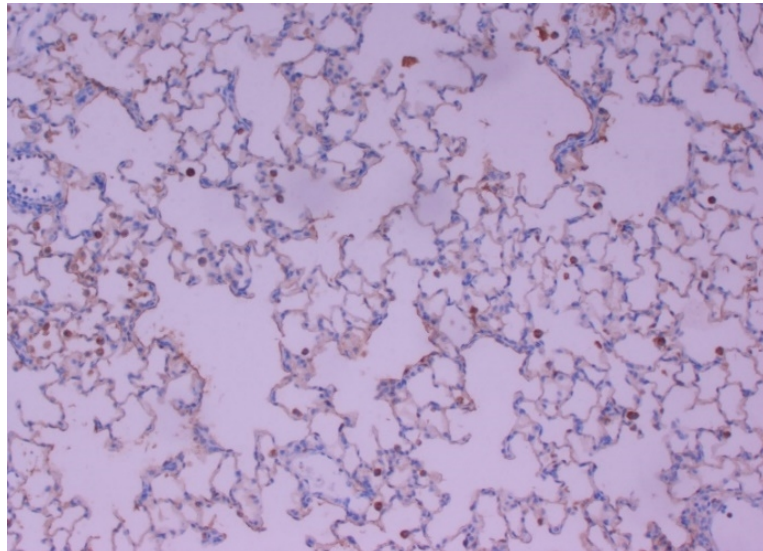


Foto R3. MPx. x100

Ocasionalmente se observan infiltrados inflamatorios de naturaleza mononuclear, los cuales son muy evidentes en áreas perivasculares (Foto R4).

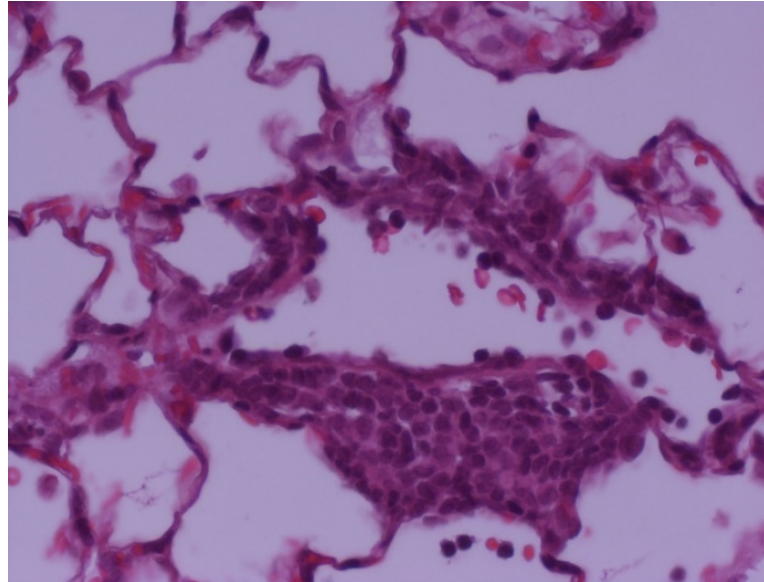


Foto R4. Hematoxilina-eosina. x400

Con respecto a los neumocitos II se ponen claramente de manifiesto en las paredes alveolares con la técnica inmunohistoquímica del TTF-1 (Fotos R5 y R6); por otro lado, el revestimiento pleural consiste en una capa simple de células mesoteliales subyacente a las cuales se disponen fibrillas colágenas e, inmediatamente por debajo, el componente alveolar (Foto R7).

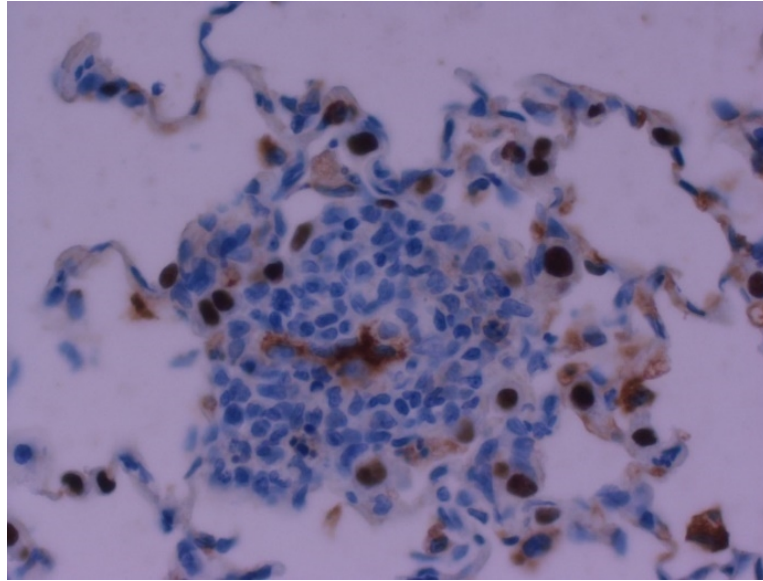


Foto R5. TTF-1. x400

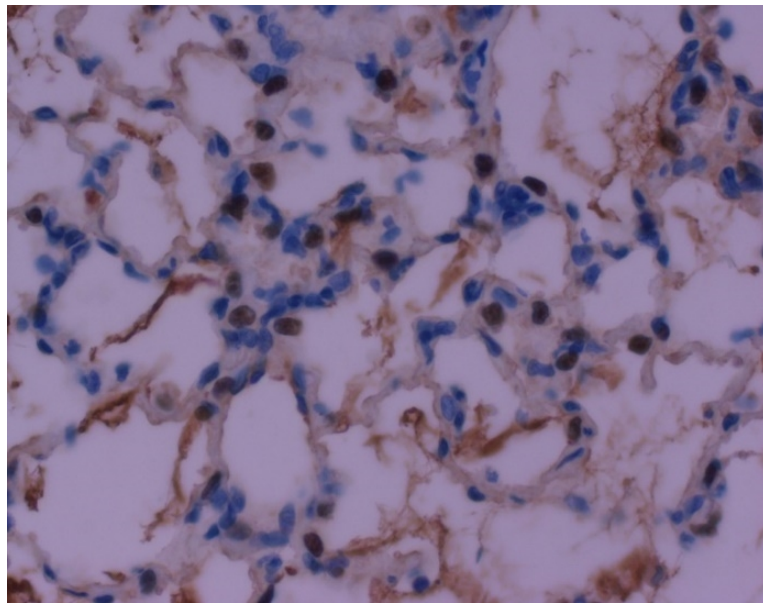


Foto R6. TTF-1. x400

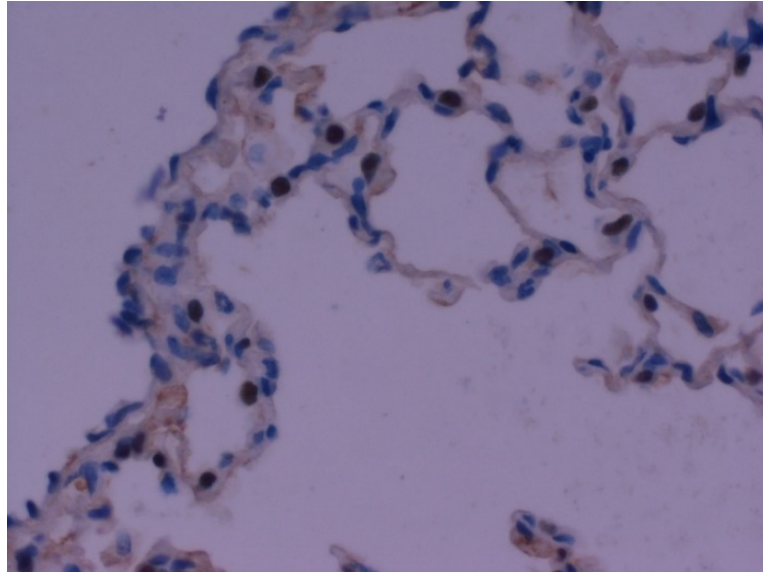


Foto R7. TTF-1 x400

Las grandes vías aéreas vienen representadas por bronquios (Foto R8) y bronquiolos (Foto R9) de diferente calibre, siendo muy evidentes con las técnicas convencionales de HE.

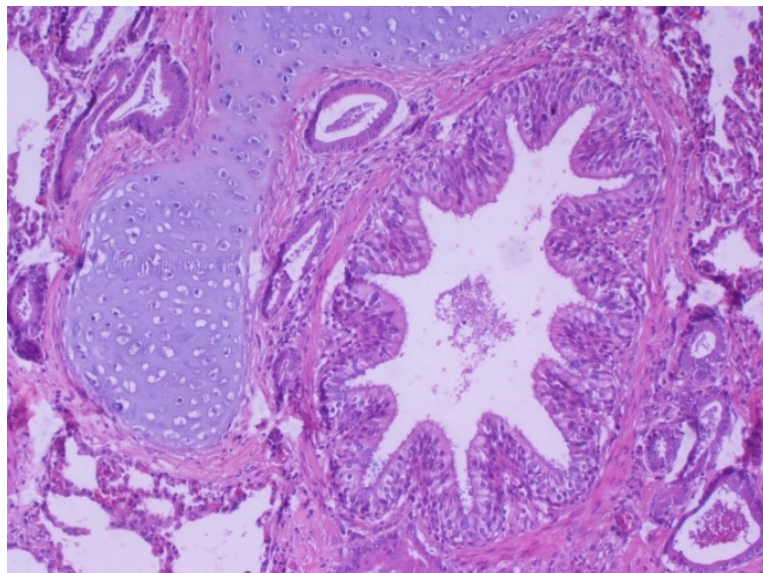


Foto R8. Hematoxilina-eosina. x200

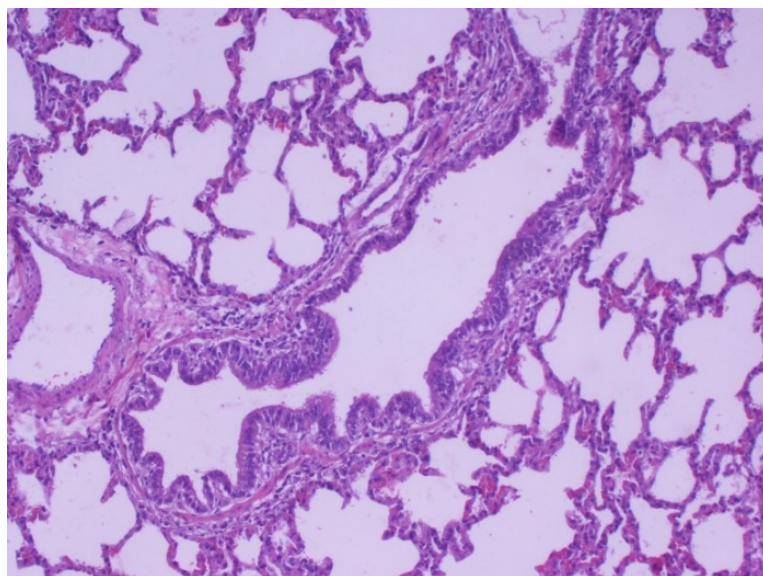


Foto R9. Hematoxilina-eosina. x200

8.7.2 GRUPO FiO_2 0,4

En este grupo comenzamos a observar modificaciones histológicas que afectan tanto al componente vascular como al alveolar, principalmente a los neumocitos II; la gran mayoría de los vasos de gran calibre, tanto arteriales como venosos, presentan un destacado edema perivascular (Foto R10).

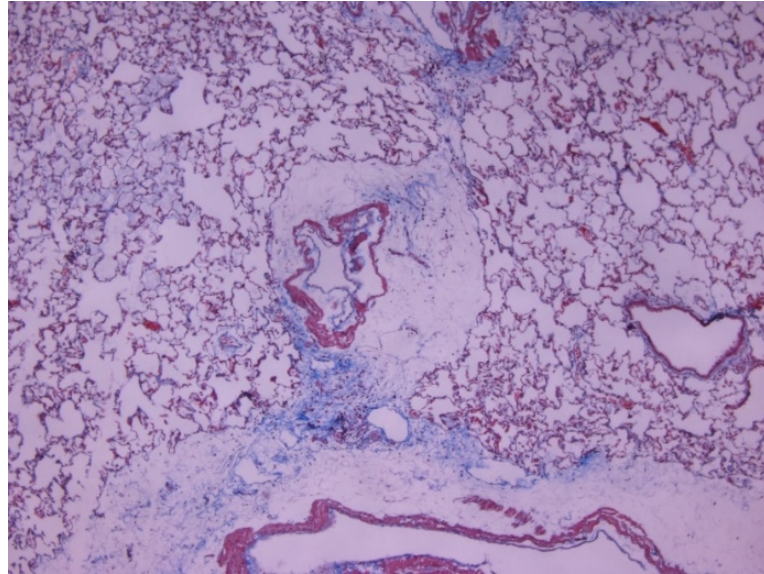


Foto R10. Masson-Goldner.

En otras áreas, se pueden apreciar atelectasias y fenómenos fibróticos que, ocasionalmente, constituyen pequeños acúmulos rodeados por elementos de naturaleza inflamatoria (Foto R11).

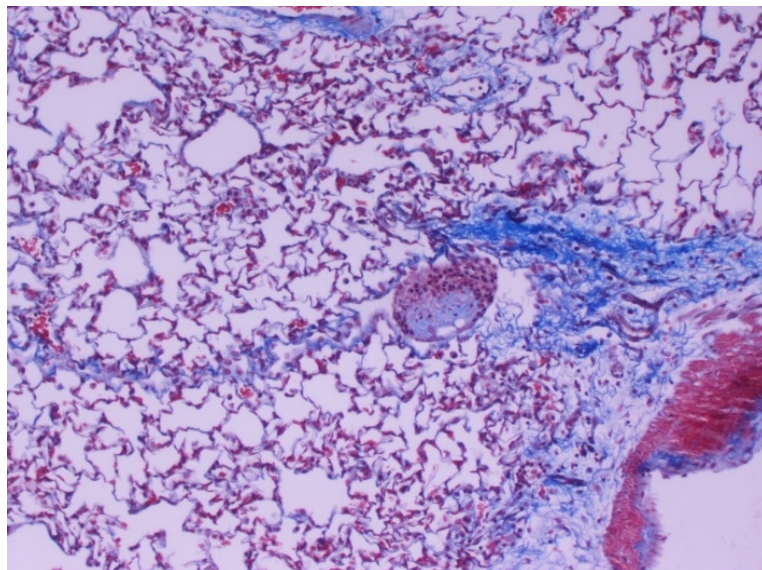


Foto R11. Masson-Goldner. x100

Este infiltrado inflamatorio constituye auténticas masas o nódulos, pudiendo ser apreciadas también alrededor de vasos, principalmente aquellos de naturaleza venosa (Fotos R12 y R13).

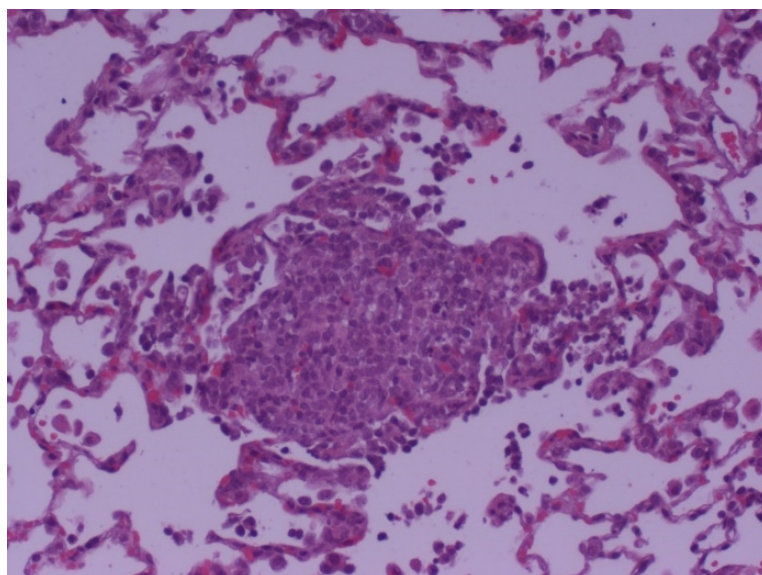


Foto R12. Hematoxilina-eosina. x200

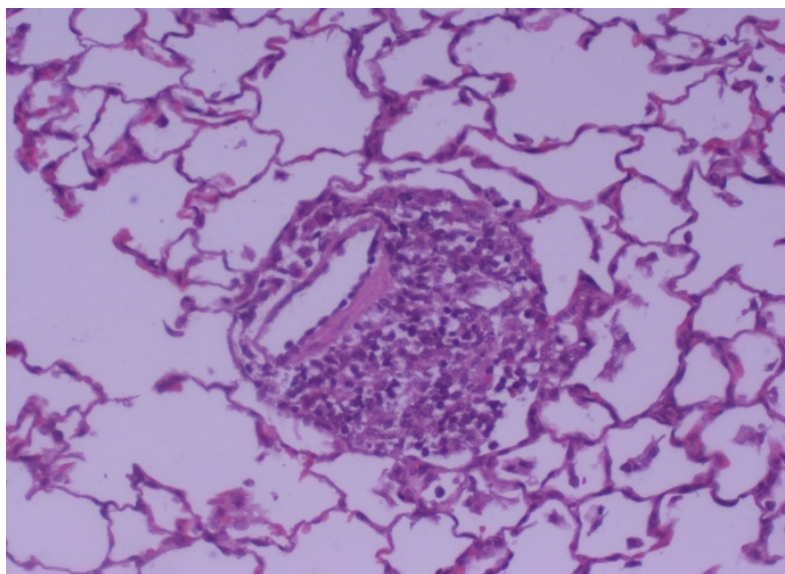


Foto R13. Hematoxilina-eosina. x200

En algunos alvéolos y sacos alveolares es posible observar modificaciones histológicas del tipo de hemorragias en grado leve (Foto R14) así como fibrosis, sobre todo en los alvéolos (Foto R15).

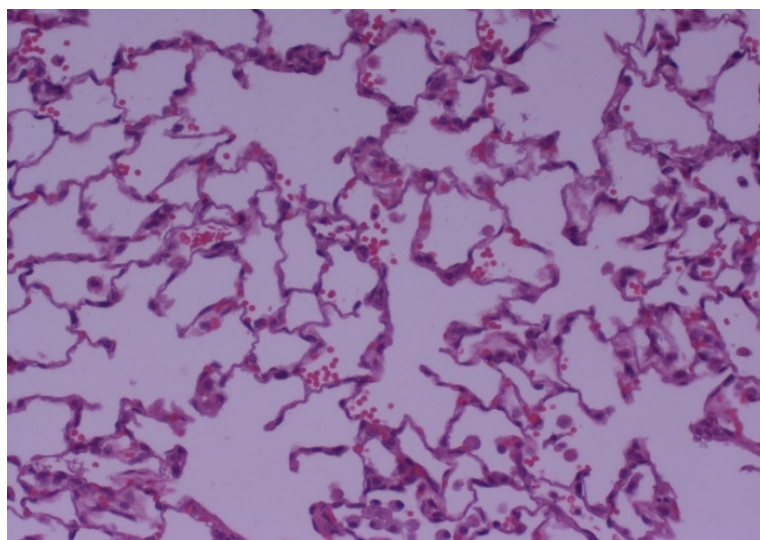


Foto R14. Hematoxilina-eosina. x200

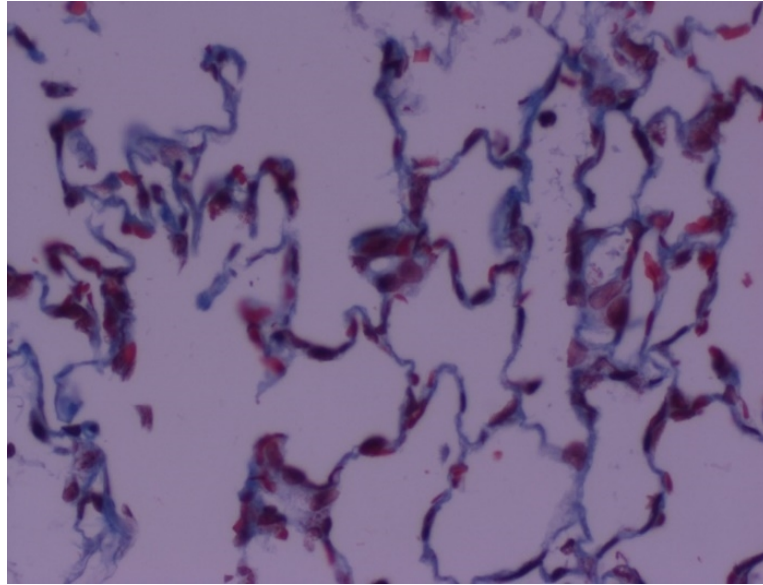


Foto R15. Masson-Goldner. x400

Con respecto a los neumocitos II y mediante la técnica inmunohistoquímica de TTF-1, observamos una hiperplasia de los mismos; este hecho es general en todo el parénquima pulmonar, aunque se aprecia un ligero predominio en áreas próximas a las atelectasias, así como en localizaciones subpleurales (Fotos R16 y R17).

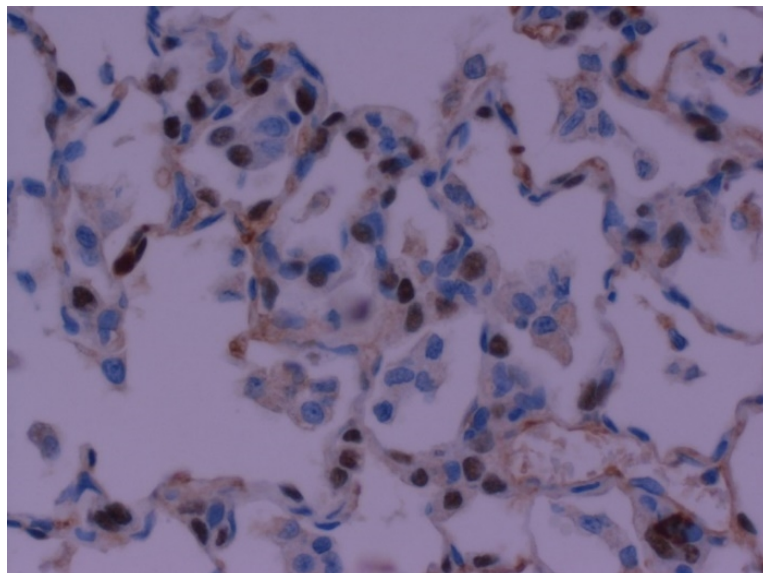


Foto R16. TTF-1. x400

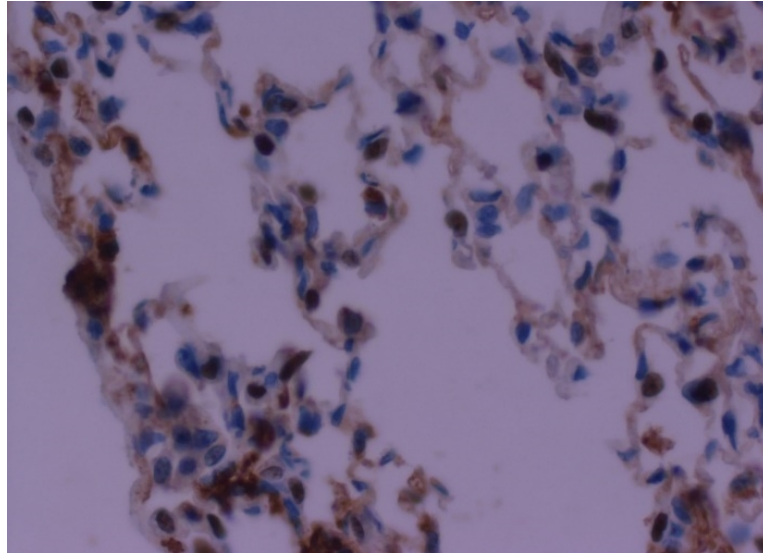


Foto R17. TTF-1. x400

Con respecto a las vías aéreas, estas no mostraban prácticamente modificaciones histológicas de ningún tipo, tal y como podemos observar en la Foto R18, en donde se distinguen dos bronquiolos y adyacente a uno de ellos un vaso de naturaleza arterial; el resto del parénquima pulmonar aparece constituido por alvéolos y sacos alveolares con abundantes neumocitos II marcados intensamente en su núcleo con la técnica inmunohistoquímica del TTF-1.

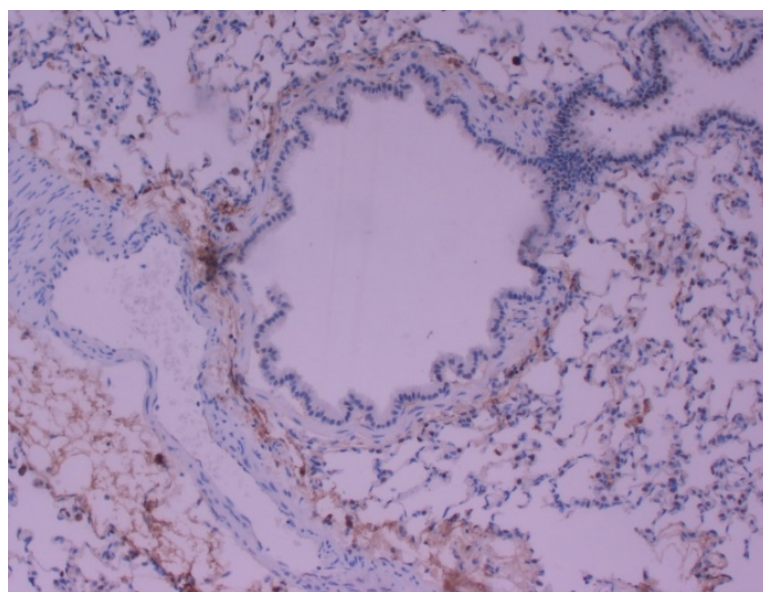


Foto R18. TTF-1. x100

8.7.3 GRUPO FiO₂ 0,6

En este grupo se manifiestan en mayor medida todos los hechos morfológicos ya observados en el grupo de ventilación con FiO₂ de 0,4. Así, el edema perivascular es prácticamente general en todas las estructuras vasculares, tanto arteriales como venosas y de diverso calibre (Foto R19), hay marcadas atelectasias (Fotos R20 y R21) así como hemorragias alveolares (Foto R22) e infiltrados inflamatorios intersticiales (Fotos R23 y R24).

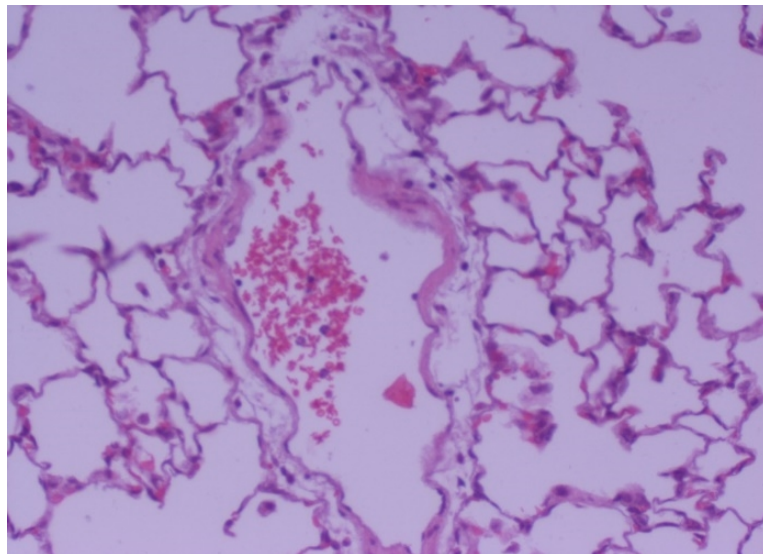


Foto R19. Hematoxilina-eosina. x200

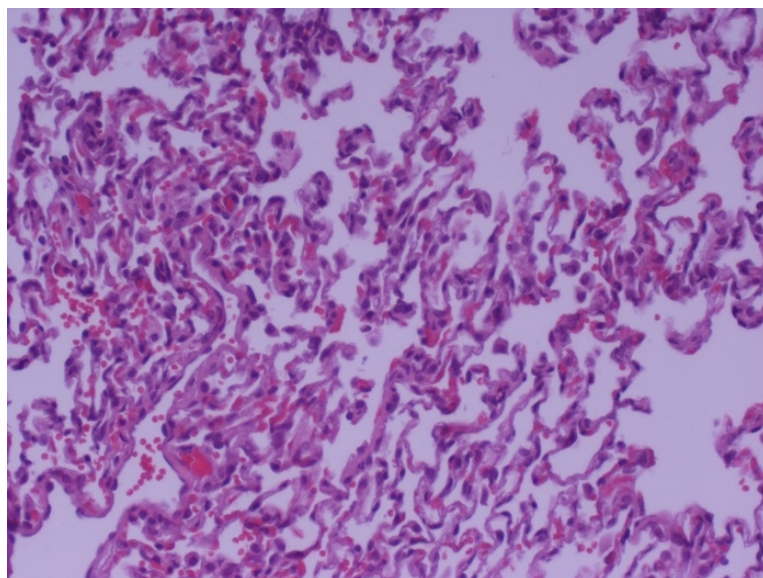


Foto R20. Hematoxilina-eosina x200 (HE)

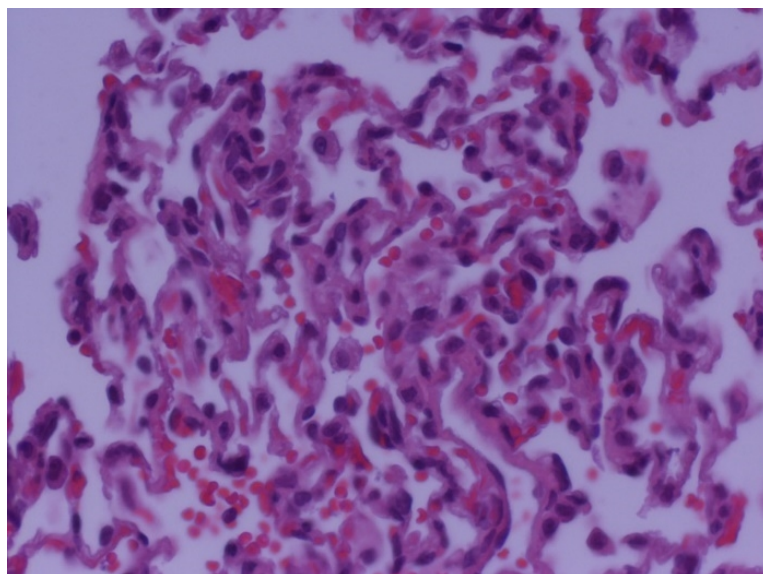


Foto R21. Hematoxilina-eosina x400

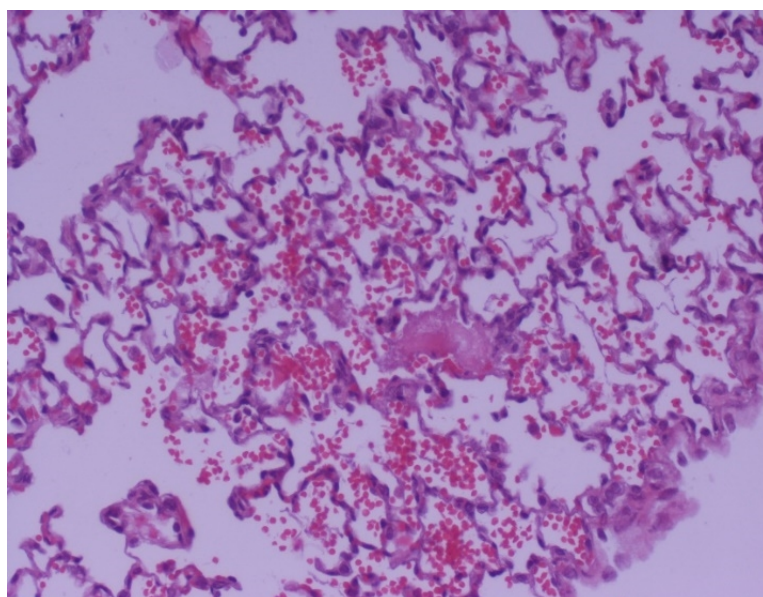


Foto R22. Hematoxilina-eosina. x200

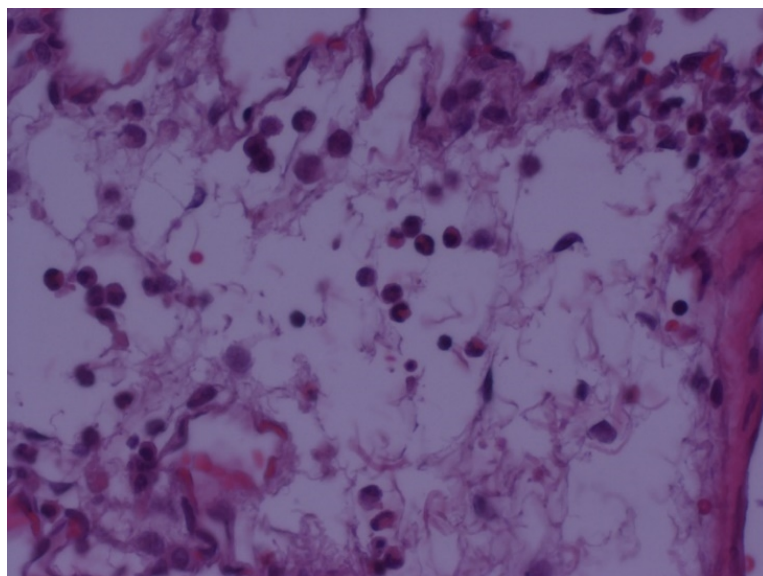


Foto R23. Hematoxilina-eosina. x400

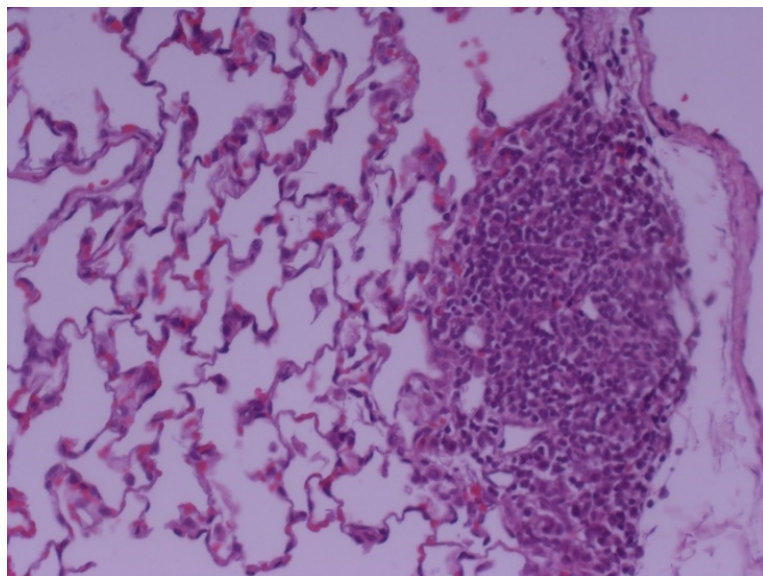


Foto R24. Hematoxilina-eosina. x200

Con respecto a los neumocitos tipo II, observamos un destacado incremento de los mismos, superior incluso a la hiperplasia del grupo de FiO_2 a 0,4 (Fotos R25 y R26).

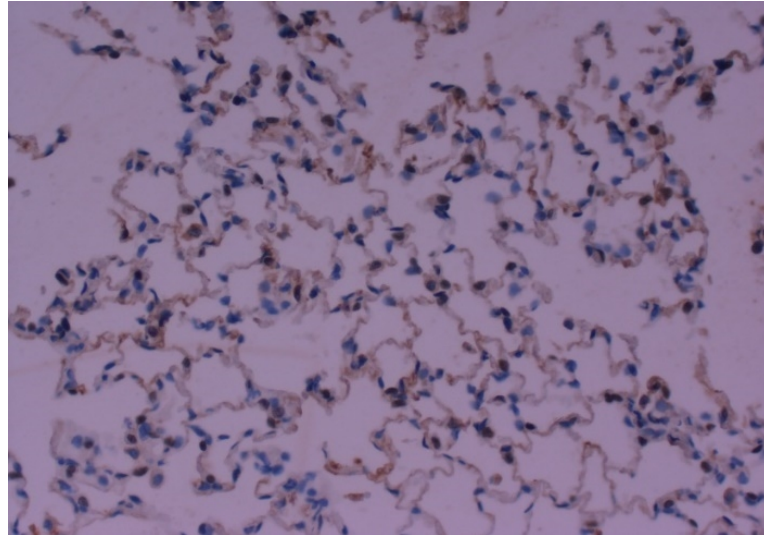


Foto R25. TTF-1. x200

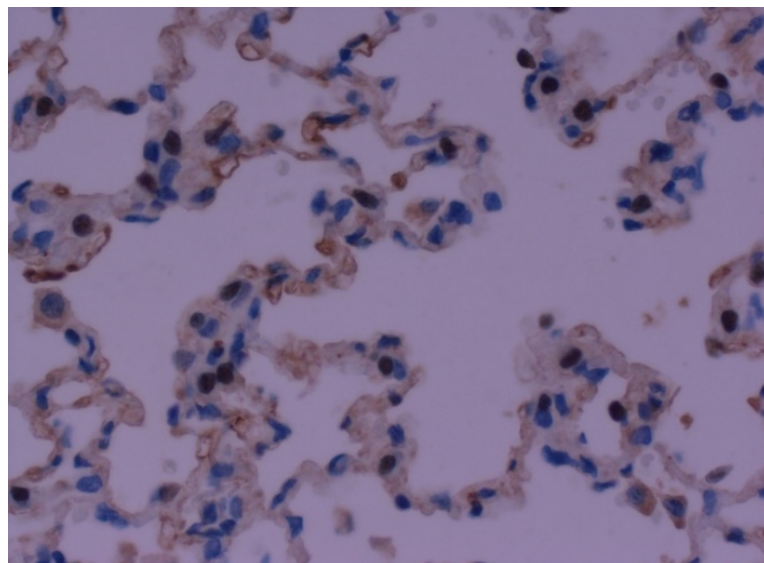


Foto R26. TTF-1. x400

Uno de los hechos destacados de este grupo es la presencia en mayor proporción de fibrosis alveolar; este hecho se pone claramente de manifiesto cuando se realizaba la técnica de Masson-Goldner, ya que las fibras colágenas captan intensamente el Azul de Anilina (Fotos R27 y R28).

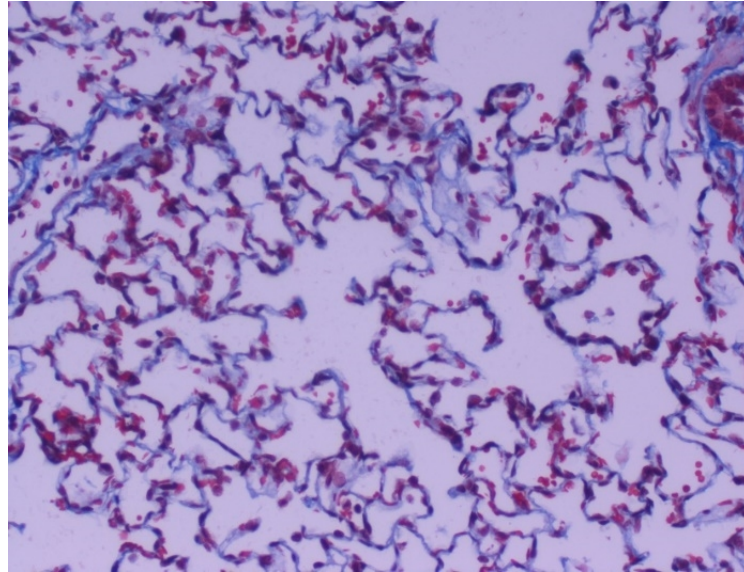


Foto R27. Masson-Goldner. x200

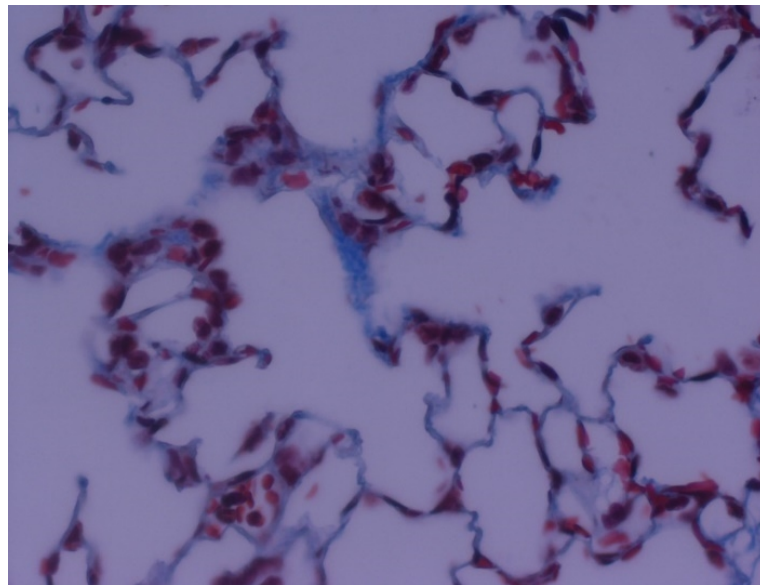


Foto R28. Masson-Goldner. x400

8.7.4 GRUPO FiO₂ 1

Este grupo está caracterizado por la máxima expresión de las modificaciones histológicas en los grupos citados previamente.

Así, es evidente un destacado edema perivascular (Foto R29), hemorragia alveolar (Foto R30), fenómenos inflamatorios con presencia de células espumosas (Foto R31) y, en ocasiones, los macrófagos se disponían periféricamente a algunos vasos, los cuales mostraban unos marcados cojinetes musculares (Foto R32).

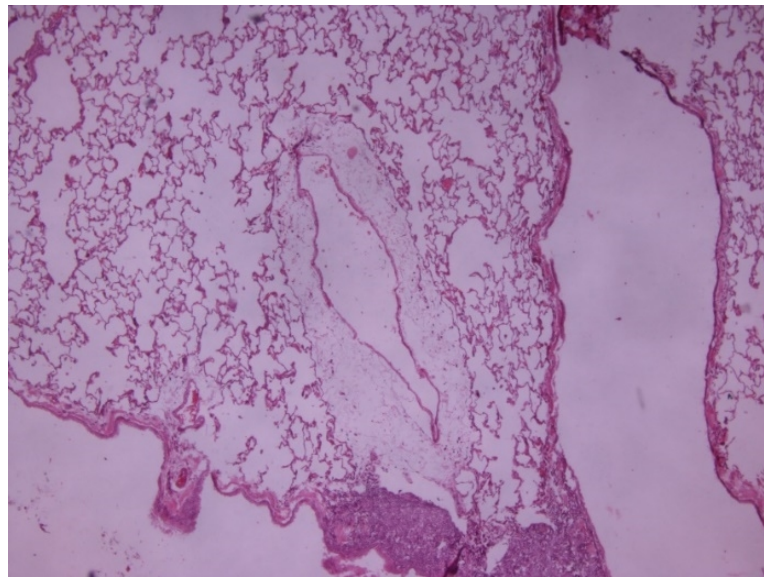


Foto R29. Hematoxilina-eosina. x40

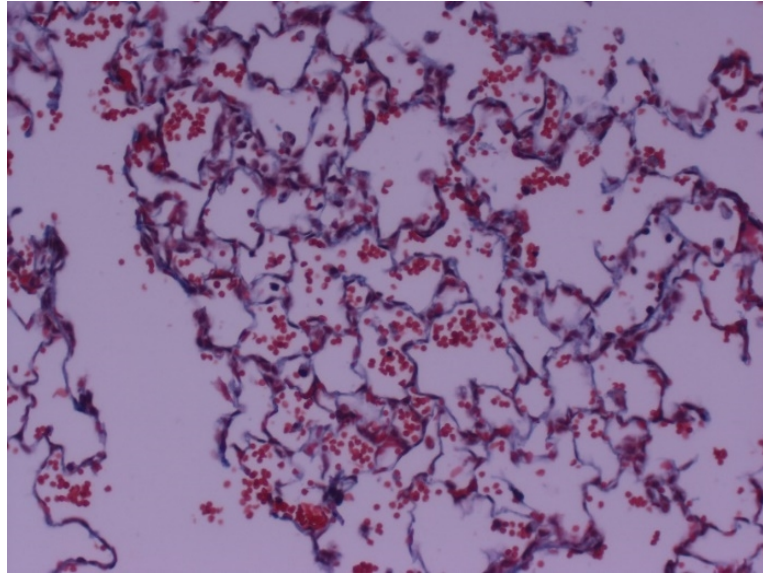


Foto R30. Masson-Goldner. x200

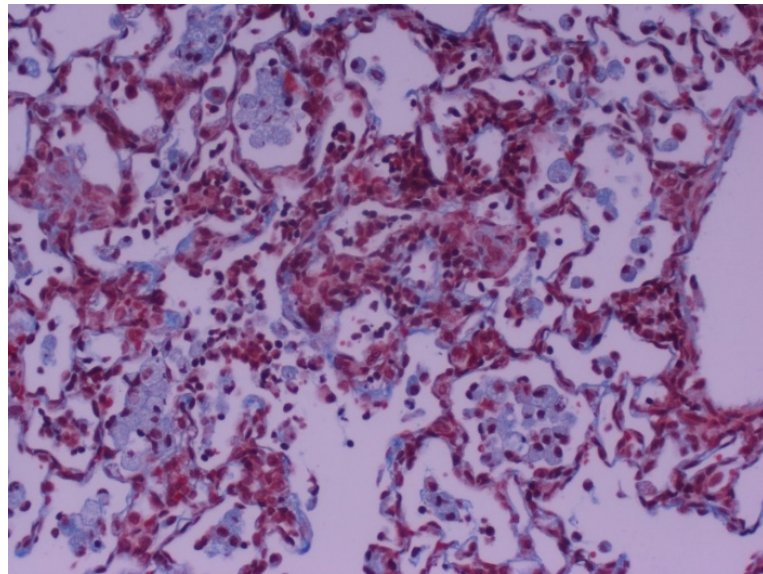


Foto R31. Masson-Goldner. x200

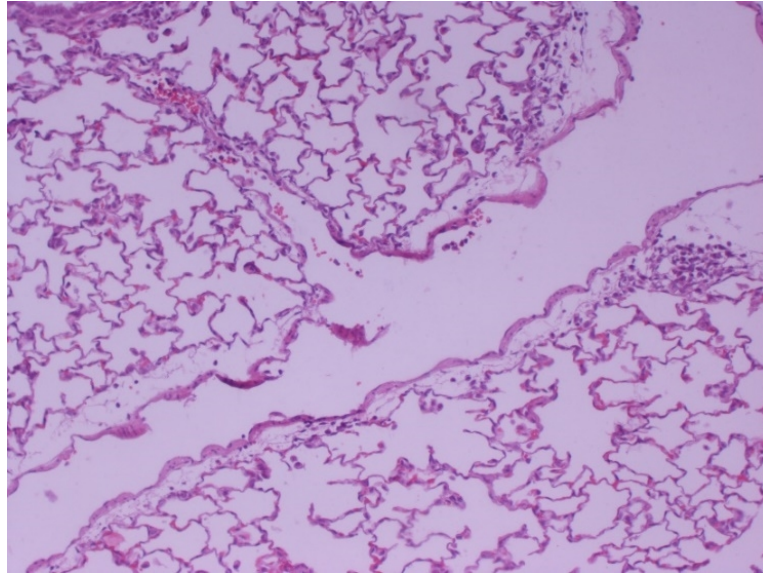


Foto R32. Hematoxilina-eosina. x200 (HE)

También los macrófagos alveolares son destacados, tal y como podemos observar en las Fotos R33 y R34.

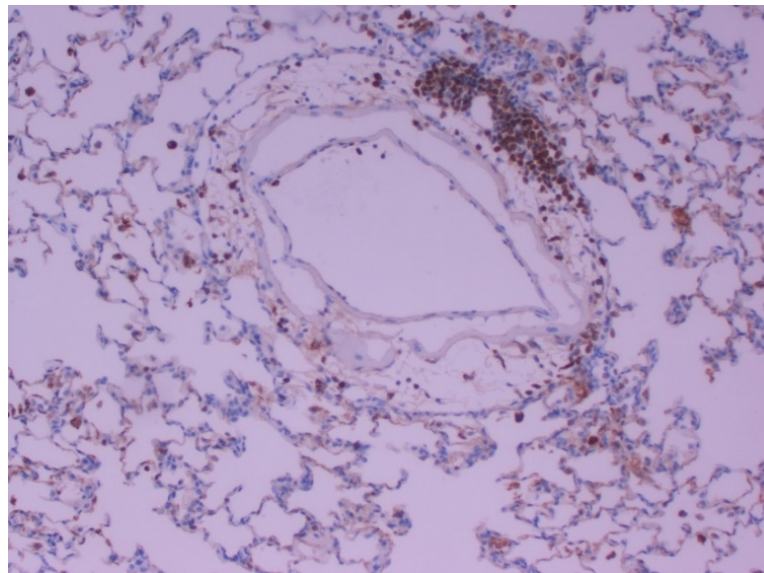


Foto R33. MPx. x 100

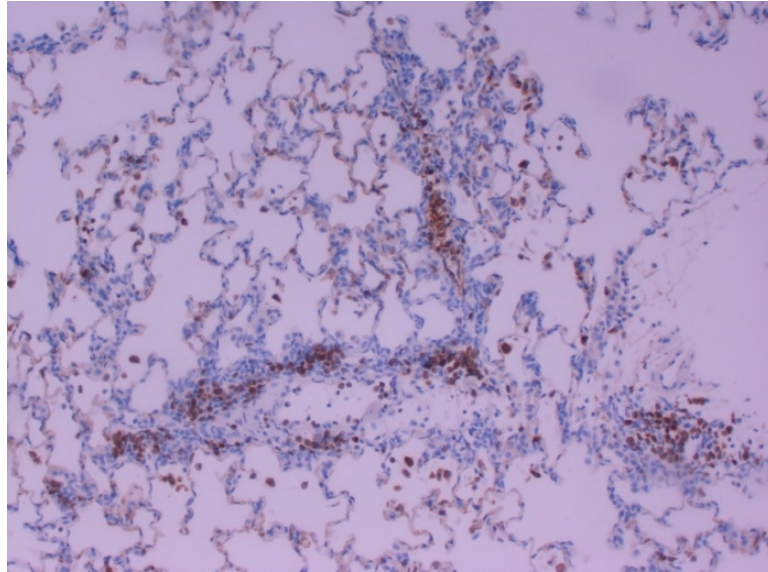


Foto R34. MPx. x100

Con respecto a la fibrosis, alcanza su máximo desarrollo en este grupo (Foto R35), al igual que las atelectasias (Foto R36).

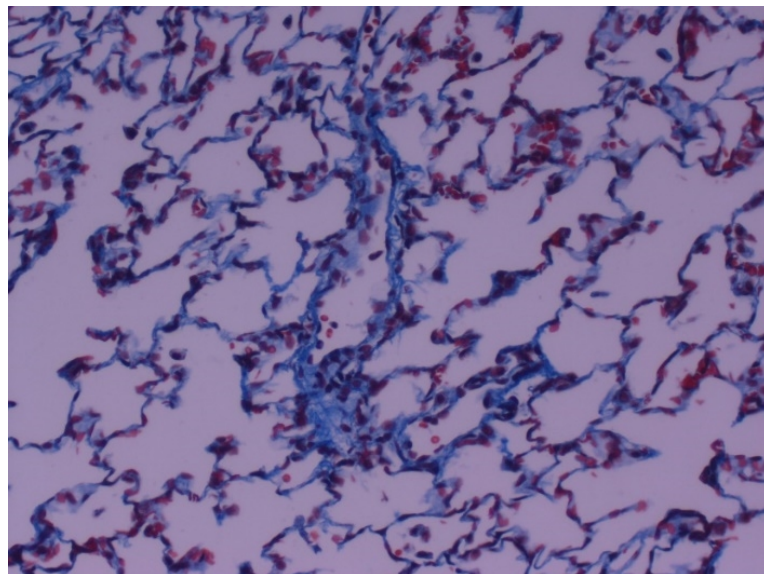


Foto R35. Masson-Goldner. x 200

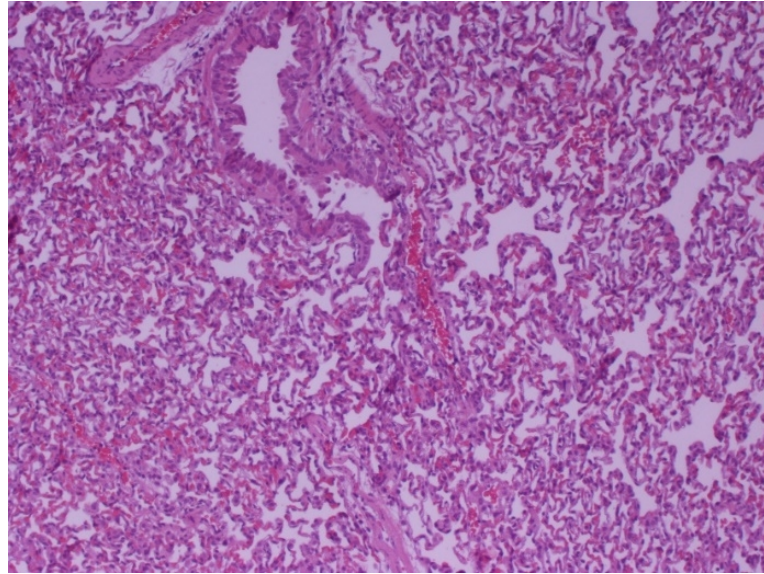


Foto R36. Hematoxilina-eosina. x100

Finalmente los neumocitos II mostraban una marcada hiperplasia, puesta de manifiesto con la técnica inmunohistoquímica del TTF-1; estas células se podían observar con un ligero incremento en áreas peribronquiolares y subpleurales (Fotos R37 y R38)

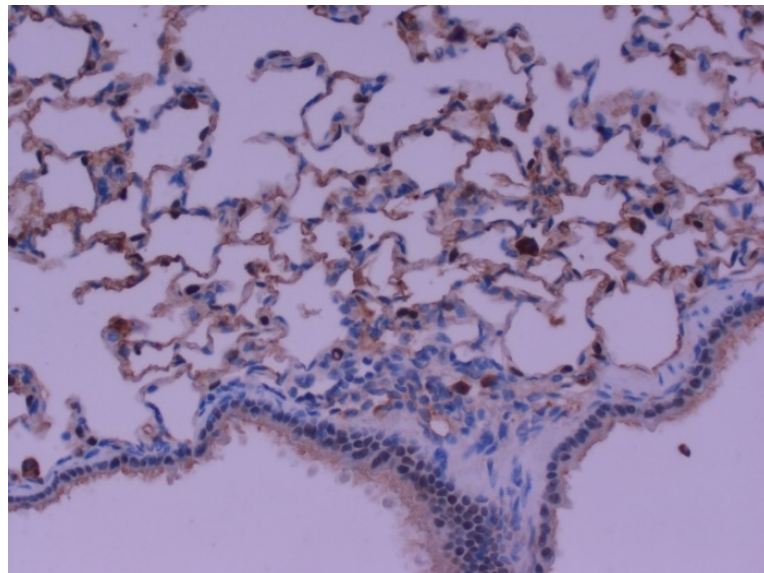


Foto R37. TTF-1. x200

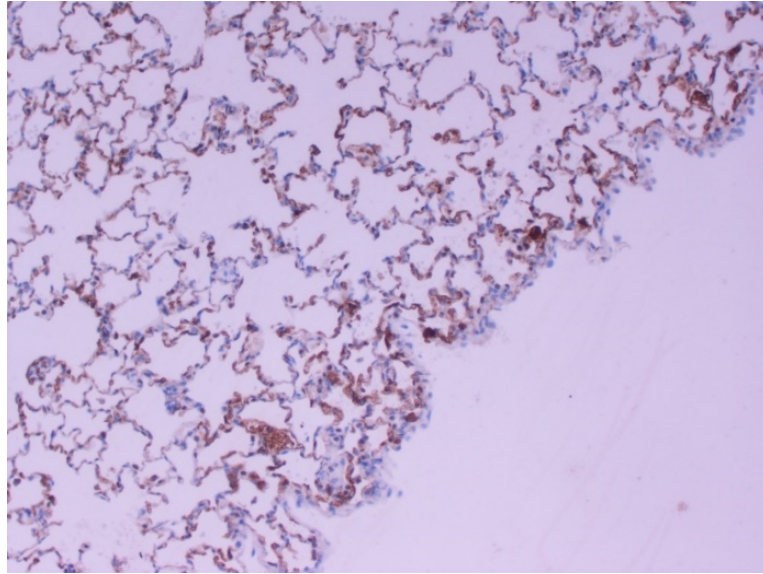


Foto R38. TTF-1. x100

Con respecto al resto del parénquima pulmonar mostraba un intenso marcaje de estas células aunque sin presentar ya una distribución específica, pudiendo apreciarse su distribución como células aisladas o formando pequeños acúmulos (Fotos R39 y R40).

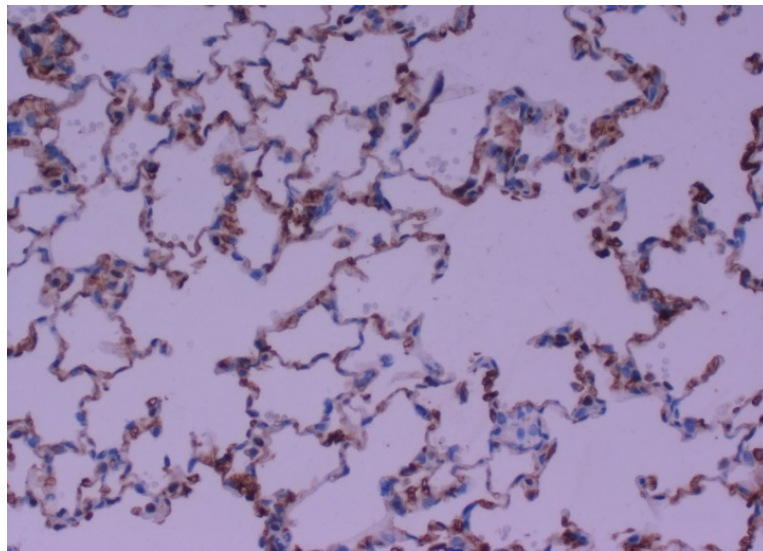


Foto R39. TTF-1. x200

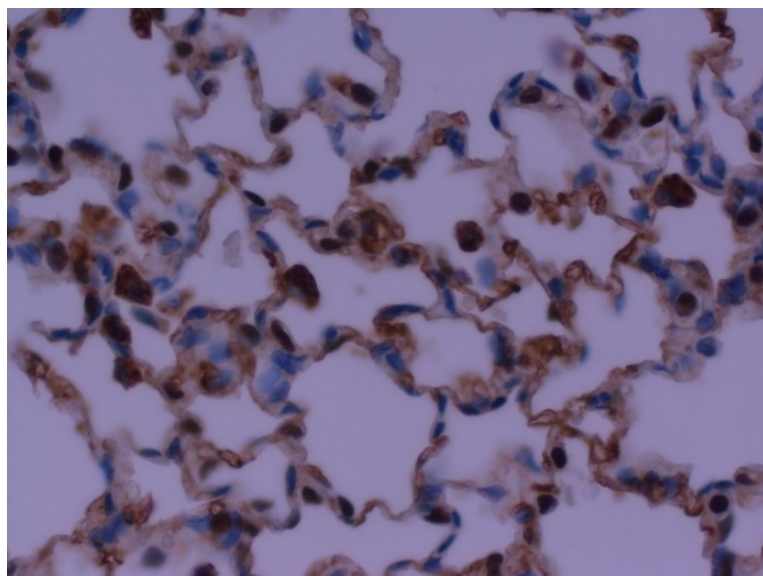


Foto R40. TTF-1 x400

9. DISCUSIÓN

El principal hallazgo de esta tesis doctoral es que la ventilación mecánica utilizando una estrategia protectora pulmonar con volumen inspiratorio (*tidal*) bajo y PEEP produce, tras cuatro horas de exposición en animales sanos, alteraciones histológicas, clínicas y moleculares. Además de esto, cuando se emplean distintas concentraciones de oxígeno, determinados cambios son más pronunciados.

La ventilación mecánica, puede provocar daños pulmonares asociados o inducidos por el ventilador (VALI o VILI). Como ya hemos señalado, la ventilación mecánica que utiliza VT altos puede dañar el pulmón mediante la sobredistensión del tejido pulmonar (volutrauma), siendo los alvéolos más sanos, con una mayor distensibilidad, los más propensos a este tipo de daño. El colapso cíclico y la reapertura de alvéolos pueden también dañar el tejido pulmonar (atelectrauma). Por tanto, optimizando los ajustes del ventilador para evitar atelectasias cíclicas y la sobredistensión de los alvéolos se limitará el daño pulmonar. En un estudio sobre 3261 pacientes que no tenían SDRA a la inclusión y que posteriormente lo desarrollaron, se apreció que la programación inicial en el ventilador de un VT alto casi triplicaba las probabilidades de que los pacientes desarrollasen SDRA (Gajic y cols. 2005).

En lo que respecta a la concentración de oxígeno que se debe utilizar, tanto inicialmente como durante el tiempo que un paciente permanezca conectado a la ventilación mecánica, existen muchas polémicas. La ventilación prolongada con FiO_2 muy altas ($\geq 0,8$) ocasiona lesión pulmonar aguda secundaria a la hiperoxia (HALI) y, si no se reduce la concentración de oxígeno, la evolución clínica será fatal. Por lo tanto, la severidad del HALI es directamente proporcional a la presión parcial de oxígeno (sobre todo cuando es superior a 450 mmHg) y al tiempo de exposición.

La ventilación mecánica con concentraciones de oxígeno suprafisiológicas se emplea de manera rutinaria para tratar a pacientes en los que resulta complicado mantener la oxigenación (aquellos con una $SaO_2 < 90\%$). Si bien las concentraciones de oxígeno cercanas al 100% se utilizan en raras ocasiones y solo en los pacientes más

graves, las concentraciones de oxígeno alrededor del 50 al 60% se utilizan habitualmente y durante periodos prolongados de tiempo. La exposición prolongada a la hiperoxia no solo producirá toxicidad pulmonar, sino que también puede ocasionar efectos adversos en múltiples órganos (ojos, sistema nervioso central, corazón, etc.) debido al daño oxidativo sobre las células endoteliales y epiteliales.

Además, niveles altos de FiO_2 y valores elevados de PaO_2 se asocian a un incremento de la mortalidad en los pacientes críticos, como se apreció en un análisis retrospectivo de datos recogidos durante las primeras 24 horas de ingreso en más de 36000 pacientes (Jonge y cols. 2008). Un estudio posterior del mismo grupo de trabajo desveló que en la práctica clínica, a pesar de obtener valores altos de PaO_2 (establecidos como mayores de 120 mmHg) en las gasometrías arteriales de los pacientes críticos, no se disminuía la FiO_2 si esta era de 0,4 o menor (Graaff y cols. 2011). Todo esto va en consonancia con la conclusión obtenida por un grupo de investigadores canadienses que hace referencia a la heterogeneidad que existe entre los médicos a la hora de abordar la administración de oxígeno (Mao y cols. 1999).

Una de las primeras medidas que se aplican cuando un paciente está grave, independientemente de la causa de su enfermedad, es administrar oxígeno. En las guías de la Sociedad Británica del Tórax se recomienda, como medida inicial en los pacientes críticos y siempre y cuando el paciente no esté en riesgo de presentar una insuficiencia respiratoria hipercápnica, el comenzar con la administración de oxígeno a través de una mascarilla-reservorio con un flujo establecido de 15 litros/minuto, con el propósito de conseguir una saturación periférica de oxígeno entre 94 y 98% (O'Driscoll y cols. 2008). Sin embargo, el empleo de oxígeno a concentraciones superiores a las presentes en el aire ambiente ha sido motivo de debate. Si la suplementación a concentraciones altas está indicada en casos de hipoxemia, no está claro si esta medida deba seguirse en los casos en que los pacientes permanezcan normoxémicos. En este sentido, y para apreciar que este hecho no es un problema solamente pulmonar, se ha

estudiado el efecto de la suplementación de oxígeno frente a no suplementarlo en los pacientes con infarto agudo de miocardio (IAM), apreciándose cómo el tratamiento con oxígeno es apropiado en los casos de pacientes con IAM e hipoxémicos, pero en aquellos que no presenten niveles bajos de oxígeno su suplementación no está recomendada ni para aliviar los síntomas ni para reducir el tamaño del IAM, pudiendo aumentar el daño miocárdico y el tamaño del IAM a largo plazo (Stub y cols. 2015).

Además de en el IAM, se ha visto que en el ictus isquémico agudo, la administración prolongada de oxígeno puede ser dañina, aumentando la mortalidad al año (69% de supervivencia al año en los que recibieron $FiO_2 = 1$ durante las primeras 24 horas post-ictus, frente a 73% en el grupo control), no estando recomendada su administración en pacientes que no presenten hipoxemia (Rønning y cols. 1999). En la resucitación neonatal, el empleo de FiO_2 cercanas a 1, aspecto que tradicionalmente ha sido un dogma, se ha cuestionado y desplazado por el empleo de aire ambiente en las etapas iniciales. La utilización de altas concentraciones de oxígeno en estas situaciones se ha relacionado con mayor mortalidad, con la presencia de lesiones cardíacas, renales y de mayor riesgo de leucemia y cáncer en la infancia (Saugstad y cols. 2006, Spector y cols. 2005). También se ha visto en la reanimación cardiopulmonar del paciente adulto que el empleo de concentraciones altas de oxígeno ocasiona mal pronóstico neurológico, posiblemente debido a las lesiones de isquemia-reperfusión que se producen en estos estados y a su efecto sobre el sistema nervioso central. En un estudio retrospectivo de más de 6000 pacientes que sufrieron una parada cardiorespiratoria, la hiperoxia (definida como una PaO_2 mayor de 300 mmHg) se asoció con una peor evolución que la normoxemia (PaO_2 entre 60-300 mmHg) y la hipoxemia (PaO_2 menor de 60 mmHg) (Kilgannon y cols. 2010).

Para investigar la trascendencia de la hiperoxia en el manejo diario de los pacientes sometidos a ventilación mecánica, una encuesta realizada en tres hospitales docentes en Holanda mostró que el 37% de los encuestados consideraban que a la hora

de pautar los parámetros del ventilador, la fracción inspiratoria de oxígeno que se administraba era un dato a tener en cuenta para evitar la lesión pulmonar asociada a la hiperoxia, pero no lo consideraban como uno de los principales problemas. En esta misma línea, sí consideraban el principal objetivo para evitar la lesión pulmonar aguda asociada a la ventilación mecánica utilizar un VT bajo y limitar las presiones del ventilador. Solo el 16% de los encuestados consideró que la medida más importante para limitar la lesión pulmonar era evitar FiO_2 altas (Helmerhorst y cols. 2014).

Si bien la utilización de FiO_2 altas ($\geq 0,6$) debe limitarse en el tiempo, el empleo de concentraciones de oxígeno altas puede estar indicado en determinadas situaciones siempre y cuando se utilice durante cortos periodos de tiempo. En una revisión reciente sobre las estrategias protectoras empleadas en pacientes sometidos a cirugía cardiaca con by-pass cardiopulmonar, se propone que el empleo de concentraciones por encima del 80% es beneficioso por sus efectos sobre el preconditionamiento isquémico y el incremento en la actividad de las enzimas antioxidantes (Ferrando y cols. 2015).

También se ha visto, en un amplio meta-análisis de 22 ensayos clínicos que incluyeron un total de 7000 pacientes, cómo la utilización de una FiO_2 intraoperatoria cercana a 0,8, cuando se comparaba con FiO_2 de 0,3, disminuía la incidencia de infección de sitio quirúrgico sin aumentar las complicaciones pulmonares postoperatorias y que una FiO_2 de 0,8 aplicada durante el intraoperatorio y las 6 primeras horas del postoperatorio disminuía la fuga de anastomosis tras gastrectomías (Schietroma y cols. 2014). En otro estudio, que analizó 22 ensayos clínicos, el empleo de FiO_2 altas durante el periodo intraoperatorio disminuyó la incidencia de infección de sitio quirúrgico y el grupo en el que se empleó presentó menos náuseas y vómitos postoperatorios (Hovaquimian y cols. 2013).

En experimentación animal, resulta difícil para los investigadores determinar si se ha alcanzado o prevenido una lesión pulmonar. Como hemos visto con anterioridad en el presente trabajo, en humanos, la definición de SDRA/LPA está clara; sin embargo

estos criterios no pueden ser directamente trasladados a los animales de experimentación. No existe consenso en la comunidad científica de qué constituye exactamente en los animales de experimentación la lesión pulmonar aguda (LPA), en parte debido a que no existe un parámetro único o marcador que tenga la suficiente sensibilidad y especificidad para diagnosticar y estratificar todas las formas de LPA.

De esta forma, no es práctico utilizar los criterios de SDRA/LPA de la Conferencia de Consenso Americana-Europea de 1994 o la Definición de Berlín del año 2012. Una aproximación alternativa podría ser la de definir la LPA en animales basándose en criterios histopatológicos similares a los que se utilizan en humanos, en donde la correlación patológica de LPA es el daño alveolar difuso, caracterizado, como ya hemos visto, por infiltrados inflamatorios, engrosamiento de los septos alveolares y formación de membranas hialinas. Aun así y aplicando estos últimos criterios, no vamos a encontrar en todos los animales todas las alteraciones histológicas que caracterizan al DAD.

Hay que destacar también que aunque determinados parámetros pueden estudiarse en experimentación animal (gasometrías arteriales, radiografías de tórax, ecocardiografía, etc.), los sistemas de monitorización más avanzados para pequeños animales solo están disponibles en pocos centros a nivel mundial. Esto, unido a la diversidad de métodos utilizados para valorar la LPA hace que resulte complicado comparar los numerosos estudios de investigación que existen al respecto.

De forma ideal, un modelo animal de LPA debería tener una o varias características de la LPA en humanos, incluyendo una rápida instauración después del estímulo nocivo, evidencia de trastornos en la fisiología pulmonar (trastornos en el intercambio gaseoso o disminución de la distensibilidad pulmonar), evidencia histológica de lesión del parénquima pulmonar (componente endotelial, intersticial o epitelial) y datos que reflejen un incremento de la permeabilidad de la membrana alveolo-capilar.

Sin embargo, no está definido aún cuántas de estas alteraciones son necesarias para definir la LPA.

Por lo tanto, existen múltiples razones para justificar que la respuesta de los pulmones de los animales ante un estímulo nocivo con respecto a la respuesta ejercida por los humanos no es similar, destacando, además de lo expuesto hasta ahora, que los animales de experimentación suelen ser sanos y jóvenes, a diferencia de los pacientes afectados de SDRA/LPA que, en muchas ocasiones, son adultos, con patologías asociadas o con varios estímulos nocivos concurrentes (sepsis, politransfusión, politraumatismos, etc.). También, debemos considerar que en los animales el estímulo nocivo suele ser uno solo (estrategia ventilatoria lesiva, determinados niveles de PEEP, sepsis, etc.), conociendo, además, cuándo comienza la causa que puede producir el SDRA/LPA, hecho que se desconoce en la práctica clínica diaria.

En una reunión de consenso (Matute-Bello y cols. 2011) que utilizó como metodología la comunicación grupal (metodología Delphi) orientada a permitir que un grupo de expertos en experimentación con un nivel de conocimiento y experiencia elevado definiesen las características que deberían desarrollar los modelos animales para determinar una LPA, se estableció que no es obligatorio que todas las características estén presentes en el mismo animal, pero sí deberían mostrar alguna de las que se enumeran a continuación:

Rápida aparición (dentro de las primeras 24 horas) y:

- 1) Evidencia histológica de lesión tisular
- 2) Alteración de la barrera alveolo-capilar
- 3) Respuesta inflamatoria
- 4) Evidencia de disfunción fisiológica

Para valorar estas alteraciones utilizaremos los siguientes aspectos en cada una de ellas:

- Evidencia histológica de lesión tisular:

- i. Acumulación de neutrófilos en el espacio alveolar o en el espacio intersticial
- ii. Formación de membranas hialinas
- iii. Presencia fibrina en el espacio alveolar
- iv. Engrosamiento de la pared alveolar
- v. Lesión histológica medida por los sistemas estandarizados de puntuación histológica
- vi. Evidencia de hemorragia
- vii. Áreas de atelectasias
- viii. Cambios macroscópicos de lesión pulmonar

- Valoración de las alteraciones de la membrana alveolo- capilar:

- i. Aumento del contenido de agua extravascular pulmonar
- ii. Aumento del ratio *wet/dry* del peso pulmonar.

- Evaluación de la respuesta inflamatoria:

- i. Aumento en el pulmón de la actividad de la mieloperoxidasa.
- ii. Incremento de los niveles de factores del complemento y de la matriz metaloproteináceas.
- iii. Incremento de la concentración de citoquinas proinflamatorias en tejido pulmonar o en lavado broncoalveolar.

- Evidencia de disfunción fisiológica:

- i. Hipoxemia
- ii. Aumento de la diferencia alveolo-arterial de oxígeno
- iii. $PaO_2/FiO_2 < 200$ mmHg
- iv. En animales en ventilación espontánea, aumento de la frecuencia respiratoria y de la ventilación minuto.

De todas estas, las más relevantes son la que evidencia la lesión tisular y la que evalúa la alteración de la barrera alveolo-capilar.

Discutiremos los resultados obtenidos en base a las características enumeradas.

9.1 RÁPIDO COMIENZO Y SELECCIÓN DEL ANIMAL

En nuestro método, cada animal de experimentación estuvo ventilado mecánicamente durante 4 horas. Este tiempo lo elegimos en base a numerosos estudios que muestran que en ese periodo se han producido alteraciones histológicas y moleculares que reflejan daño pulmonar (Villar y cols. 2009, 2010,2011). Hay estudios en ratones sanos que han apreciado que la ventilación mecánica con un VT de 7,5 a 8 ml/kg y PEEP de 2 a 4 cmH₂O durante 4 a 6 horas causaba una elevación de mediadores inflamatorios en suero y en lavado broncoalveolar (Vaneker y cols. 2007) y cambios histopatológicos pulmonares (Wolthuis y cols. 2009), así como edema pulmonar moderado e incremento de la permeabilidad alveolo-capilar (Reiss y cols. 2011). En estudios sobre ratas sanas, con solo 2 horas de ventilación mecánica con volúmenes *tidal* de 10 ml/kg, se ha apreciado un incremento en la expresión de las citoquinas proinflamatorias en el lavado broncoalveolar (Kotani y cols. 1999). En otros estudios, 4 horas de ventilación empleando un VT de 8 ml/kg y 0 cmH₂O de PEEP fueron suficientes para alterar la matriz extracelular, engrosar el espacio perivascular y alterar la mecánica pulmonar (Moriondo y cols. 2007). Tras 4 horas de ventilación mecánica utilizando un VT alto se ha visto cómo se identifican alteraciones histológicas, valoradas cuantitativamente, y cómo se aprecia una disfunción renal, en forma de disminución del flujo sanguíneo renal, a través de la producción de endotelina-1 y de fenómenos de vasoconstricción renal (Kupier y cols. 2008).

Además, 4 horas es un tiempo de ventilación mecánica utilizado que puede ser extrapolado a la práctica clínica, ya que numerosas intervenciones quirúrgicas duran

como mínimo ese tiempo. En las Unidades de Cuidados Críticos, cuando un paciente precisa estar intubado y conectado a la ventilación mecánica, lo está por mucho más tiempo que las 4 horas que fijó nuestro protocolo de estudio.

En nuestro trabajo elegimos como animal de experimentación a la rata variedad Sprague-Dawley frente a otras estirpes como la Wistar o Long-Evans, al ser este un animal ampliamente utilizado en experimentación animal y susceptible, al contrario que otras estirpes, a las afecciones respiratorias. El modelo experimental que hemos utilizado en nuestro estudio se ajustó perfectamente a las condiciones que debe cumplir todo modelo experimental.

9.2 EVIDENCIA HISTOLÓGICA DE LESIÓN TISULAR

La ventilación mecánica con concentraciones elevadas de oxígeno es habitual, ya sea en las Unidades de Medicina Intensiva como en los quirófanos. Los intentos de administrar bajas concentraciones de oxígeno mientras los pacientes están conectados a la ventilación mecánica (hipoxemia permisiva), con el fin de limitar los efectos tóxicos del oxígeno no han dado frutos (Gilbert-Kawai y cols. 2014).

La hiperoxia causa lesión celular a través de la generación de especies reactivas de oxígeno. Sin embargo, los mecanismos precisos por los que se genera la lesión epitelial y las razones por las que esto aumenta con la ventilación mecánica, no están del todo entendidas. Se ha propuesto que la lesión pulmonar asociada a la hiperoxia causaría una lesión tisular directa y alteraría las vías de señalización que promueven la lesión celular (Lee PJ y cols. 2003, Zaher y cols. 2007). Esta lesión está ligada a la activación de vías moleculares que producirán, finalmente, fenómenos de apoptosis y necrosis.

El estrés oxidativo modifica la morfología celular y su citoestructura por medio de la destrucción de microfilamentos y la progresiva alteración en la distribución de la actina. Además de este daño producido por la hiperoxia, la ventilación mecánica *per se* produce alteraciones ocasionadas por los cambios cíclicos que se producen sobre el alvéolo. Si durante la respiración espontánea la membrana basal alveolar sufre una distensión lineal del 4%, cuando está sometida a la ventilación mecánica esta distensión se sitúa entre el 15 y el 40% (Roan y cols. 2011, Tschumperlin y cols. 1998).

Estudios previos han demostrado que el estrés oxidativo modifica la morfología celular debido a la destrucción de microfilamentos y a la reorganización de la actina (Dalle-Donne y cols. 2001). Esta alteración morfológica tendrá consecuencias sobre la función celular. La exposición de los macrófagos pulmonares a la hiperoxia afectará su función bacteriana por los efectos marcados sobre la actina, como se apreció en un estudio en el que se expusieron a grupos celulares a concentraciones de oxígeno del 95% durante 48 horas, encontrándose que los macrófagos expuestos a la hiperoxia veían disminuida, con respecto al grupo que no recibió altas concentraciones de oxígeno, su función fagocítica hacia la *Klebsiella pneumoniae*, a pesar del incremento en la producción de óxido nítrico, un radical libre con importante acción destructora sobre los patógenos (O'Reilly y cols. 2003).

Las células epiteliales alveolares son cruciales para la integridad de la membrana alveolo-capilar y su lesión será uno de los responsables del daño alveolar que se produce por el oxígeno. La hiperoxia causa una remodelación estructural de las células epiteliales alveolares, tanto de la actina como de los microtúbulos, produciendo una alteración de la deformación celular, como se ha visto en experimentos en los que se exponen a la hiperoxia durante 24-48 horas a este tipo de células (Roan E y cols. 2012).

En estudios animales, la exposición a altas concentraciones de O₂ durante 3 días causa lesión de neumocitos I, hiperproliferación de neumocitos II, formación de

membranas hialinas, edema, fibrosis intersticial y fenómenos de remodelación vascular (Barazzone y cols. 1998).

La pérdida de surfactante da lugar a atelectasias y la combinación de edema pulmonar y atelectasias conduce a la característica rigidez del pulmón. Posteriormente, los neumocitos II proliferan para intentar regenerar el revestimiento alveolar y tiene lugar la organización de los exudados de fibrina, con la consiguiente fibrosis intraalveolar. A continuación, se desarrolla un engrosamiento en los septos, causado por la proliferación de las células intersticiales y el depósito de colágeno.

Los neumocitos II actúan como células madre del epitelio alveolar y tienen funciones importantes, como la regulación del metabolismo del surfactante, el transporte iónico o la reparación alveolar en respuesta a una agresión. Sin embargo, estas células se ven afectadas por la ventilación mecánica originando insuficiente síntesis y secreción de surfactante. Para investigar este hecho, se analizó la ultraestructura de los neumocitos II tras someter a crías de cerdos a ventilación a alta frecuencia (estrategia ventilatoria protectora utilizada en pacientes con LPA/SDRA) frente a ventilación mecánica convencional durante 24 y 48 horas. Se apreció cómo estas células presentaban, en el grupo que recibió ventilación convencional, una disminución en el número de microvellosidades y en la densidad electrónica, así como una vacuolización de los cuerpos lamelares (*vacuole-like appearance*) y deformidad polimórfica, mostrando, a las 48 horas, como manifestación principal, cuerpos lamelares gigantes y microvellosidades irregulares. Estos cambios fueron menos severos cuando se empleó la ventilación a alta frecuencia tanto a las 24 como a las 48 horas (Qin y cols. 2013).

En nuestro estudio, los cambios histológicos apreciados son evidentes, pronunciados y estadísticamente significativos a medida que aumentamos la concentración de oxígeno. Observamos cómo el grado de afectación de los septos alveolares (engrosamiento de la pared alveolar), la presencia de hemorragias alveolares, infiltrados intersticiales y fibrina intraalveolar, era mayor cuanto más FiO_2 se

administraba, llegando a producirse cambios severos en el grupo en el que se empleó FiO_2 de 1.

Con FiO_2 de 0,21, a pesar de apreciar elementos celulares inflamatorios e infiltrados inflamatorios de naturaleza mononuclear en las áreas de edema perivascular, podemos considerar que los cambios generados con ese nivel de FiO_2 son mínimos y las células epiteliales alveolares (neumocitos I y II) no se aprecian hiperplasiadas. Tampoco observamos cambios fibróticos, grandes zonas atelectásicas o focos hemorrágicos evidentes.

A pesar de que la utilización de una FiO_2 de 0,4 es habitual cuando un paciente está conectado a ventilación mecánica, a esta concentración de O_2 ya se comienza a vislumbrar lo que se confirmará con niveles superiores. El edema perivascular se hace más marcado, la hiperplasia de los neumocitos II (marcados con TTF-1), en su intento de regeneración alveolar, es apreciable y comenzamos a observar áreas atelectásicas y fibróticas, aunque este último aspecto, que hemos estudiado con la técnica de Masson-Goldner, no es lo más destacable en este nivel de FiO_2 , ya que son acúmulos pequeños, pero, aun así, ya podemos intuir fenómenos que no podemos considerar propios de una estructura pulmonar normal.

Cuando aumentamos los niveles de O_2 más allá del 0,21 ya apreciamos características de lesión pulmonar aunque en este grupo podríamos calificarlas como leves. Observamos manifestaciones histológicas que reflejan el incremento de la permeabilidad microvascular pulmonar, aspecto fisiopatológico esencial en la LPA/SDRA, apreciando fenómenos hemorrágicos a nivel alveolar debido a la lesión tisular y a la destrucción de la arquitectura microvascular pulmonar, lo cual contribuye directamente a la fuga de componentes sanguíneos de los capilares al alvéolo.

El proceso por el cual pasa agua de los capilares al alvéolo es complejo y se encuentra con varias barreras, incluyendo las superficies endoteliales y epiteliales, la

membrana basal y la matriz extracelular. El paso de agua está regulado activamente por conexiones inter e intracelulares a través de las superficies endoteliales y epiteliales. Esta regulación puede verse afectada y aumentar de esta forma la permeabilidad vascular. Entre estos múltiples mecanismos reguladores se encuentra la angiopoyetina-1, que estabiliza la microvascularización y la angiopoyetina-2 que compite con la anterior para unirse al mismo receptor y desestabilizar la unión vascular (Eklund y cols. 2013).

En el grupo en el que se utilizó FiO_2 de 0,4, la fase proliferativa estaba en marcha, lo cual se evidenció por una proliferación de neumocitos II. Debido a la regeneración alveolar, la superficie de los alvéolos sufre una transformación cuboidal manifestada por un engrosamiento de los septos alveolares. El mecanismo exacto por el que se produce la proliferación de los neumocitos II no está del todo establecido. Se ha sugerido que esta proliferación es un mecanismo reparador de los neumocitos I destruidos, de tal manera que los neumocitos II podrían, de alguna manera, ser considerados las células madres del epitelio alveolar (Bishop 2004, Barkauskas y cols. 2013). La organización de las células madres y progenitoras en el pulmón adulto ha sido motivo de numerosas investigaciones en los últimos años (Rawlins y cols. 2006, McQualter y cols. 2012, Bertonecello y cols. 2013). Brevemente, estos estudios sugieren que las células madres y progenitoras regionales son responsables del mantenimiento de líneas celulares específicas presentes en la parte proximal y distal de la vía aérea, así como en el lecho alveolar. También se especula que la proliferación de los neumocitos II está mediada por determinados factores de crecimiento producidos por los fibroblastos pulmonares como una reacción a la lesión pulmonar derivada de la hiperoxia. En experimentos en ratas (Narasaraju y cols. 2006) se ha visto cómo la lesión de los neumocitos I dispara factores de crecimiento (*insulin-like growth factor*) que inducen la proliferación de los neumocitos II o, como se ha apreciado en cultivos celulares, acontece una sobreestimulación de osteopontina, una proteína multifunción que juega un importante

papel en el crecimiento celular, diferenciación, migración y fibrosis tisular, en los neumocitos II (Kato y cols. 2014).

En nuestro modelo, los cambios apreciados hasta alcanzar una FiO_2 de 0,4 se magnifican a partir de una FiO_2 mayor. Tanto en el grupo de FiO_2 0,6 como en el superior, es evidente el daño alveolar que se produce y los cambios en la arquitectura del alvéolo. Debemos comentar que en este estudio no se realizaron maniobras de reclutamiento alveolar que pudiesen revertir los fenómenos atelctásicos evidentes que se observan a estos niveles de FiO_2 , debido a que nuestro protocolo solo incluyó, como variable, la distinta concentración de oxígeno entre los grupos.

Cuando se emplea una estrategia ventilatoria protectora, si no se programa un nivel de PEEP adecuado, existe la posibilidad de que zonas pulmonares se colapsen y no participen en el intercambio gaseoso. Las maniobras de reclutamiento, dirigidas a abrir las zonas atelctásicas, pretenden revertir esta situación.

El origen de la atelectasias apreciadas en nuestro estudio, sobre todo, en los grupos de FiO_2 0,6 a 1, pueden tener varios orígenes. Podemos hablar de atelectasias por compresión que suceden cuando la presión transpulmonar que distiende el alvéolo disminuye, lo cual empeora cuando cesa la respiración espontánea. En nuestros animales de experimentación, como en todo modelo en el que se induce una anestesia general unida al empleo de bloqueantes neuromusculares, las atelectasias por compresión aparecen precozmente, pudiendo hablar de que en los primeros cinco primeros minutos después de la inducción anestésica ya podemos apreciar la existencia de este tipo de atelectasias (Hedenstierna y cols. 2000). Son fruto del desplazamiento cefálico del diafragma, lo que origina una pérdida de su efectividad para mantener la presión transpulmonar en unos niveles adecuados para que se mantenga la distensión alveolar. En este sentido, la zona diafragmática que más se desplaza después de la inducción es la más baja, mientras que la parte posterior se desplaza menos aunque está más influenciada por el efecto de los relajantes musculares.

A pesar de que utilizamos como inductor anestésico la ketamina, un anestésico intravenoso (o de administración intraperitoneal, como en nuestro caso) que es el único que puede limitar los trastornos en la relación ventilación/perfusión debido a sus efectos positivos sobre el gasto cardiaco (Hedenstierna y cols. 2005), sus ventajas, en este sentido, no se pudieron ver reflejadas al emplear un bloqueante neuromuscular, como el cisatracurio, para lograr la máxima adaptación a la ventilación mecánica. Por último, la disminución del tono de los músculos intercostales, el desplazamiento de la sangre del tórax al abdomen con el consiguiente desplazamiento del diafragma y las alteraciones de la dinámica diafragmática, aunque en menor medida, también contribuyen a la reducción de la capacidad residual funcional y a la aparición de atelectasias por compresión.

Otro origen de las atelectasias observadas en nuestro estudio son las que se producen por el empleo de altas concentraciones de O₂ que produce una disminución de la relación ventilación/perfusión (V/Q) en una zona pulmonar por debajo del valor crítico. En el SDRA, el colapso alveolar o el edema produce hipoxemia con áreas de baja V/Q en donde a mayor FiO₂ mayor presencia de atelectasias. Son las denominadas atelectasias por reabsorción. En un estudio sobre 14 pacientes se apreció que en pacientes bajo ventilación mecánica respirando FiO₂ de 1 se producían importantes fenómenos de desreclutamiento alveolar y que esto se podía prevenir con altos niveles de PEEP (Aboab y cols. 2006). Por otro lado, se ha observado una reducción en el número de atelectasias cuando se utilizan FiO₂ más bajas en la inducción, en el mantenimiento y antes de la extubación (Rothen y cols. 1995).

El último de los posibles orígenes es debido a la pérdida de surfactante que ocasiona que la tensión en la superficie alveolar disminuya, favoreciendo de esta manera la aparición de atelectasias. En este sentido se ha visto que realizando maniobras que limiten la destrucción del surfactante, como intercalar suspiros en la

ventilación mecánica, determinados cambios posturales o la administración de surfactante exógeno, se podría limitar este aspecto (Albert. 2012).

Es muy probable que estos tres mecanismos generadores de atelectasias converjan y se solapen para producirlas. En nuestro trabajo, al no realizar ninguna maniobra para reclutar alvéolos (salvo la instauración de 3 cmH₂O de PEEP), ni ningún cambio posicional durante las 4 horas que duró cada uno de los experimentos, es posible que el número de atelectasias fuese más elevado que si hubiésemos diseñado una estrategia ventilatoria dirigida a limitar su aparición.

Otro aspecto que nos gustaría destacar es el relativo a los signos de fibrosis pulmonar que apreciamos en nuestro estudio. Dependiendo de la naturaleza de la lesión pulmonar, los mecanismos reparadores comienzan de forma inmediata tras el estímulo nocivo. Múltiples son los mecanismos que interactúan en estos procedimientos, como el insulto inicial, los elementos estructurales o las vías de la señalización, como la recientemente apreciada vía de señalización de la Wnt/ β catenina, que se activa precozmente y modula la lesión pulmonar inducida por la VM (Villar y cols. 2011). La alteración de los procesos de reparación alveolar puede ocasionar un exceso en la síntesis y acumulación de elementos de la matriz extracelular. Por otro lado, la ventilación mecánica provoca el aumento de la síntesis de colágeno y procesos de transición epitelio-mesenquimal (Cabrera-Benítez y cols. 2012). La transición epitelio-mesenquimal es un proceso por el que las células epiteliales pierden las uniones intercelulares y sus marcadores epiteliales específicos, remodelan el citoesqueleto y adquieren un fenotipo mesenquimal, con frecuencia en fibroblastos y miofibroblastos (Zavadil y cols. 2005). Los fibroblastos y miofibroblastos que se han diferenciado del epitelio son identificados por cambios morfológicos y por marcadores específicos. Varios factores de crecimiento y/o componentes de la matriz extracelular son claves para la transición epitelio-mesenquimal. EGF (epidermal growth factor), FGF (fibroblast growth factor) y muy especialmente TGF- β (transforming growth factor- β) están involucrados

en la migración y transición a un fenotipo mesenquimal (Kalluri y cols. 2003). Las células alveolares son una fuente importante de TGF- β y citoquinas durante la lesión y la fibrosis pulmonar (Xu y cols. 2003). Las células epiteliales alveolares primarias de rata y líneas celulares epiteliales sufren transición epitelio-mesenquimal en respuesta a TGF- β y endotoxina en cultivos celulares.

A pesar de que nuestros animales eran sanos y que fueron ventilados durante 4 horas, apreciamos una diferencia significativa entre los procesos fibróticos que se evidencian con FiO₂ de 1 con respecto al resto de los grupos. Ciertamente es que la fibrosis, valorada por medio de la escala de Ashcroft modificada por Hübner no es el hecho más llamativo de nuestro estudio, pero habría que valorar que en tan poco tiempo de ventilación y sin inducir en los animales ningún otro proceso, solo modificando la FiO₂ como único parámetro lesivo, los cambios fibróticos, aunque muy leves, hayan comenzado a aparecer.

La importancia de la fibrosis pulmonar es crucial para la evolución en los pacientes con VILI. Más de la mitad de pacientes ventilados durante más de 5 días de evolución de SDRA tienen fibrosis pulmonar (Papazian y cols. 2007) y la mayoría de los pacientes que mueren con SDRA tienen fibrosis pulmonar progresiva (Meduri y cols. 1995). La fibrosis resultante produce una pérdida de distensibilidad pulmonar que puede ser responsable del pronóstico fatal que tiene lugar en muchos casos de VILI.

En la práctica clínica se ha comprobado en un estudio prospectivo sobre 85 pacientes con SDRA, en los que se valoró la fibrosis con tomografía axial computarizada de alta resolución, que cuanto mayor es el grado de cambios fibróticos, mayor es el tiempo que deben estar los pacientes sometidos a ventilación mecánica (Ichikado y cols. 2012), con lo que aumentan las posibilidades de fallo multiorgánico. Es interesante recalcar que en el 90% de los pacientes con DAD con criterios de SDRA en el momento de la biopsia pulmonar, la mortalidad se sitúa alrededor del 50%, pero si lo destacable es la fibrosis pulmonar la mortalidad se dispara a un 86% (Parambil y cols. 2007).

Observamos, por tanto, que en lo que respecta a la evidencia de lesión tisular, son muchas las alteraciones que apreciamos en los distintos grupos experimentales según se modifica la FiO_2 . A medida que se incrementa la concentración de oxígeno, las áreas atelectásicas, los cambios en las paredes de los alvéolos, la presencia de hemorragias intraalveolares, de fibrina o de infiltrados intersticiales son más evidentes. Además, los cambios apreciados se ven objetivados con los sistemas de puntuación estandarizados (Matute-Bello y cols. 2001 y Hübner y cols. 2008), gracias a los cuales obtenemos una visión más precisa del daño producido.

9.3 VALORACIÓN DE LAS ALTERACIONES DE LA MEMBRANA ALVEOLO- CAPILAR

La relación entre el peso pulmonar húmedo (recién extraído y pesado una vez finalizado el experimento) y el peso de ese mismo fragmento de pulmón tras 72 horas en una estufa (peso seco), índice *wet/dry*, la empleamos para la valoración de la acumulación de agua pulmonar y sirve como reflejo de la presencia de edema en el intersticio alveolo-capilar, uno de los primeros trastornos que se producen en la fase exudativa de la lesión pulmonar aguda. Esta medición se ha utilizado en numerosos trabajos científicos con este fin (Matsuyama y cols. 2008).

Otros indicadores, al igual que el índice *wet/dry*, se han utilizado en experimentación animal para valorar el edema pulmonar. Entre estos destacaríamos el denominado coeficiente de peso pulmonar (*lung weight coefficient*) que se obtiene de la división entre el peso total de los pulmones del animal tras su extracción y el peso total del animal (Liu QP y cols. 2014). En nuestro estudio utilizamos el índice *wet/dry* por su amplio uso como reflejo del edema pulmonar en los trabajos de investigación.

Ya sea para demostrar que determinada actuación es lesiva para el pulmón, como para valorar lo contrario el análisis del índice *wet/dry* es habitual en los trabajos experimentales. Vemos, por ejemplo, que los estudios que emplean surfactante como terapia potencial para la lesión pulmonar aguda, el índice *wet/dry* disminuye como reflejo de la regresión del grado de edema y de la atenuación de la lesión pulmonar (Sun Y cols. 2015). Por otro lado, cuando se pretende investigar la contribución de la apoptosis en la lesión pulmonar aguda a través del sistema Fas/FasL después de la instilación intratraqueal de lipolisacárido, se aprecia como el índice *wet/dry* se eleva (Kitamura y cols. 2001).

En la presente tesis doctoral, a medida que aumentamos la FiO_2 apreciamos cómo el índice *wet/dry* también aumenta sugiriendo que, a mayores concentraciones de oxígeno, hay mayor grado de edema pulmonar.

Nuestros resultados son diferentes a los apreciados en algunos estudios previos, como el realizado en ratas sanas con el propósito de valorar si la ventilación mecánica durante 4 horas con un VT similar al obtenido en la ventilación espontánea causa *per se* efectos negativos sobre la función pulmonar (Pecchiari y cols. 2014). En este estudio no se apreciaron diferencias en el índice *wet/dry*, si bien en los distintos grupos no se emplearon distintas concentraciones de oxígeno, sino que se utilizó una única concentración de oxígeno basal. Cabe destacar que los valores medios del índice *wet/dry* que se obtuvieron en ese estudio fueron de $4,24 \pm 0,25$, que al igual que en nuestro estudio, son valores que se aproximan al que obtuvimos en el grupo de FiO_2 a 0,21. El mayor grado de edema pulmonar y, por tanto, el mayor valor de índice *wet/dry* que apreciamos en nuestro estudio en los distintos grupos, a medida que se aumenta la concentración de oxígeno, podría justificarse por este último aspecto.

Al igual que en nuestro trabajo, en un estudio en el que se pretendió estudiar si la hipercapnia terapéutica tenía efectos sobre la lesión pulmonar aguda en ratas neonatales y en el que emplearon distintas concentraciones de oxígeno, el índice

wet/dry aumentó en el grupo hiperóxico (FiO_2 de 0,98) aproximadamente un 10% con respecto al grupo en el que se mantuvo la FiO_2 de 0,21. Sin embargo, se alcanzaron valores ligeramente superiores a los encontrados en nuestro estudio (en el grupo normóxico el índice *W/D* fue 5.38 ± 0.07 frente al obtenido en nuestro estudio que fue de $4,29 \pm 0,7$ y en el grupo hiperóxico el índice *W/D* fue de 5.87 ± 0.16 frente a $4,7 \pm 0,2$ de nuestro experimento) lo cual puede ser explicado porque este experimento duró 96 horas frente a las 4 horas del nuestro (MacCarrick y cols. 2010).

Las principales características de la fase inicial de la lesión pulmonar aguda es el trasvase de líquido hacia el espacio extravascular y la alteración en su reabsorción, ocasionando una acumulación del agua extravascular pulmonar (ELW). El índice *wet/dry* obtenido postmortem se relaciona en la práctica clínica diaria con el agua extravascular pulmonar. Por este motivo es un valor a tener en cuenta en todos los estudios que pretendan valorar las alteraciones en la permeabilidad de la membrana alveolo-capilar.

Actualmente, en la clínica diaria, por técnicas de termodilución, el agua extravascular pulmonar, indexada a la superficie corporal de los pacientes y el índice de permeabilidad vascular (el cociente entre el EVLW y el volumen sanguíneo pulmonar) son fácilmente medibles en los pacientes críticos. Estos dos parámetros, cuando están elevados, son predictores independientes de mortalidad en los pacientes con SDRA (Jozwiak y cols. 2013). El índice de agua extravascular pulmonar se relaciona con el peso del pulmón (Tagami y cols. 2010), como se ha comprobado antes y después del fallecimiento de pacientes con SDRA, mostrando una excelente correlación ($r=0,90$).

Aunque las definiciones de SDRA se han revisado recientemente, el agua extravascular pulmonar todavía no forma parte de los criterios diagnósticos debido a que hacen falta más estudios prospectivos para su inclusión. Sin embargo, es de destacar que este parámetro predice la progresión de pacientes con factores de riesgo hacia la lesión pulmonar aproximadamente dos días y medio antes de que cumplan los criterios diagnósticos convencionales (LeTourneau y cols. 2012).

Los resultados que hemos obtenido en nuestro estudio reflejan una elevación significativa del índice *wet/dry* (húmedo/seco) a medida que se administra más oxígeno, asumiendo por tanto, que el grado de edema pulmonar es mayor en los grupos que recibieron más FiO_2 .

9.4 EVIDENCIA DE DISFUNCIÓN FISIOLÓGICA

En nuestro estudio no apreciamos hipoxemia en ninguno de los grupos experimentales apreciando, en cambio, una elevación significativa de la PaO_2 según se elevaba la concentración de oxígeno, producto del ambiente hiperóxico en el que se desarrollaron los experimentos. Toda lesión pulmonar aguda debe acompañarse de hipoxemia pero debemos destacar que nuestro modelo experimental solo duró 4 horas y se realizó sobre animales sanos, no dando tiempo, probablemente, a que las alteraciones que apreciamos a otros niveles (histológicas, en la membrana alveolo-capilar, etc.) se viesen reflejadas en este aspecto.

Por otro lado, las atelectasias observadas en los distintos grupos según se administraban concentraciones de oxígeno mayores, las podemos considerar que tuvieron un efecto subclínico, ya que la relación PaO_2/FiO_2 , que es uno de los factores que pueden determinar la cantidad de atelectasias pulmonares al reflejar en cierta medida el grado de *shunt*, no disminuyó a medida que aumentaba la FiO_2 . Es posible que, manteniendo a los mismos animales sanos ventilados con FiO_2 altas durante más horas o incluso días, los fenómenos fibróticos (en nuestro caso, muy leves) se hubiesen manifestado en mayor grado y hubiésemos apreciado una caída en los valores de PaO_2 .

Con respecto a la $PaCO_2$, sí apreciamos que a medida que se aumentó la FiO_2 se retuvo más CO_2 , diferencias que resultaron significativas. Esta diferencia se obtuvo en los grupos en los que se utilizó una FiO_2 de 0,6 y de 1 y la relacionamos con la

hipoventilación alveolar que se puede producir al alterarse las propiedades mecánicas pulmonares.

El uso de un volumen *tidal* bajo durante la ventilación mecánica puede producir hipercapnia. Estos cambios en la PaCO₂ pueden alterar el funcionamiento del ventrículo derecho por aumento de la presión en la arteria pulmonar y variar el gasto cardiaco (Thorens y cols. 1996). Esta disfunción vascular pulmonar durante el SDRA es secundaria a varios factores, incluyendo la vasoconstricción pulmonar mediada o inducida por la hipoxia (por medio de endotelinas, tromboxano A₂ o leucotrienos), por compresión mecánica debido al edema intersticial y a la obstrucción intravascular debida a la presencia de trombos, los cuales están presentes, según se ha visto en autopsias, en el 95% de los pacientes que fallecen por SDRA (Tomashefski y cols. 1983). La ventilación mecánica con altas presiones inspiratorias y grandes volúmenes *tidal* empeora esta disfunción vascular pulmonar. Por otro lado, la acidosis respiratoria se ha relacionado de forma independiente con el cor pulmonale agudo que desarrollan algunos pacientes con SDRA (Repressé y cols. 2015). En un estudio prospectivo (Boissier y cols. 2013) sobre 226 pacientes diagnosticados de SDRA siguiendo la clasificación de Berlín y ventilados con una ventilación protectora se diagnosticó cor pulmonale por ecocardiografía transesofágica en el 22% de los pacientes, mostrando este grupo una mayor mortalidad que el de los pacientes que no lo presentaron (60% vs 36%) En nuestro estudio, 3 animales fallecieron (que no se incluyeron en el número total de animales estudiados) en los grupos en los que se utilizó una FiO₂ de 0,6 (1 caso) y de 1 (2 casos). La causa de las muertes fue edema agudo de pulmón, que se diagnosticó al apreciar elevación de las presiones en vía aérea, presencia de líquido rosáceo a través de la cánula de traqueotomía y evidencia de edema pulmonar tras la autopsia. Es posible que estos cuadros fueran debidos a los trastornos hemodinámicos derivados de la hipercapnia.

En nuestro estudio sí observamos unos cambios leves pero significativos en la mecánica pulmonar. El principal parámetro que se empleó para monitorizar los cambios en la mecánica pulmonar y establecer diferencias entre grupos fue la distensibilidad dinámica y la presión pico que se registraron durante el estudio. Siendo una medida el reflejo inverso de la otra, vemos cómo la presión pico aumentó a medida que se administraba más oxígeno y la distensibilidad disminuyó. Si bien la distensibilidad pulmonar no forma parte de las dos últimas clasificaciones de SDRA, la Conferencia Americana-Europea de 1994 y la Definición de Berlín de 2012, sí se le dio importancia a la hora de definir la lesión pulmonar al final de la década de los 80 (Murray y cols. 1988) siendo el descenso en la distensibilidad uno de los cuatro criterios necesarios para la definición del SDRA.

El descenso en la distensibilidad y la elevación en la presión pico que obtuvimos al analizar los datos se pueden deber a múltiples causas, como son la presencia de atelectasias, la pérdida de surfactante, el mayor grado de edema pulmonar que obtuvimos cuando se emplearon FiO_2 elevadas (valorado a través del índice *wet/dry*) y los cambios histológicos producidos en los grupos en los que se aumentó la concentración de oxígeno. Estos aspectos pueden producir un descenso en los volúmenes pulmonares. Si nuestro protocolo hubiese incluido maniobras para limitar estos aspectos (cambios posturales, cambios en la PEEP), es posible que hubiésemos obtenido otros datos.

Resulta interesante destacar que en el único grupo en el que no se produjo cambios en estos dos parámetros fue en el que se utilizó una FiO_2 de 0,21. En los tres grupos restantes sí se produjeron cambios, siendo estos más precoces en los grupos que recibieron una FiO_2 de 0,6 y de 1.

En este sentido, varios autores han estudiado la relación entre las propiedades mecánicas del sistema respiratorio y las condiciones patológicas presentes en el pulmón. En estos estudios, los cambios en los mecanismos pulmonares se relacionaron

con distintos estadios de SDRA o de fibrosis pulmonar. Se ha visto que en pacientes con fibrosis pulmonar idiopática, la elastancia pulmonar (propiedad mecánica recíproca de la distensibilidad) que viene determinada por la presión requerida para mantener el sistema respiratorio insuflado con el mismo volumen y la resistencia del sistema respiratorio, se ven alteradas de manera significativa en los pacientes con estados avanzados de fibrosis pulmonar (Nava y cols. 1999). En otro estudio se apreció que en el establecimiento de la lesión pulmonar inducida por la ventilación mecánica, un incremento de la elastancia por encima del 50% con respecto a los valores basales se relacionó con el grado de lesión pulmonar (Sibilla y cols. 2002).

En un modelo experimental de 4 horas de duración utilizando VT bajo (6 ml/kg) frente a VT alto (15 ml/kg) en ratas a las que se instiló ácido intratraqueal (agresión pulmonar directa, al igual que en nuestro estudio) o se les indujo un cuadro séptico por medio de punción cecal (agresión pulmonar indirecta), se encontró que la distensibilidad pulmonar disminuyó solo en el grupo en el que se produjo un daño pulmonar directo, manteniéndose sin cambios en el grupo de animales sépticos independientemente del volumen *tidal* empleado. En cambio, a diferencia de nuestro trabajo, se observó un descenso en la oxigenación (valorado por el ratio PaO_2/FiO_2) en el grupo al que se le indujo el daño directo (Kuiper y cols. 2011). Esto puede explicarse porque el daño pulmonar producido cuando se administra ácido vía traqueal acontece en minutos (Matute-Bello y cols. 2008), a diferencia del producido por el oxígeno en el que se precisa más tiempo.

La distensibilidad dinámica se ha relacionado con la oxigenación arterial y con el grado de apertura pulmonar en un modelo experimental de lesión pulmonar aguda (Suarez-Sipmann y cols. 2007). En nuestro estudio, el descenso que observamos en la distensibilidad no se vio reflejado en la oxigenación arterial, probablemente debido a que el tiempo que duró cada experimento, al tratarse de animales sanos, fue corto para que los trastornos en la oxigenación fueran evidentes.

En definitiva, en lo que se refiere a los trastornos fisiológicos y de la mecánica respiratoria los cambios que apreciamos a medida que aumentábamos la concentración de O₂ fueron el descenso de la distensibilidad, la elevación de las presiones pico en la vía aérea y una discreta, aunque significativa, elevación de la PaCO₂.

9.5 EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA

En las muestras analizadas en suero y pulmón, observamos una desigual elevación de los mediadores inflamatorios que son habitualmente determinados en la mayoría de los estudios clínicos que analizan la VILI. Encontramos presencia de IL-10 en suero y pulmón, de IL-6 solo en pulmón y de TNF- α en suero y pulmón. Sin embargo, las diferencias de estas citoquinas entre los grupos no resultaron estadísticamente significativas.

Para explicar estos resultados debemos considerar varios aspectos: los animales utilizados fueron sanos; el tiempo que permanecieron sometidos a la ventilación mecánica fue de 4 horas; empleamos volúmenes *tidal* bajos; utilizamos PEEP y, por último, la hiperoxia produce un daño inicialmente pulmonar, a diferencia del daño ocasionado en otras circunstancias, como en la sepsis, que es inicialmente sistémico y puede ser que 4 horas de ventilación mecánica no sean suficientes para trasladar, como en el caso de la IL-6, ese daño a la circulación sistémica.

Aunque es controvertido, la activación y producción de mediadores inflamatorios tanto a nivel pulmonar como sistémico precisa un daño pulmonar previo y, es posible, que un estímulo sostenido en el tiempo. Además, como hemos apreciado en nuestro estudio y que también se refleja en investigaciones previas, la ventilación mecánica protectora limita de forma evidente la liberación de citoquinas.

Nuestros resultados están acorde con estudios previos en donde se comparan distintos modos ventilatorios y que analizan cómo la ventilación mecánica modifica la expresión de TNF- α , IL-1 β e IL-6. Durante la utilización de la ventilación mecánica con VT bajos y PEEP disminuye la expresión de TNF- α , IL-1 β e IL-6 a valores similares a los que se encuentran en animales sanos. En un estudio en animales sépticos en el que se compararon cuatro estrategias ventilatorias (VT de 20 ml/kg con y sin PEEP con VT de 6 ml/kg con o sin PEEP) se apreció cómo la IL-1 β , la IL-6 y el TNF- α aumentaron en todos los grupos que recibieron ventilación mecánica excepto, como en nuestro trabajo, en el grupo en el que se emplearon VT bajos y PEEP. Se demostró que 3 horas de VM con PEEP se asoció con una reducción significativa de TNF- α , encontrando el mayor nivel de TNF circulante en los animales ventilados con VT altos y sin PEEP. Con respecto a la IL-6, en todos los grupos estudiados aumentó, excepto en aquellos ventilados con VT bajo y con PEEP. La IL-1 β fue indetectable, no solo en los animales con ventilación protectora (VT bajos y PEEP) sino también en los que eran ventilados con altos volúmenes *tidal* (Herrera y cols. 2003).

En otro estudio de investigación, en el que se estudiaron dos estrategias distintas de ventilación mecánica, se compararon pacientes con SDRA ventilados con VT altos y PEEP baja (11 ml/kg y 6 cmH₂O respectivamente) con otros ventilados con un patrón ventilatorio protector (7 ml/kg de VT y 14 cmH₂O de PEEP). El grupo con VT altos mostró una elevación de IL-1 β , IL-6 e IL-1 en el lavado broncoalveolar y de IL-1, TNF- α e IL-6 en el plasma. En cambio, en el que se empleó un menor VT se apreció una liberación más limitada de mediadores inflamatorios en sangre y una cantidad menor de neutrófilos en el lavado broncoalveolar. Además, en el grupo con una ventilación mecánica más lesiva, había mayor prevalencia de fallo multiorgánico (Ranieri y cols. 1999).

Para apreciar hasta qué punto la ventilación mecánica con VT bajos y PEEP puede limitar la liberación de mediadores inflamatorios, en pacientes con ALI a los que se les aplicaba una VM protectora se les modificó la modalidad ventilatoria pasando de

una protectora a una con VT altos y PEEP baja, midiéndose en ambos casos la IL-1 β , IL-6 y TNF- α en plasma y lavado broncoalveolar. Las conclusiones del estudio mostraron que cuando se cambió la ventilación mecánica a una considerada más lesiva, los mediadores se elevaron en la primera hora y que esta elevación podía ser reversible cuando se volvía a la modalidad protectora (Stüber y cols. 2002).

En otros estudios en donde se investigaron los mediadores inflamatorios estimulados por la hiperoxia según la edad pulmonar se ha observado que, entre el pulmón adulto y en el que todavía no está desarrollado hay diferencias en el tipo y en la secuencia temporal en la expresión de citoquinas y su liberación, siendo el pulmón en desarrollo altamente resistente a la hiperoxia cuando se le compara con el pulmón adulto. En los pulmones adultos se ha visto elevación significativa de IL-6 en respuesta a la hiperoxia a partir del tercer día, mientras que en pulmones inmaduros esta elevación se produce a partir del décimo día (Bhandari 2002). Se concluye en estos análisis que el retraso en la elevación pulmonar de IL-1 e IL-6 en el pulmón poco desarrollado puede ser que induzca un efecto protector que podría ayudar en la resolución de la lesión pulmonar inducida por la hiperoxia (Bhandari y cols.2006). Por otro lado, el TNF- α y la IL-6 pueden tener distintos papeles en la respuesta pulmonar a la hiperoxia, ya que se ha visto una mayor producción de TNF- α alrededor del tercer día tras la administración de oxígeno a altas concentraciones y de IL-6 a partir del sexto día, paralelo a la reducción del proceso inflamatorio (Ben-Ari y cols. 2000).

Ya hemos visto que cuanto más lesiva es la ventilación mecánica, más liberación de mediadores se produce. Como ya se comentó al hablar del daño producido por las atelectasias, esta liberación disminuye si añadíamos PEEP (Tremblay y cols. 1997). Sin embargo, utilizando el mismo modelo, otros autores encontraron que solo existía un ligero aumento de la IL-1 β y del MIP-2 (proteína inflamatoria de los macrófagos) en el lavado broncoalveolar de ratas ventiladas con 42 ml/kg con respecto a las ventiladas con 7 ml/kg, no encontrando diferencias en los niveles de TNF- α entre ambas

estrategias ventilatorias. Los autores de este estudio concluían que las estrategias ventilatorias lesivas no necesariamente originan producción de citoquinas proinflamatorias en los pulmones (Ricard y cols. 2001). Estos resultados contradictorios plantean la cuestión de si la ventilación mecánica puede no ser suficiente para promover la intensa secreción de citoquinas proinflamatorias, aspecto que sí podría suceder si se combina con otro tipo de daño.

Si incluimos otro daño distinto a la hiperoxia, como el visto en ratas en las que se induce un shock hemorrágico y se ventilan además con una estrategia ventilatoria lesiva (VT 30 ml/kg y PEEP 0 cmH₂O), se aprecia cómo estos dos factores interactúan liberando mediadores inflamatorios. Por el contrario se observó que la estrategia ventilatoria referida, aplicada sin la inducción del shock hemorrágico, no producía esta liberación (Bouadma y cols. 2007).

Al depender la agresión pulmonar producida por el oxígeno del tiempo de exposición al mismo, cuando comparamos nuestros resultados con los obtenidos en otros estudios (Kuiper y cols. 2011), que utilizan también un agente lesivo pulmonar directo pero de rápida agresividad (instilación intratraqueal de ácido), vemos que, a diferencia de estos, los valores obtenidos de mediadores inflamatorios en nuestro caso fue baja. Por lo tanto, es posible que el tiempo necesario para la instauración de la lesión pulmonar sea un factor determinante.

En la patogénesis de la VILI hay que tener en cuenta otros parámetros ventilatorios que podrían tener influencia en su desarrollo, aunque con efectos menos significativos, uno es el aumento de la frecuencia respiratoria y el otro la modalidad ventilatoria empleada. En lo que respecta a la frecuencia respiratoria, un mayor número de respiraciones por minuto podría ocasionar mayor estrés en la pared alveolar. En un modelo de pulmón de conejo perfundido *ex vivo* se demostró mayor edema y hemorragia perivascular cuando el pulmón es ventilado con una frecuencia de 20 rpm que cuando es ventilado solo con 3 rpm (Hatchkiss y cols. 2000).

Por otro lado, con respecto a la modalidad ventilatoria empleada, parece que un flujo decelerado en vez de un patrón de flujo constante se asocia con una reducción de los fenómenos de sobredistensión pulmonar en las zonas no dependientes. En un estudio experimental en el que se midió el grado de aireación pulmonar mediante estudios con tomografía axial computarizada (TAC), se demostró que uno de los mecanismos por los que puede ser ventajoso el empleo de la ventilación controlada por presión o con flujo decelerado sobre la ventilación controlada por volumen o con flujo constante consiste en una mejor distribución del gas en el pulmón, mediada por un discreto efecto de reclutamiento de zonas pulmonares dañadas, pero sobre todo por evitar la sobredistensión en zonas apicales pulmonares, sin que se produzca ningún cambio en la presión alveolar ni en el intercambio gaseoso (Prella y cols. 2002). No creemos que estos dos factores guarden relación con los resultados obtenidos, ya que el modelo que hemos utilizado, como comentamos con anterioridad, ya ha sido evaluado en otros estudios.

En nuestro experimento, para facilitar la adaptación de los animales de experimentación a la ventilación mecánica, utilizamos cisatracurio, un bloqueante neuromuscular no despolarizante. Un estudio clínico encontró que pacientes con SDRA que recibían cisatracurio, con la misma finalidad que en nuestro estudio, tenían menor riesgo de muerte durante las primeras 48 horas del diagnóstico (Papazian y cols. 2010). El descenso de la mortalidad podía ser debido, en parte, a una menor aparición de VILI producida por una atenuación del biotrauma (Slutsky 2010) ya que, en estudios anteriores, se apreció un descenso en la respuesta inflamatoria en pacientes con SDRA que recibieron bloqueantes neuromusculares (Forel y cols. 2006). Al igual que en este trabajo, los mediadores inflamatorios en nuestro caso pueden haberse visto limitados por este hecho.

La mayoría de los trabajos en los que se aprecia una elevación significativa de los mediadores inflamatorios se realizan sobre modelos animales a los que se les induce

una lesión pulmonar conocida, como puede ser el empleo de volúmenes *tidal* excesivamente altos (20 a 40 ml/kg), sin PEEP o tras la inducción de sepsis. Otros modelos estudiados son aquellos en los que se extrae el pulmón del animal y se le aplican mecanismos lesivos para valorar su efecto. Ninguno de estos modelos ha demostrado ser ideal y hay que valorar de manera individual los resultados que se obtienen.

En nuestro trabajo, empleamos una estrategia ventilatoria con VT bajos y con PEEP y nuestras ratas eran sanas. Habría que valorar en estudios posteriores si empleando otro tipo de estrategia ventilatoria, más lesiva para el pulmón y durante más tiempo, la utilización de distintas concentraciones de oxígeno hubiesen arrojado resultados distintos. Nuestras muestras fueron analizadas en suero y en pulmón, por lo que no podemos extraer conclusiones de qué hubiese ocurrido si determinamos los mediadores inflamatorios en lavado broncoalveolar.

Estos aspectos que reflejamos también han sido vistos en estudios en pacientes sin enfermedad pulmonar previa. En un estudio sobre 62 pacientes sometidos a cirugía torácica o abdominal se aplicaron a dos grupos, durante 3 horas, distintas estrategias ventilatorias, una de ellas con un VT entre 12 y 15 ml/kg sin PEEP y la otra con un VT de 6 ml/kg y 10 cmH₂O de PEEP, apreciando en ambos grupos como no existían efectos sobre los niveles plasmáticos de TNF- α , IL-1 β , IL-8 o IL-6 (Wrigge y cols. 2004). Con anterioridad, el mismo grupo de investigadores encontró que en pacientes sanos, la utilización de un VT de 6 o 15 ml/kg sin PEEP o un VT de 6ml/kg con PEEP administrados durante 1 hora de ventilación mecánica, no tenían efectos sobre los niveles plasmáticos de TNF- α , IL-1 Ra, IL-6 o IL-12 (Wrigge y cols. 2000).

Por lo tanto, parece que una condición indispensable para encontrar una elevación de los mediadores inflamatorios más habitualmente estudiados es la existencia de una comorbilidad previa. Esto puede verse reforzado por el hecho de que en un modelo similar al nuestro en lo que a FiO₂ se refiere (0,21, 0,4, 0,6 y 1), pero

aplicado a ratas sépticas y sin estar ventiladas mecánicamente, sino alojadas en una urna, mostró cómo la hiperoxia aumentó los niveles de TNF- α , IL-6 e IL-10 (Rodríguez-González y cols. 2014). Por otro lado, y también apreciable en este estudio, se evidenció cómo en las ratas sépticas, la hiperoxia facilitó la propagación de la infección, lo que invita a plantearse para futuros estudios qué niveles de oxígeno son los “seguros” en los pacientes sépticos.

En el presente trabajo no encontramos relación entre los resultados obtenidos de los mediadores inflamatorios y la FiO₂ empleada, no existiendo diferencias significativas entre los grupos. La combinación de volúmenes *tidal* altos e hiperoxia produce una reducción significativa de la distensibilidad pulmonar, aumento de la permeabilidad de la membrana alveolo-capilar, disfunción del surfactante pulmonar y elevación de mediadores proinflamatorios (Li y cols. 2007). Si se emplea una estrategia ventilatoria, como en nuestro caso, que limite el VT a 6 ml/kg junto con hiperoxia, los trastornos comentados con anterioridad pueden limitarse (Kallet y cols. 2013).

Hay que considerar también que en nuestros resultados los grupos que recibieron FiO₂ de 0,6 y de 1 presentaron una acidosis respiratoria en los análisis de las gasometrías arteriales obtenidas al final de los experimentos. Como ya ha sido evaluado con anterioridad, la acidosis respiratoria ocasionada por el empleo de VT bajos podría atenuar la respuesta inmune.

Varios estudios clínicos sugieren un papel protector de la acidosis respiratoria en varios órganos, incluyendo el pulmón (Hickling y cols. 1990, Swenson 2004). Distintos mecanismos podrían explicar el efecto que tiene la acidosis respiratoria sobre la VILI. En primer lugar, aceptando un mayor nivel de PaCO₂ (hipercapnia permisiva) se puede reducir el VT administrado y disminuir las presiones en la vía aérea, lo cual tendría efectos beneficiosos sobre la VILI. Segundo, como se ha observado en estudios experimentales y clínicos, la acidosis hipercápnica tiene efectos directos sobre la perfusión pulmonar, oxigenación y transporte de oxígeno, debido a que la curva de

disociación de la hemoglobina se desplaza hacia la derecha mejorando la ventilación/perfusión. En tercer lugar, una elevación de la PaCO₂ podría tener un efecto modulador directo sobre la respuesta inflamatoria.

Queda por vislumbrar si el efecto protector está mediado por la CO₂ o directamente por el pH. En un estudio que comparó los efectos de la acidosis hipercápnica con acidosis metabólica normocápnica, se encontró que la acidosis metabólica ejerce los mismos efectos protectores que la acidosis hipercápnica en la VILI (Kapetanakis y cols. 2011). Alguno de estos efectos pueden ser protectores, como la inhibición de la xantina oxidasa y la formación de radicales de oxígeno, disminución de la activación del complemento o la disminución de la actividad transcripcional del NF-κB (Takeshita y cols. 2003, Contreras y cols. 2012), un activador transcripcional fundamental en la lesión, inflamación y reparación. Recientemente se ha estudiado, en ratas a las que se indujo un neumoperitoneo y se les ventiló con diferentes estrategias ventilatorias, como la ventilación protectora con hipercapnia permisiva ejerce un efecto protector pulmonar reduciendo el estrés oxidativo y la inflamación inducida por TLR-4 (*toll-like receptor 4*) (Gao y cols. 2015).

En definitiva, existen varios aspectos que deben ser tenidos en cuenta a la hora de interpretar los resultados obtenidos en lo que a los marcadores inflamatorios se refiere y el por qué no se encuentran diferencias significativas entre los grupos a estudio. El tiempo de exposición, el tratarse de animales sanos, el empleo de una estrategia protectora o la presencia de una acidosis hipercápnica son algunos de los factores que hay que valorar para futuros estudios.

9.6 EVALUACIÓN DE LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO

Ha sido ampliamente demostrada la participación en la fisiopatología pulmonar de especies moleculares caracterizadas por su gran capacidad de interacción química

(reactividad), gracias a que presentan en su orbital más externo un electrón no apareado. A estas especies reactivas se les denomina, en general, como radicales libres; sin embargo, cuando involucran a moléculas en las que el oxígeno es el elemento reactivo de su estructura, se les conoce como especies reactivas de oxígeno (ROS).

Las ROS actúan de una doble forma, como tóxico directo sobre las células y, como un segundo mensajero, modulando vías de señalización intracelular. Esto ocasiona inflamación, infiltración neutrofílica y producción de citoquinas, así como apoptosis. La inducción de enzimas antioxidantes en respuesta al estímulo nocivo es una parte crucial en la detoxificación celular de las ROS y del mantenimiento de la homeostasis redox celular. Existen varios sistemas defensivos en el pulmón para contrarrestar el estrés oxidativo, incluyendo la catalasa, superóxido dismutasa y el glutatión. Estas enzimas son reguladas por el factor nuclear eritroideo 2 relacionado con el factor 2 (Nrf2 o NFE2L2) que juega un papel fundamental en los mecanismos antioxidantes al limitar el daño oxidativo (Cho y cols. 2006). También induce vías de rescate celular frente a la apoptosis y la carcinogénesis. En un estudio en cultivos celulares se apreció como el TNF y la expresión de Nrf2 estaban relacionados, siendo el TNF responsable de la expresión y activación de Nrf2, generando una respuesta mantenida con el objetivo de limitar su daño y ejercer de citoprotector (Rushworth y cols. 2011). A nivel pulmonar, la falta de Nrf2 exagera la toxicidad de múltiples estímulos nocivos, como la hiperoxia o la ventilación mecánica. En la hiperoxia, el Nrf2 se ha visto que tiene un papel protector (Cho y cols. 2002) y alteraciones genéticas de este factor de transcripción favorecen la susceptibilidad a enfermedades pulmonares. Recientemente se han relacionado variantes genéticas de Nrf2 en pacientes críticos con la susceptibilidad al SDRA, reforzando la idea del papel del estrés oxidativo como factor de riesgo de este síndrome (Acosta-Herrera y cols. 2015).

La hiperoxia produce lesión celular a través de la producción de especies reactivas de oxígeno, como el anión superóxido, el radical hidroxilo y el peróxido de

hidrógeno. Estas sustancias actúan sobre una superficie pulmonar muy amplia y con una importante vascularización, lo que convierte al parénquima pulmonar en muy susceptible al efecto tóxico de estas sustancias (estrés oxidativo). Un desequilibrio entre la producción de ROS y los antioxidantes puede iniciar reacciones oxidativas en cadena y peroxidación lipídica que causan daños celulares graves. Por lo tanto, cuando la producción de estas especies reactivas aumenta o los mecanismos celulares de defensa están alterados, los radicales de oxígeno pueden reaccionar y alterar la función molecular intracelular, ocasionando la muerte celular.

Cuando se produce la exposición a niveles altos de oxígeno durante periodos largos de tiempo, se pierde la posibilidad de eliminar el exceso de especies reactivas de oxígeno, dando lugar a una lesión de la membrana endotelial capilar, del epitelio alveolar, peroxidación lipídica y edema intracelular. El aumento en la peroxidación lipídica (medida por medio del malondialdehído como reflejo de la degradación oxidativa) que se produce tras la exposición a la hiperoxia se acompaña de una menor regulación de la superóxido dismutasa y de la glutatión peroxidasa, sugiriendo que la patogénesis de la lesión pulmonar aguda inducida por el exceso de oxígeno puede ser atribuida, al menos parcialmente, a un desequilibrio entre los oxidantes y los antioxidantes.

En nuestro trabajo hemos observado una elevación de las especies reactivas de oxígeno que determinamos en pulmón y en suero (óxido nítrico, peróxido de hidrógeno, radical peroxilo y peroxinitrito). Sin embargo, las diferencias entre los grupos no fueron significativas. Además, como apreciamos, era esperable que en el tejido pulmonar hubiese más ROS, ya que el pulmón ventilado es un foco de producción de ROS, en cambio en el suero, aunque contiene ROS, el efecto queda “más diluido”.

El hecho de no apreciar diferencias significativas puede estar relacionado con el tiempo de duración de los experimentos (4 horas), ya que una constante en la lesión pulmonar aguda producida por el exceso de oxígeno es el relacionado con el tiempo de

exposición. Se sabe que el tratamiento prolongado con FiO_2 ($>0,9$) causa lesión pulmonar asociada a la hiperoxia (HALI) grave y es letal en todas las especies animales. En modelos animales, la hiperoxia prolongada (7 días con FiO_2 de 1) ocasiona alteraciones histológicas similares a las encontradas en la lesión pulmonar aguda o en los modelos de VILI. Entre estas alteraciones están el edema, la formación de membranas hialinas, lesiones vasculares y fibrosis pulmonar.

En un estudio que comparó un grupo de ratas alojadas en una urna y en respiración espontánea pero sometidas a hiperoxia (FiO_2 0.95) frente a otro grupo, también en respiración espontánea en urna, pero en el que se mantuvo normoxia, se apreció que los valores de $\text{TNF-}\alpha$ y $\text{IL-1}\beta$ aumentaron en muestras pulmonares en el grupo hiperóxico frente al que se utilizó aire ambiente, pero esto se produjo a partir de las 24-36 horas. En las primeras 12 horas, no encontraron diferencias en los valores obtenidos de estos marcadores inflamatorios entre los dos grupos. De la misma forma, la valoración del estrés oxidativo (realizada por medio de superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, malondialdehído) en las primeras 12 horas, a pesar de obtener valores, no fue diferente entre los grupos hasta las 24 horas (Yu y cols. 2015). Este estudio se enmarca dentro de los que aprecian que, para obtener diferencias en los marcadores inflamatorios y en las especies reactivas de oxígeno, se precisa mucho tiempo de exposición.

En nuestro trabajo, otros de los factores que pueden estar relacionados, además del tiempo, es la forma en que ventilamos a los animales en nuestro estudio (ventilación protectora). Debemos tener en consideración que la estrategia ventilatoria que utilizamos en todos los grupos limitó la sobredistensión alveolar (la presión pico que se alcanzó en nuestro estudio varió entre 12 y 16 mmHg) y mantuvo un nivel de PEEP suficiente para evitar el atelectrauma, siendo la FiO_2 lo único que cambiamos entre los grupos. Hay evidencias de que la VM afecta a la expresión de diferentes moléculas

relacionadas con el estrés oxidativo y que puede producir la elevación de ROS (Ngiam y cols. 2012).

La ventilación mecánica que produce mayor estrés en la pared alveolar aumenta la proporción de ROS, originando mayor producción de estas especies en respuesta a los fenómenos de sobredistensión y de cizallamiento alveolar (Matsushita y cols. 2001). El sistema NADPH oxidasa, la producción mitocondrial y el sistema de la xantina oxidasa son fuentes implicadas en el aumento de producción de ROS en respuesta al estrés mecánico. En un estudio en el que se planteó que la sobredistensión del epitelio pulmonar aumentaba la producción de ROS que pudiesen estar relacionadas con la lesión pulmonar inducida por la ventilación mecánica, se expusieron células epiteliales pulmonares a fenómenos cíclicos de tensión mecánica, midiéndose la producción de ROS. Se llegó a la conclusión de que la producción de ROS se incrementaba tras dos horas de aplicación excesiva de tensión en estos grupos celulares (Chapman y cols. 2005).

En otro estudio que analizó el estrés oxidativo (valorado por peroxidación lipídica) y el papel de los antioxidantes (valorado por medio de Nrf2, sulfiredoxina-1 y subunidades de la glutamato-cisteína ligasa) en 3 grupos de ratas sometidas a ventilación mecánica con diferentes volúmenes *tidal* (8, 30 y 42 ml/kg respectivamente), se vio como el estrés oxidativo y los niveles de enzimas antioxidantes se asociaban positivamente con el volumen *tidal*, sugiriendo que volúmenes *tidal* altos causan más estrés oxidativo y mayor incremento de antioxidantes (Sun ZT y cols. 2015).

Es posible que si en nuestro estudio hubiésemos ventilado a los animales, además de durante más tiempo, con una ventilación que produjese sobredistensión pulmonar y que favoreciese los fenómenos de atelectrauma, los resultados hubiesen sido distintos.

A pesar de no encontrar diferencias en los valores de especies reactivas de oxígeno entre los grupos, sí hemos encontrado en nuestro estudio datos que nos hacen creer que, manteniendo más tiempo a los animales ventilados, hubiésemos obtenido valores de especies reactivas de oxígeno diferentes entre los grupos. De esta forma, en la valoración histológica apreciamos entre los grupos una mayor fase exudativa de lesión pulmonar aguda a medida que aumentábamos la concentración de oxígeno, una mayor presencia de atelectasias, mayor grado de edema pulmonar (valorado por el índice *wet/dry*) y una disminución de la distensibilidad pulmonar, características que también se han visto en los casos de lesión pulmonar aguda debido a la hiperoxia. No encontramos, sin embargo, cambios en la oxigenación. Es posible que más tiempo de ventilación mecánica hubiese mostrado valores de especies reactivas de oxígeno diferentes entre los grupos que pudiesen apoyar más esta idea.

Al igual que ocurrió con los mediadores inflamatorios, debemos comentar que la acidosis respiratoria obtenida en los grupos en los que se administró una FiO_2 de 0,6 y de 1, pudo haber contribuido a la atenuación del estrés oxidativo, como se vio en un estudio en ratas, en donde la acidosis hipercápnica suprimió la vía de señalización mediada por ASK-1 (quinasa relacionada con la señalización apoptótica) confiriendo propiedades antiapoptóticas y antioxidantes (Yang y cols. 2013).

Para estudiar la relación entre la acidosis respiratoria y las reacciones oxidativas, se condujo una investigación en la que se sometió a diferentes grupos de ratas con una lesión pulmonar secundaria a la administración de endotoxina a una estrategia ventilatoria, similar a la empleada por nosotros, manteniendo en un grupo la normocapnia mientras en el otro se inducía una acidosis hipercápnica. Para analizar el estrés oxidativo se valoró la presencia de compuestos que reaccionaban con el peroxinitrito y así obtener un indicador oxidativo. Se apreció que, en el grupo en el que se mantenía la normocapnia estos indicadores oxidativos aumentaron, descendiendo en el grupo que se mantuvo con una acidosis hipercápnica (Nichol y cols. 2010).

Ya hemos comentado que el tiempo de exposición al oxígeno es un elemento clave para ver alteraciones importantes. En un estudio (Nash y cols, 1971) en el que sometieron a animales de experimentación a ventilación mecánica manteniendo una presión en la vía aérea de 13 cmH₂O (similar a las obtenidas en el presente trabajo) con distintas FiO₂ se apreció como, en el grupo con FiO₂ de 1 los animales no sobrevivieron más de 4 días, observándose en la autopsia de este grupo como los pulmones estaban edematosos y con membranas hialinas. Sin embargo, el grupo que recibió FiO₂ de 0,21 sobrevivió más de 2 semanas y sus pulmones no evidenciaron diferencias con respecto al grupo control. Resulta obvio que al tener el diseño de nuestro estudio un límite de tiempo de ventilación mecánica, los resultados en los que a especies reactivas de oxígeno se refiere, deben ser analizados con cautela.

Por último, reseñar que el objetivo principal del trabajo tampoco era establecer un perfil temporal de la expresión de inflamación/ROS, sino solamente estudiar qué pasaba a las 4h.

9.7 CONSIDERACIONES FINALES

El umbral letal en humanos expuestos a hiperoxia de manera prolongada es desconocido y no se puede especular su nivel a partir de los resultados obtenidos en animales. Varios estudios en pacientes críticos han pretendido valorar la importancia clínica de la toxicidad pulmonar por O₂, pero los resultados obtenidos no han sido concluyentes. En un estudio prospectivo se aleatorizó a 40 pacientes postoperados de cirugía cardíaca que estaban con ventilación mecánica a recibir FiO₂ de 1 (duración media de exposición de 24 horas) o la mínima FiO₂ para mantener una PaO₂ entre 80-120 mmHg (este grupo no recibió FiO₂ superiores a 0,42). Los resultados en ambos grupos no evidenciaron alteraciones en la distensibilidad pulmonar, ni diferencias en el *shunt* intrapulmonar, ni diferentes cursos clínicos (Singer y cols. 1970). En otro estudio

se seleccionó a 10 pacientes con lesión cerebral irreversible para recibir FiO_2 al 0,21 o FiO_2 de 1. La duración media de exposición fue de 52 horas y el grupo hiperóxico mostró mayor afectación de la función pulmonar, manifestándose sobre todo por un descenso de la PaO_2 que empezó a ser significativo tras 30 horas de FiO_2 1, lo cual puede ser explicado por el desarrollo de atelectasias por reabsorción. Sin embargo, la autopsia no reveló diferencias histológicas entre ambos grupos (Barber y cols. 1970). En un estudio retrospectivo en supervivientes de SDRA en los que se estudió la función pulmonar un año después de la recuperación de este cuadro, se concluyó que los pacientes que recibieron $FiO_2 > 0,6$ durante más de 24 horas presentaban una reducción de la DLCO (capacidad de difusión de monóxido de carbono o factor de transferencia, que mide el monóxido de carbono transferido desde el gas inspirado hasta la sangre capilar pulmonar) con respecto a los que habían recibido FiO_2 por debajo de 0,6 (Elliot y cols. 1987).

En otro trabajo en el que se realizó un estudio histológico en 21 pacientes fallecidos después de haber recibido diferentes concentraciones de oxígeno durante el tratamiento de su enfermedad, se apreció como la mayoría de los pacientes que recibieron niveles de FiO_2 superiores a 0,5 presentaron neumonitis difusa con membranas hialinas (8 de los 9 pacientes que las presentaron recibieron FiO_2 entre 0,6 y 0,8 durante dos días), mientras que a los que se les administró una FiO_2 menor presentaron solo una neumonitis focal (FiO_2 entre 0,25 y 0,4 durante 6 días) (Sevitt 1974).

A pesar de las investigaciones realizadas y del mayor conocimiento que existe en la actualidad sobre la toxicidad pulmonar por oxígeno, sigue sin encontrarse la cifra mágica en lo que a dosis de O_2 y tiempo de exposición se refiere que sirva de límite para no ser sobrepasado, a sabiendas de que las complicaciones pulmonares puedan ser irreversibles. Se mantiene la recomendación de utilizar la FiO_2 más baja posible para que cumpla con los objetivos de oxigenación, los cuales pueden ser establecidos para

una PaO₂ que se sitúe entre 60-70 mmHg y una saturación periférica de O₂ entre 90-93%. Aun así, el juicio clínico debe prevalecer para establecer unos objetivos de oxigenación adaptados a cada paciente, como es el caso de los pacientes con enfermedad coronaria o con hipertensión pulmonar que pueden tolerar mal la hipoxemia.

Además de lo expresado sobre las características que deben tener los estudios experimentales cuando se investiga acerca de la lesión pulmonar, en nuestro estudio hemos querido ofrecer una visión global del daño pulmonar que se ha producido y conocer qué es lo que se afecta en mayor medida cuando utilizamos una estrategia ventilatoria protectora con distintas concentraciones de oxígeno. Por este motivo hemos querido ver esta lesión desde los siguientes enfoques: clínico, macroscópico, microscópico y molecular.

Clínico: Sería una traducción de lo que se podría encontrar el clínico en su actividad diaria y que lo podría poner en la pista de que se están produciendo una serie de alteraciones que, aun siendo leves, si no se corrigen las causas desencadenantes podrían progresar a cuadros más severos. Lo determinaríamos por los resultados obtenidos en la gasometría arterial y por las propiedades mecánicas del sistema respiratorio (distensibilidad dinámica y presión pico). En este punto hemos apreciado que en animales sanos tras 4 horas de ventilación mecánica, utilizando una estrategia protectora pulmonar, a medida que aumentamos la FiO₂, los parámetros que veríamos que se modifican de forma significativa serían la distensibilidad (que disminuye) y la presión pico (que aumenta). Por lo tanto, variaciones de estos dos parámetros nos debe hacer plantearnos que, entre las numerosas causas que pueden alterarlos (desadaptación del paciente a la ventilación mecánica, aumento de la presión abdominal, excesiva posición de trendelenburg, etc.), una de ellas puede ser, en el caso de que utilicemos FiO₂ altas (consideradas en nuestro estudio $\geq 0,6$), el comienzo de una posible lesión pulmonar asociada la hiperoxia. En este punto inicial, el nivel de

oxigenación no sería muy útil al no mostrar empeoramiento en sus valores, pero debido a los cambios en la arquitectura pulmonar se apreciaría una tendencia a la hipercapnia.

Macroscópico: Determinado por el índice *wet/dry*, como indicador del edema pulmonar. Hemos apreciado como a medida que se aumentaba la FiO_2 en los distintos grupos de nuestro estudio, el índice *wet/dry* aumentaba, siendo este un parámetro útil a tener en cuenta en estos casos. Corolario: deben evitarse en lo posible las concentraciones de $FiO_2 \geq 0,6$ debido al significativo edema pulmonar que se produce.

Microscópico: Determinado por la observación de los trastornos histológicos. Hemos visto importantes cambios en los septos alveolares, presencia de hemorragias alveolares, fibrina e infiltrados intraalveolares en los distintos grupos, siendo más pronunciados en aquellos grupos con $FiO_2 \geq 0,6$. El desarrollo de procesos fibróticos, aunque muy leves, se han evidenciado en los grupos con mayor concentración de oxígeno.

Molecular: Determinado por los mediadores inflamatorios y las especies reactivas de oxígeno. Aunque hemos hallado elevación de mediadores inflamatorios, antiinflamatorios y de especies reactivas de oxígeno en pulmón y suero, no hemos visto diferencia entre los grupos, posiblemente por el poco tiempo de duración de los experimentos y por el efecto limitante que sobre la hiperoxia pueda tener la ventilación protectora. En animales sanos, en los que se limita la sobredistensión pulmonar y se aplica PEEP, estas determinaciones no han resultado concluyentes para el estudio de la lesión pulmonar inducida por la hiperoxia durante 4 horas de ventilación mecánica.

En definitiva, donde hemos apreciado más cambios que puedan servir como base para futuros estudios sobre el efecto de la hiperoxia a nivel pulmonar, es en los que hacen referencia a las alteraciones en la mecánica respiratoria, a la presencia de edema pulmonar y a los cambios en la histología pulmonar.

El presente estudio tiene varias limitaciones. Nosotros establecimos nuestra hipótesis de trabajo alrededor de los efectos lesivos del exceso de oxígeno en el pulmón pero diseñamos los experimentos para que duraran 4 horas. El daño producido por la hiperoxia es dependiente del tiempo y quizás, aumentando el tiempo de exposición al mismo, los resultados hubiesen sido más contundentes. Aplicando nuestro protocolo experimental, de 4 horas de duración, hemos visto cambios significativos en las características histológicas del pulmón, en la cantidad de edema pulmonar y en determinados parámetros gasométricos, así como en la mecánica respiratoria. Sin embargo, en otros valores medidos, como la oxigenación o los mediadores inflamatorios, no encontramos diferencias entre los grupos. Con respecto a esto último, a la hora de valorar la respuesta inflamatoria, no determinamos las citoquinas, ni otros marcadores de inflamación como los polimorfonucleares en el lavado broncoalveolar, lo que quizás hubiese dado otros resultados en este sentido.

Por otro lado, lo único que varió entre los distintos grupos del estudio fue el oxígeno, manteniéndose el volumen *tidal*, la frecuencia respiratoria y la PEEP igual durante todo el experimento en todos los grupos. Es probable que, aplicando maniobras de reclutamiento pulmonar, modificando los valores de la PEEP o aplicando cambios posturales determinados aspectos, como las atelectasias observadas, hubiesen variado. La PEEP podría haberse ajustado individualmente guiada por los valores de distensibilidad dinámica o por los valores de mediciones frecuentes de la relación PaO_2/FiO_2 pero nuestro protocolo de estudio se diseñó para que el único valor que variase entre los grupos fuese la FiO_2 .

Por último, nuestros animales eran sanos y sometidos a un periodo de ventilación mecánica que, aunque se ha demostrado suficiente en muchos estudios para evaluar la lesión pulmonar, puede que presente limitaciones cuando lo que se quiere estudiar es solo el efecto de una variable, en nuestro caso, el oxígeno. Quizás este mismo trabajo

pero en animales sépticos o empleando distintas estrategias ventilatorias, hubiese dado otros resultados.

Consideramos que estas matizaciones deben ser tenidas en cuenta para futuros estudios que analicen el efecto de la hiperoxia en distintas poblaciones.

Los resultados obtenidos en este trabajo pretenden aportar más datos sobre el efecto que tiene la ventilación mecánica, empleada de la forma menos lesiva posible, combinada con distintas concentraciones de oxígeno.

Para finalizar, destacar que, mientras que un paciente ingresado en las Unidades de Cuidados Críticos permanezca intubado y conectado a ventilación mecánica, no hay duda de que la ventilación protectora es la más indicada (Petrucci y cols. 2013, Putensen y cols. 2009). Sin embargo, en el ámbito quirúrgico, existe polémica. En este sentido, uno de los principales objetivos cuando un paciente se somete a una anestesia general, es el de disminuir las complicaciones pulmonares postoperatorias, responsables de una alta morbilidad postoperatoria y de altos costes económicos (Shander y cols. 2011), alcanzando su máxima incidencia entre el primer y tercer día del postoperatorio (Thompson y cols. 2003). Existen evidencias de la asociación entre la estrategia ventilatoria empleada durante una intervención quirúrgica bajo anestesia general y la morbilidad pulmonar postoperatoria debido una inadecuada programación de los parámetros ventilatorios, pudiéndose agravar e incluso iniciar un daño pulmonar en pacientes sin enfermedad pulmonar conocida (Serpa Neto y cols. 2012). Por tanto, parecería clínicamente adecuado emplear en el transcurso de una intervención quirúrgica una ventilación mecánica protectora, con niveles moderados de PEEP y maniobras de reclutamiento cuando sean necesarias, lo cual ya ha sido avalado en diferentes estudios.

Un estudio (Severgnini y cols. 2013) en 56 pacientes sometidos a laparotomía de al menos 2 horas de duración, comparó la ventilación no protectora (VT de 9 ml/kg y PEEP 0 cmH₂O) con una estrategia que consistía en utilizar un VT de 7 ml/kg, 10 cmH₂O

de PEEP y maniobras de reclutamiento alveolar, que se aplicaron después de la intubación, antes de la extubación y, si durante la cirugía, se desconectaba al paciente de la ventilación mecánica. Esta última estrategia ventilatoria logró mejorar la función pulmonar (valorada por espirometría antes y después de la cirugía), mostró menores alteraciones en las radiografías de tórax realizadas y consiguió mayores niveles de oxigenación y menores puntuaciones en la escala de complicaciones pulmonares modificada (Pelosi y cols. 2008).

En otro estudio, en este caso multicéntrico que incluyó a 400 pacientes que presentaban un riesgo intermedio o alto de complicaciones pulmonares postoperatorias y que se sometieron tanto a cirugía laparoscópica como abierta, se mostró que el uso de una ventilación protectora basada en un VT entre 6-8 ml/kg, PEEP entre 6-8 cmH₂O y maniobras de reclutamiento, disminuía las complicaciones pulmonares y extrapulmonares (10% frente a 27%) cuando se comparaba con una estrategia ventilatoria que empleaba un VT de 10-12 ml/kg de peso y PEEP 0 cmH₂O (Futier y cols. 2013).

Estos resultados favorables a favor de la ventilación protectora no se vieron refrendados en un amplio estudio multicéntrico (PROVHILO trial, 2014) que incluyó 30 centros en Europa y América y que contó con 900 pacientes que se sometieron a cirugía abdominal y que se aleatorizaron en dos grupos: uno que recibió una PEEP de 12 cmH₂O y maniobras de reclutamiento y otro una PEEP \leq de 2 cmH₂O sin maniobras de reclutamiento. Ambos grupos fueron ventilados con un VT de 8 ml/kg. El nivel tan bajo de PEEP que se eligió se basó en una encuesta a anestesiólogos franceses que respondieron que habitualmente, empleaban una PEEP entre 0 y 4 cmH₂O sin maniobras de reclutamiento (Jaber y cols. 2006). Se apreció que la incidencia de complicaciones pulmonares postoperatorias fue similar en ambos grupos (38% frente 39%) y que el grupo al que se aplicó más PEEP presentó mayores complicaciones hemodinámicas con necesidad de fármacos vasoactivos. Hay que tener en cuenta que en este estudio los niveles de PEEP fueron excesivos para tratarse de cirugías

convencionales y que incluso muchos pacientes con SDRA reciben menos niveles de PEEP. Por otro lado los mayores grados de inestabilidad hemodinámica se alcanzaron una vez establecida la PEEP tras las maniobras de reclutamiento, más que por el reclutamiento en sí.

Con el objetivo de prevenir las complicaciones pulmonares postoperatorias y siguiendo el concepto de atelectasias intraoperatorias permisivas, en una revisión reciente se recomienda emplear un VT entre 6-8 ml/kg/peso ideal un nivel de PEEP \leq de 2 cmH₂O y no realizar maniobras de reclutamiento (Güldner y cols. 2015) en pacientes no obesos que no tengan SDRA y que sean sometidos a una intervención quirúrgica sobre la pared abdominal.

En los estudios anteriormente citados son muchas las menciones que se hacen sobre la modalidad ventilatoria, la PEEP y las maniobras de reclutamiento. Sin embargo, son pocos los datos de los que disponemos con respecto a la FiO₂ que se utiliza. El estudio de Severgnini indica tan solo que la FiO₂ que se estableció en el protocolo fue de 0,4; el de Futier hace referencia a que, en caso de desaturación, se puede utilizar una FiO₂ de 1, en el estudio PROVHILO se indica que el establecimiento de la FiO₂ será a criterio del anestesiólogo, pero que debe ser al menos de 0,4 y en la revisión de Güldner se habla de que la FiO₂ debe ser \geq 0,4 para mantener una saturación periférica de oxígeno superior al 92% y, en caso de que descienda de esa cifra se ajustaría la FiO₂ según el nivel de PEEP empleado.

Puede resultar complicado encontrar el punto, a partir del cual, la hipoxemia o la hiperoxia sean perjudiciales para los pacientes. La hipoxemia, al igual que la hiperoxia, es un hallazgo común en los pacientes críticos y viene definida como la presencia de una PaO₂ o SatO₂ por debajo de lo considerado como normal. Normal puede considerarse unos niveles de PaO₂ entre 80-100 mmHg respirando aire ambiente y una SatO₂ mayor del 94% (O'Driscoll y col. 2008). Sin embargo, una importante variabilidad interindividual puede existir entre estos valores, como es el caso de los pacientes con

más edad, ya que este es un factor relacionado inversamente con la oxigenación, debido a los trastornos en la ventilación-perfusión. La administración de oxígeno debe ser considerada de la misma forma que el resto de los fármacos que se utilizan diariamente y ser pautado atendiendo a sus efectos secundarios y a los beneficios que pretendemos obtener. Todavía no se ha encontrado un límite inferior de oxigenación que sea seguro, pero es posible que se encuentre por debajo de lo que tradicionalmente se acepta en la clínica diaria. El control preciso de la oxigenación, que pretende evitar fluctuaciones importantes de la oxigenación fuera de rangos definidos, o la hipoxemia permisiva son conceptos que, a falta de estudios clínicos que les den evidencia, abren un camino para la investigación (Martin DS y cols. 2013). Cuando los pacientes están conectados a ventilación mecánica, un tratamiento conservador que mantenga la SatO_2 entre 90-92% ha demostrado ser seguro y, a pesar de que no muestre diferencias significativas respecto a una estrategia más liberal, hay una tendencia al descenso en la concentración de lactato y a la presencia de fallo orgánico extrapulmonar (Suzuki y cols. 2014).

A la luz de las alteraciones observadas en este trabajo de tesis doctoral, parece prudente recomendar que, junto con la ventilación mecánica protectora se deben evitar largos periodos de tiempo, siempre que la situación clínica lo permita, de FiO_2 iguales o superiores 0,6. Una monitorización y vigilancia estrecha de la PaO_2 y SatO_2 para detectar cuándo se está administrando una concentración de oxígeno excesiva, de la distensibilidad pulmonar y de la presión de vía aérea, serán necesarias siempre y cuando un paciente esté intubado y conectado a ventilación mecánica. En este sentido, necesitarían una vigilancia adicional aquellos pacientes sometidos a cirugías de larga duración (>4-6 horas) o que impliquen importantes trastornos respiratorios intra o postoperatorios (esofagectomía, cirugía unipulmonar, cirugía citorreductora con quimioterapia hipertérmica intraoperatoria, etc.) y aquellos pacientes ingresados en las

Unidades de Cuidados Críticos y que presenten factores de riesgo para desarrollar una lesión pulmonar aguda.

10. CONCLUSIONES

1.- La ventilación mecánica, utilizando volúmenes *tidal* bajos y PEEP, con el objetivo de evitar la sobredistensión y el cizallamiento alveolar, aplicada durante 4 horas en animales sanos, produce trastornos a diferentes niveles si se utilizan concentraciones de oxígeno altas.

2.- Las alteraciones más evidentes se producen desde el punto de vista histológico en donde se aprecia que, a medida que se eleva la FiO_2 , hay un mayor grado de afectación de los septos alveolares y mayor presencia de hemorragias alveolares, infiltrados y fibrina intraalveolar. Las atelectasias también son más importantes en los grupos con más concentración de oxígeno. Por otro lado, los cambios fibróticos observados fueron de naturaleza leve.

3.- La membrana alveolo-capilar se afecta a consecuencia del edema pulmonar, siendo este de mayor proporción a medida que la FiO_2 aumenta.

4.- A mayor concentración de oxígeno, los cambios que se producen en la mecánica pulmonar, en los distintos grupos, son más pronunciados y se ponen de manifiesto por una disminución de la distensibilidad pulmonar.

5.- Existe una tendencia a la hipercapnia a consecuencia de las alteraciones de la mecánica pulmonar, sin que esté implicada la oxigenación.

6.- Aunque hemos observado en los grupos experimentales de estudio la presencia de mediadores inflamatorios en sangre y plasma, al igual que de especies reactivas de oxígeno, no apreciamos diferencias significativas entre los grupos, probablemente debidas al poco tiempo de ventilación mecánica, a que utilizamos una estrategia ventilatoria protectora y a que nuestros animales eran sanos.

7.- Consideramos que debido a los cambios significativos que se producen en la arquitectura alveolar, en la mecánica respiratoria y en el grado de edema pulmonar, una FiO_2 mayor o igual a 0,6 se debe evitar sin una justificación clínica, controlando este aspecto tanto en los pacientes quirúrgicos como en los críticos.

11. ANEXOS

ANEXO I: DATOS DE LA MONITORIZACIÓN INTRAOPERATORIA

Grupo FiO₂ 0,21

Animal 1. 1H21V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	329				
VT (ml)	2,00				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	280	278	280	295	290
Ppico (cmH ₂ O)	13,6	13,6	12,2	12,2	13,6
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,18	0,18	0,21	0,21	0,18
SatO ₂ (%)	96	94	95	96	96
Temperatura (°C)	36,9	37,0	37,0	37,1	37,3

VT: Volumen *tidal* o volumen corriente; Ppico: Presión pico; Distensibilidad dinámica (ml/cmH₂O): VT/Ppico-PEEP; PEEP: Presión positiva al final de la espiración; SatO₂: Saturación periférica de oxígeno

Animal 2. 2H21V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	370				
VT (ml)	2,20				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	290	295	287	292	298
Ppico (cmH ₂ O)	13,6	12,2	12,2	13,6	12,2
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,20	0,23	0,23	0,20	0,23
SatO ₂ (%)	96	93	91	92	92
Temperatura (°C)	36,7	36,8	37,1	37,1	37,2

Animal 3. 3H21V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	370				
VT (ml)	2,20				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	285	290	293	287	295
Ppico (cmH ₂ O)	12,2	12,2	13,6	13,6	13,6
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,23	0,23	0,20	0,20	0,20
SatO ₂ (%)	96	95	97	96	95
Temperatura (°C)	36,7	36,8	37,1	37,1	37,2

Animal 4. 4H21V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	360				
VT (ml)	2,20				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	287	292	290	280	282
Ppico (cmH ₂ O)	12,2	12,2	13,6	12,2	12,2
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,23	0,23	0,20	0,23	0,23
SatO ₂ (%)	95	94	94	93	91
Temperatura (°C)	36,8	37,0	37,0	37,2	37,0

Animal 5. 5H21V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	350				
VT (ml)	2,1				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	282	294	305	300	295
Ppico (cmH ₂ O)	12,2	13,6	13,6	13,6	13,6
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,22	0,19	0,19	0,19	0,19
SatO ₂ (%)	96	96	97	96	96
Temperatura (°C)	37,2	37,0	37,1	37,0	37,1

Animal 6. 6H21V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	320				
VT (ml)	1,9				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	295	297	289	302	296
Ppico (cmH ₂ O)	12,2	12,2	13,6	12,2	13,6
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica (ml/cmH ₂ O)	0,20	0,20	0,17	0,20	0,17
SatO ₂ (%)	95	96	94	94	95
Temperatura (°C)	37,2	37,1	37,1	37,2	37,3

Grupo FiO₂ 0,4**Animal 1. 1H40V**

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	400				
VT (ml)	2,4				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	289	283	297	290	285
Ppico (cmH ₂ O)	13,6	13,6	12,2	15	13,6
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,22	0,22	0,26	0,20	0,22
SatO ₂ (%)	96	98	99	98	98
Temperatura (°C)	37,0	37,0	37,0	37,1	37,2

VT: Volumen *tidal* o volumen corriente; Ppico: Presión pico; Distensibilidad dinámica (ml/cmH₂O): VT/Ppico-PEEP; PEEP: Presión positiva al final de la espiración; SatO₂: Saturación periférica de oxígeno

Animal 2. 2H40V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	350				
VT (ml)	2,1				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	293	287	300	297	293
Ppico (cmH ₂ O)	10,9	10,9	13,6	12,2	12,2
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,26	0,26	0,19	0,22	0,22
SatO ₂ (%)	96	100	99	99	100
Temperatura (°C)	36,7	36,9	37,0	37,0	37,2

Animal 3. 3H40 V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	353				
VT (ml)	2,1				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	298	295	296	290	295
Ppico (cmH ₂ O)	10,9	12,2	12,2	13,6	12,2
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,26	0,22	0,22	0,19	0,22
SatO ₂ (%)	95	99	98	99	99
Temperatura (°C)	36,9	36,9	37,1	37,0	37,1

Animal 4. 4H40V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	329				
VT (ml)	2,0				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	278	289	285	293	288
Ppico (cmH ₂ O)	12,2	12,2	13,6	12,2	12,2
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,21	0,21	0,18	0,21	0,21
SatO ₂ (%)	96	99	99	98	99
Temperatura (°C)	37,0	37,0	37,1	37,2	37,1

Animal 5. 5H40V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	310				
VT (ml)	1,9				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	295	293	290	297	298
Ppico (cmH ₂ O)	12,2	12,2	12,2	13,6	13,6
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,20	0,20	0,20	0,17	0,17
SatO ₂ (%)	95	100	100	100	100
Temperatura (°C)	37,2	37,0	37,2	37,2	37,2

Animal 6. 6H40V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	360				
VT (ml)	2,2				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	287	296	299	306	296
Ppico (cmH ₂ O)	12,2	13,6	13,6	13,6	13,6
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,23	0,20	0,20	0,20	0,20
SatO ₂ (%)	95	98	99	98	99
Temperatura (°C)	36,7	36,9	36,9	37,1	37,1

Grupo FiO₂ 0,6**Animal 1. 1H60V**

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	355				
VT (ml)	2,1				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	291	289	295	297	286
Ppico (cmH ₂ O)	12,2	13,6	15	15	15
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,22	0,19	0,17	0,17	0,17
SatO ₂ (%)	95	99	99	100	100
Temperatura (°C)	37,1	36,9	37,1	37,2	37,1

VT: Volumen *tidal* o volumen corriente; Ppico: Presión pico; Distensibilidad dinámica (ml/cmH₂O): VT/Ppico-PEEP; PEEP: Presión positiva al final de la espiración; SatO₂: Saturación periférica de oxígeno

Animal 2. 2H60V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	372				
VT (ml)	2,20				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	289	287	294	297	292
Ppico (cmH ₂ O)	12,2	13,6	15	15	15
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,23	0,20	0,18	0,18	0,18
SatO ₂ (%)	95	100	99	100	100
Temperatura (°C)	37,1	37,1	37,1	37,0	37,2

Animal 3. 3H60V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	350				
VT (ml)	2,1				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	298	303	300	302	300
Ppico (cmH ₂ O)	12,2	13,6	15	16,3	15
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,22	0,19	0,17	0,15	0,17
SatO ₂ (%)	95	99	99	100	100
Temperatura (°C)	37,1	37,1	37,0	37,1	37,1

Animal 4. 4H60V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	360				
VT(ml)	2,20				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	287	288	296	295	295
Ppico (cmH ₂ O)	13,6	13,6	15	15	15
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,20	0,20	0,18	0,18	0,18
SatO ₂ (%)	96	100	100	100	100
Temperatura (°C)	37,2	37,0	37,1	37,2	37,2

Animal 5. 5H60V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	340				
VT (ml)	2,0				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	298	303	289	285	294
Ppico (cmH ₂ O)	12,2	13,6	15	15	16,3
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,21	0,18	0,16	0,16	0,15
SatO ₂ (%)	94	99	100	100	100
Temperatura (°C)	37,0	36,9	37,1	37,1	37,2

Animal 6. 6H60V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	345				
VT (ml)	2,1				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	284	292	295	287	295
Ppico (cmH ₂ O)	13,6	15	15	15	15
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,19	0,17	0,17	0,17	0,17
SatO ₂ (%)	95	100	100	100	100
Temperatura (°C)	37,1	36,9	37,1	37,0	37,2

Grupo FiO₂ 1**Animal 1. 1H100V**

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	345				
VT (ml)	2,1				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	292	285	306	295	294
Ppico (cmH ₂ O)	12,2	15	15	16,3	16,3
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,22	0,17	0,17	0,15	0,15
SatO ₂ (%)	95	99	100	100	100
Temperatura (°C)	37,0	37,1	37,1	37,2	37,2

VT: Volumen *tidal* o volumen corriente; Ppico: Presión pico; Distensibilidad dinámica (ml/cmH₂O): VT/Ppico-PEEP; PEEP: Presión positiva al final de la espiración; SatO₂: Saturación periférica de oxígeno

Animal 2. 2H100V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	355				
VT (ml)	2,1				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	278	289	287	294	292
Ppico (cmH ₂ O)	12,2	13,6	16,3	15	16,3
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,22	0,19	0,15	0,17	0,15
SatO ₂ (%)	96	100	98	100	99
Temperatura (°C)	37,1	36,9	37,1	37,0	37,2

Animal 3. 3H100V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	322				
VT (ml)	1,90				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	295	299	304	302	297
Ppico (cmH ₂ O)	12,2	13,6	16,3	16,3	16,3
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,20	0,17	0,14	0,14	0,14
SatO ₂ (%)	94	99	99	100	100
Temperatura (°C)	36,8	36,9	37,0	37,1	37,1

Animal 4. 4H100V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	360				
VT (ml)	2,20				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	289	285	292	280	298
Ppico (cmH ₂ O)	13,6	15	16,3	15	16,3
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,20	0,18	0,16	0,18	0,16
SatO ₂ (%)	96	100	97	98	100
Temperatura (°C)	37,1	37,2	37,2	37,1	37,2

Animal 5. 5H100V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	350				
VT (ml)	2,1				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	281	297	284	295	280
Ppico (cmH ₂ O)	12,2	13,6	16,3	16,3	16,3
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,22	0,19	0,15	0,15	0,15
SatO ₂ (%)	94	97	98	100	100
Temperatura (°C)	37,1	37,1	37,2	37,1	37,1

Animal 6. 6H100V

	BASAL	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.
Peso (gr)	360				
VT (ml)	2,20				
Frec. respiratoria	90				
Frec. cardiaca (lpm)	287	291	282	285	293
Ppico (cmH ₂ O)	12,2	15	16,3	16,3	16,3
PEEP	3				
Distensibilidad dinámica(ml/cmH ₂ O)	0,23	0,18	0,16	0,16	0,16
SatO ₂ (%)	96	100	100	98	99
Temperatura (°C)	37,1	37,2	37,2	37,2	37,2

ANEXO II. RESULTADOS DE LAS GASOMETRÍAS ARTERIALES

Grupo FiO₂ 0,21

	PaO ₂ (mmHg)	PaCO ₂ (mmHg)	pH	HCO ₃ ⁻ (mmol/L)
Animal 1. 1H21V	109	35	7,44	24
Animal 2. 2H21V	63	42	7,36	25
Animal 3. 3H21V	108	38	7,45	22
Animal 4. 4H21V	64	34	7,33	20
Animal 5. 5H21V	100	50	7,31	26
Animal 6. 6H21V	90	42	7,36	23

PaO₂: Presión parcial de oxígeno en sangre arterial; PaCO₂: presión parcial de dióxido de carbono en sangre arterial; HCO₃⁻: Bicarbonato

Grupo FiO₂ 0,4

	PaO ₂ (mmHg)	PaCO ₂ (mmHg)	pH	HCO ₃ ⁻ (mmol/L)
Animal 1. 1H40V	153	45	7,33	21
Animal 2. 2H40V	269	36	7,40	23
Animal 3. 3H40V	136	42	7,38	22
Animal 4. 4H40V	194	32	7,40	21
Animal 5. 5H40V	219	42	7,37	23
Animal 6. 6H40V	145	45	7,35	24

Grupo FiO₂ 0,6

	PaO ₂ (mmHg)	PaCO ₂ (mmHg)	pH	HCO ₃ ⁻ (mmol/L)
Animal 1. 1H60V	418	48	7,30	23
Animal 2. 2H60V	201	47	7,30	22
Animal 3. 3H60V	472	48	7,32	24
Animal 4. 4H60V	462	46	7,34	23
Animal 5. 5H60V	305	50	7,28	26
Animal 6. 6H60V	332	49	7,29	22

Grupo FiO₂ 1

	PaO ₂ mmHg)	PaCO ₂ (mmHg)	pH	HCO ₃ ⁻ (mmol/L)
Animal 1. 1H100V	445	48	7,25	22
Animal 2. 2H100V	434	53	7,24	25
Animal 3. 3H100V	431	46	7,32	27
Animal 4. 4H100V	419	55	7,25	23
Animal 5. 5H100V	488	47	7,30	23
Animal 6. 6H100V	453	50	7,27	22

ANEXO III. RELACIÓN PESO HÚMEDO/PESO SECO (ÍNDICE WET/DRY).

Animal	FiO ₂	Peso húmedo	Peso seco	Índice W/D
Animal 1. 1H21V	0,21	0,145	0,033	4,39
Animal 2. 2H21V	0,21	0,134	0,032	4,18
Animal 3. 3H21V	0,21	0,128	0,030	4,26
Animal 4. 4H21V	0,21	0,142	0,033	4,30
Animal 5. 5H21V	0,21	0,138	0,032	4,31
Animal 6. 6H21V	0,21	0,130	0,030	4,33
Animal 1. 1H40V	0,4	0,152	0,034	4,47
Animal 2. 2H40V	0,4	0,162	0,038	4,26
Animal 3. 3H40V	0,4	0,142	0,033	4,30
Animal 4. 4H40V	0,4	0,157	0,035	4,48
Animal 5. 5H40V	0,4	0,149	0,034	4,38
Animal 6. 6H40V	0,4	0,155	0,035	4,42
Animal 1. 1H60V	0,6	0,164	0,036	4,55
Animal 2. 2H60V	0,6	0,163	0,036	4,52
Animal 3. 3H60V	0,6	0,166	0,036	4,52
Animal 4. 4H60V	0,6	0,166	0,037	4,48
Animal 5. 5H60V	0,6	0,164	0,036	4,55
Animal 6. 6H60V	0,6	0,162	0,036	4,50
Animal 1. 1H100V	1	0,188	0,040	4,7
Animal 2. 2H100V	1	0,186	0,043	4,32
Animal 3. 3H100V	1	0,213	0,045	4,73
Animal 4. 4H100V	1	0,198	0,040	4,95
Animal 5. 5H100V	1	0,211	0,043	4,90
Animal 6. 6H100V	1	0,199	0,040	4,97

ANEXO IV. MARCADORES INFLAMATORIOS ESTUDIADOS

IL-10

	SUERO (pg/ml)	PULMÓN (pg/ml)
1H21V	286,76	282,47
2H21V	165,00	395,44
3H21V	64,63	271,31
4H21V	95,26	383,84
5H21V	241,68	302,15
6H21V	248,97	648,24
1H40V	55,03	247,02
2H40V	140,48	458,17
3H40V	286,76	324,71
4H40V	352,01	415,20
5H40V	346,34	239,12
6H40V	136,52	101,82
1H60V	47,27	280,12
2H60V	258,83	333,04
3H60V	442,33	304,91
4H60V	58,20	263,76
5H60V	19,57	99,03
6H60V	20,53	145,73
1H100V	36,74	188,51
2H100V	58,20	215,85
3H100V	232,09	483,65
4H100V	119,13	254,71
5H100V	106,10	107,742
6H100V	33,81	290,57

IL-6

	SUERO (pg/ml)	PULMÓN (pg/ml)
1H21V	<pc	17,60
2H21V	<pc	19,60
3H21V	<pc	14,60
4H21V	<pc	<pc
5H21V	<pc	<pc
6H21V	<pc	<pc
1H40V	<pc	<pc
2H40V	<pc	14,60
3H40V	<pc	29,60
4H40V	<pc	28,60
5H40V	<pc	<pc
6H40V	<pc	<pc
1H60V	<pc	24,60
2H60V	<pc	21,60
3H60V	<pc	18,60
4H60V	<pc	<pc
5H60V	<pc	<pc
6H60V	<pc	<pc
1H100V	<pc	<pc
2H100V	<pc	24,60
3H100V	<pc	20,60
4H100V	<pc	14,60
5H100V	<pc	<pc
6H100V	<pc	<pc

TNF- α

	SUERO (pg/ml)	PULMÓN (pg/ml)
1H21V	6,22	<pc
2H21V	13,92	<pc
3H21V	10,23	<pc
4H21V	8,13	<pc
5H21V	7,72	<pc
6H21V	7,26	<pc
1H40V	8,53	<pc
2H40V	18,14	70,53
3H40V	4,97	11,07
4H40V	9,15	22,01
5H40V	11,56	<pc
6H40V	4,96	<pc
1H60V	7,91	<pc
2H60V	9,75	<pc
3H60V	10,54	<pc
4H60V	6,40	<pc
5H60V	10,36	<pc
6H60V	4,94	<pc
1H100V	11,56	<pc
2H100V	9,53	17,48
3H100V	13,32	29,17
4H100V	10,75	153,99
5H100V	11,53	<pc
6H100V	7,74	<pc

ANEXO V. ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (ROS)

	ROS EN SUERO (nM)	ROS EN PULMÓN (nM/mg tejido)
1H21V	1871,06	1202117,40
2H21V	776,01	3261089,80
3H21V	6262,07	841186,01
4H21V	1871,06	2160888,96
5H21V	4065,48	Sin determinar
6H21V	1453,59	Sin determinar
1H40V	2863,36	2087822,57
2H40V	1088,57	1576157,44
3H40V	1088,57	1875547,58
4H40V	2340,98	2589102,99
5H40V	1453,59	Sin determinar
6H40V	4745,22	Sin determinar
1H60V	2863,36	1845437,28
2H60V	2340,98	2986571,41
3H60V	1871,06	2576176,57
4H60V	1871,06	901293,76
5H60V	1453,59	Sin determinar
6H60V	1453,59	Sin determinar
1H100V	2340,98	1385548,54
2H100V	21235,82	1350553,53
3H100V	3438,19	1886349,07
4H100V	2340,98	863109,92
5H100V	1088,57	Sin determinar
6H100V	1871,06	Sin determinar

**ANEXO VI. PUNTUACIÓN OBTENIDA EN EL ANÁLISIS DE LOS CAMBIOS
APRECIADOS EN LOS PARÁMETROS HISTOLÓGICOS EN LOS 20
CAMPOS ANALIZADOS**

Grupo FiO₂ 0,21

Animal 1. 1H21V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C	
SA	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	6	10	L
HA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	L
FI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	L
II	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1,67	L

SA: Septos alveolares; HA: Hemorragia alveolar; FI: Fibrina intraalveolar; II: Infiltrado intraalveolar; P: Puntuación total obtenida en los 20 campos estudiados; %: Porcentaje de afectación de cada parámetro histológico en los 20 campos estudiados; C: Categorización de los cambios observados; L: Cambios leves

Animal 2. 2H21V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	5	8,33	L
HA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	4	6,67	L
FI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1,67	L
II	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	3	5	L

Animal 3. 3H21V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	2	1	0	0	0	1	8	13,33	L
HA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	L
FI	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	3,33	L
II	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	8	13,33	L

Animal 4. 4H21V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1	6	10	L
HA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	L
FI	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	5	L
II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	L

Animal 5. 5H21V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	5	8,33	L
HA	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3,33	L
FI	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	4	6,67	L
II	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	5	8,33	L

Animal 6. 6H21V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	5	8,33	L
HA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1,67	L
FI	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	2	3,33	L
II	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1,67	L

Grupo FiO₂ 0,4**Animal 1. 1H40V**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	6	10	L
HA	3	2	3	3	2	2	1	2	3	3	2	2	1	0	1	1	0	1	3	0	35	58,33	M
FI	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	2	0	0	0	0	2	1	1	0	1	9	15	L
II	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	2	0	13	21,67	L

SA: Septos alveolares; HA: Hemorragia alveolar; FI: Fibrina intraalveolar; II: Infiltrado intraalveolar; P: Puntuación total obtenida en los 20 campos estudiados; %: Porcentaje de afectación de cada parámetro histológico en los 20 campos estudiados; C: Categorización de los cambios observados; L: Cambios leves; M: Cambios moderados

Animal 2. 2H40V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	2	3	2	0	0	10	16,67	L
HA	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	2	0	0	0	12	20	L
FI	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	0	0	11	18,33	L
II	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	2	0	1	0	0	3	3	0	1	1	14	23,33	L

Animal 3. 3H40V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	7	11,67	L
HA	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	9	15	L
FI	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	2	1	1	0	1	1	1	0	0	16	26,67	L
II	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	12	20	L

Animal 4. 4H40V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	2	0	0	0	0	0	1	1	0	11	18,33	L
HA	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	2	0	0	1	1	0	0	1	1	0	9	15	L
FI	0	0	0	0	0	1	2	0	1	1	2	0	0	0	1	0	0	1	2	0	11	18,33	L
II	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	10	16,67	L

Animal 5. 5H40V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	6	10	L
HA	1	1	2	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	10	16,67	L
FI	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	9	15	L
II	2	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	2	1	1	0	0	14	23,33	L

Animal 6. 6H40V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	2	1	1	0	2	0	2	2	1	14	23,33	L
HA	3	3	3	2	1	0	0	0	0	0	3	3	1	0	0	0	1	0	0	0	20	33,33	L
FI	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	1	0	0	1	1	0	8	13,33	L
II	1	2	1	0	1	0	0	0	0	1	2	1	1	0	0	1	1	1	1	1	15	25	L

Grupo FiO₂ 0,6**Animal 1. 1H60V**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	0	1	0	1	1	2	1	0	1	0	1	1	1	1	2	1	2	3	2	2	23	38,33	M
HA	1	2	0	3	3	2	2	1	3	1	2	2	1	1	2	3	3	3	2	2	39	65	M
FI	0	0	0	1	2	1	1	0	1	1	2	1	1	1	1	2	2	3	2	2	24	40	M
II	3	2	1	3	1	2	2	1	2	1	1	0	3	3	3	3	3	3	3	2	42	70	S

SA: Septos alveolares; HA: Hemorragia alveolar; FI: Fibrina intraalveolar; II: Infiltrado intraalveolar; P: Puntuación total obtenida en los 20 campos estudiados; %: Porcentaje de afectación de cada parámetro histológico en los 20 campos estudiados; C: Categorización de los cambios observados; L: Cambios leves; M: Cambios moderados; S: Cambios severos

Animal 2. 2H60V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	1	1	1	0	2	2	1	0	1	2	2	1	2	1	1	3	3	2	2	1	29	48,33	M
HA	3	2	2	1	2	1	1	1	1	1	2	1	2	2	2	2	2	2	1	1	32	53,33	M
FI	2	1	2	0	1	1	1	1	1	1	2	1	2	2	2	2	2	2	1	1	28	46,67	M
II	1	1	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1	2	1	2	2	2	1	1	1	26	43,33	M

Animal 3. 3H60V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	3	3	3	3	1	3	3	2	3	3	2	2	1	1	1	2	2	2	2	3	45	75	S
HA	1	0	1	2	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	2	1	14	23,33	L
FI	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	2	1	12	20	L
II	1	2	3	1	1	3	2	1	3	3	2	1	2	1	1	1	1	2	2	3	36	60	M

Animal 4. 4H60V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	0	1	1	1	1	2	1	1	1	1	2	1	2	2	3	3	3	1	1	2	30	50	M
HA	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	3	3	1	3	3	2	1	1	3	50	83,33	S
FI	1	1	1	1	2	2	2	3	2	1	2	2	1	1	1	2	1	1	1	1	29	48,33	M
II	2	3	2	1	2	2	2	2	1	1	2	3	2	3	2	3	1	0	1	2	37	61,67	M

Animal 5. 5H60V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	3	1	1	1	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	3	26	43,33	M
HA	3	1	2	1	1	2	2	2	1	3	3	3	3	3	3	2	2	1	1	3	42	70	S
FI	2	1	2	1	1	2	2	1	1	2	3	3	2	3	3	1	2	1	1	3	37	61,67	M
II	2	1	1	0	2	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	1	1	1	1	2	27	45	M

Animal 6. 6H60V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	2	1	2	1	3	2	1	2	1	2	3	3	1	1	1	1	1	1	1	3	33	55	M
HA	3	1	1	2	2	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	2	2	1	2	2	32	53,33	M
FI	1	1	1	2	1	1	1	1	1	2	2	2	0	1	0	1	2	1	1	2	24	40	M
II	1	1	2	1	1	0	1	2	2	2	2	2	1	1	1	1	2	1	2	2	28	46,67	M

Grupo FiO₂ 1**Animal 1. 1H100V**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	3	2	1	2	3	2	1	3	3	3	3	3	2	2	3	3	2	1	3	1	46	76,67	S
HA	2	2	1	2	2	2	2	2	2	3	3	3	2	3	3	3	2	1	3	2	45	75	S
FI	2	2	1	1	2	2	1	2	2	3	2	3	2	2	2	2	1	1	2	1	36	60	M
II	3	2	3	2	2	2	1	3	3	3	3	3	1	2	3	3	2	1	3	2	47	78,33	S

SA: Septos alveolares; HA: Hemorragia alveolar; FI: Fibrina intraalveolar; II: Infiltrado intraalveolar; P: Puntuación total obtenida en los 20 campos estudiados; %: Porcentaje de afectación de cada parámetro histológico en los 20 campos estudiados; C: Categorización de los cambios observados; M: Cambios moderados; S: Cambios severos

Animal 2. 2H100V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	1	2	2	2	2	1	2	2	2	1	1	2	2	1	1	3	2	1	2	2	34	56,67	M
HA	3	2	2	2	3	3	3	2	3	2	3	3	2	2	1	2	2	1	2	3	46	76,67	S
FI	1	1	2	2	2	2	2	1	2	1	1	1	1	2	1	2	1	1	1	2	29	48,33	M
II	1	2	2	1	1	2	2	1	2	1	3	2	1	3	3	3	1	1	2	2	36	60	M

Animal 3. 3H100V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	1	2	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	3	3	2	2	2	1	1	37	61,67	M
HA	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	1	57	95	S
FI	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	1	56	93,33	S
II	1	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	1	3	3	3	2	1	50	83,33	S

Animal 4. 4H100V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	2	2	2	1	2	2	1	3	2	2	2	3	3	2	2	2	1	2	2	2	40	66,67	M
HA	2	1	2	2	2	2	1	3	2	3	3	3	2	2	2	3	1	3	2	2	43	71,67	S
FI	2	0	1	1	2	2	1	2	1	2	2	3	1	1	1	2	1	2	1	1	29	48,33	M
II	2	1	1	1	1	1	1	3	2	3	2	2	1	1	2	1	3	3	1	1	34	56,67	M

Animal 5. 5H100V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	3	2	3	3	2	2	2	2	2	2	2	3	1	3	3	3	3	2	2	2	47	78,33	S
HA	3	2	2	3	2	2	3	2	2	3	3	2	2	2	3	3	3	2	2	3	49	81,67	S
FI	2	1	2	1	1	2	2	2	2	2	3	1	2	2	3	3	3	1	1	2	38	63,33	M
II	1	3	1	1	1	2	2	1	2	2	2	1	2	3	3	3	2	2	1	3	39	65	M

Animal 6. 6H100V

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	%	C
SA	2	3	2	3	3	3	3	3	3	3	1	2	3	3	3	1	1	3	3	3	51	85	S
HA	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	3	2	55	91,67	S
FI	2	2	2	3	3	3	2	2	3	3	2	3	3	2	3	2	2	2	2	2	48	80	S
II	2	2	2	2	3	3	2	2	2	2	2	2	2	3	3	1	2	2	3	2	44	73,33	S

**ANEXO VII. PUNTUACIÓN OBTENIDA EN EL ANÁLISIS DEL DESARROLLO
DE FIBROSIS PULMONAR EN LOS 20 CAMPOS ANALIZADOS**

Grupo FiO₂ 0,21

Animal 1. 1H21V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

P: Puntuación total obtenida en los 20 campos estudiados; ‰: tanto por mil de los cambios fibróticos observados.

Animal 2. 2H21V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	12,50

Animal 3. 3H21V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6,25

Animal 4. 4H21V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	6,25

Animal 5. 5H21V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	6,25

Animal 6. 6H21V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Grupo FiO₂ 0,40**Animal 1. 1H40V**

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	12,50

P: Puntuación total obtenida en los 20 campos estudiados; ‰: tanto por mil de los cambios fibróticos observados.

Animal 2. 2H40V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	12,50

Animal 3. 3H40V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2	12,50

Animal 4. 4H40V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	12,50

Animal 5. 5H40V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	12,50

Animal 6. 6H40V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6,25

Grupo FiO₂ 0,6**Animal 1. 1H60V**

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3	18,75

P: Puntuación total obtenida en los 20 campos estudiados; ‰: tanto por mil de los cambios fibróticos observados.

Animal 2. 2H60V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	4	25

Animal 3. 3H60V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	18,75

Animal 4. 4H60V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	18,75

Animal 5. 5H60V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	3	18,75

Animal 6. 6H60V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	12,50

Grupo FiO₂ 1**Animal 1. 1H100V**

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	4	25

P: Puntuación total obtenida en los 20 campos estudiados; ‰: tanto por mil de los cambios fibróticos observados.

Animal 2. 2H100V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	4	25

Animal 3. 3H100V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	4	25

Animal 4. 4H100V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	4	25

Animal 5. 5H100V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	4	25

Animal 6. 6H100V

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	P	‰
0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	4	25

12. BIBLIOGRAFÍA

Aboab J, Jonson B, Kouatchet A, Taille S, Niklason L, Brochard L. Effect of inspired oxygen fraction on alveolar derecruitment in acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med.* 2006; 32: 1979–86.

Acosta-Herrera M, Pino-Yanes M, Blanco J, Ballesteros JC, Ambrós A, Corrales A, et al. Common variants of *NFE2L2* gene predisposes to acute respiratory distress syndrome in patients with severe sepsis. *Crit Care.* 2015; Jun 16: 19; 256.

Albaiceta G. Curvas presión-volumen en la lesión pulmonar aguda. *Med Intensiva.* 2009; 33(5): 243-50.

Albert R. The Role of Ventilation-induced Surfactant Dysfunction and Atelectasis in Causing Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012; 185(7): 702–8.

Amato MB, Barbas CS, Medeiros DM, Magaldi RB, Schettino GP, Lorenzi-Filho G, et al. Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 1998; 338(6): 347-54.

Amato MB, Barbas CS, Medeiros DM, Schettino GP, Lorenzi FG, Kairalla RA, et al. Beneficial effects of the “open lung approach” with low distending pressures in acute respiratory distress syndrome. A prospective randomized study on mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995; 152: 1835-46.

ARDS Definition Task Force. Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, et al. Acute Respiratory Distress Syndrome. The Berlin Definition. *JAMA.* 2012; 307(23): 2526-33.

Argiras EP, Blakeley CR, Dunnill MS, Otremski S, Sykes MK. High PEEP decreases hyaline membrane formation in surfactant deficient lungs. *Br J Anaesth.* 1987; 59: 1278-85.

Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE. Acute respiratory distress in adults. *Lancet.* 1967; 2: 319-23.

Ashcroft T, Simpson JM, Timbrelli V. Simple method of estimating severity of pulmonary fibrosis on a numerical scale. *J Clin Pathol.* 1988; 41: 467-70.

- Barazzonne C**, Horowitz S, Donati YR, Rodríguez I, Piguet PF. Oxygen toxicity in mouse lung: pathways to cell death. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1998; 19: 573-81.
- Barber RE**, Hamilton WK. Oxygen toxicity in man. A prospective study in patients with irreversible brain damage. *N Engl J Med.* 1970; 283(27): 1478-84.
- Barkauskas CE**, Cronce MJ, Rackley CR, Bowie EJ, Keene DR, Stripp BR, et al. Type 2 alveolar cells are stem cells in adult lung. *J Clin Invest.* 2013; 123(7): 3025-36.
- Ben-Ari J**, Makhoul IR, Dorio RJ, Buckley S, Warburton D, Walker S. Cytokine response during hiperoxia: sequential production of pulmonary tumor necrosis factor and interleukin-6 in neonatal rats. *Isr Med Assoc J.* 2000; 2(5): 365-9.
- Bendixen HH**, Hedley-Whyte J, Layer MB. Impaired oxygenation in surgical patients during general anesthesia with controlled ventilation. A concept of atelectasis. *N Engl J Med.* 1963; 266: 991-96.
- Bernard GR**, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, et al. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994; 149(3Pt1): 818-24.
- Berthelsen PG**, Cronqvist M. The first intensive care unit in the world: Copenhagen 1953. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2003; 47: 1190-95.
- Bertoncello I**, McQualter JL. Lung stem cells: Do they exist? *Respirology.* 2013; 18: 587-95.
- Bhandari V**. Development differences in the role of interleukins in hyperoxic lung injury in animal models. *Front Biosci.* 2002; 7: 1624-33.
- Bhandari V**, Elias JA. Cytokines in tolerance to hiperoxia-induced injury in the developing and adult lung. *Free Radic Biol Med.* 2006; 41(1): 4-18.
- Bishop AE**. Pulmonar epithelial stem cells. 2004; 37(1): 89-96.
- Boissier F**, Katsahian S, Razazi K, Thille AW, Roche-Campo F, Leon R, et al. Prevalence and prognosis of cor pulmonale during protective ventilation for acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med.* 2013; 39: 1725–33.

Bouadma L, Dreyfuss D, Ricard JD, Martet G, Saumon G. Mechanical ventilation and hemorrhagic shock-resuscitation interact to increase inflammatory cytokine release in rats. *Crit Care Med.* 2007; 35: 2601-06.

Boussarsar M, Thierry G, Jaber S, Roudot-Thovaryl F, Lemaire F, Brochard F. Relationship between ventilatory settings and barotrauma in the acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med.* 2002; 28: 406-13.

Briel M, Meade M, Mercat A, Brower RG, Talmor D, Walter SD, et al. Higher vs lower positive end-expiratory pressure in patients with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2010. 303: 865-73.

Brower RG, Lanken PN, MacIntyre N, Matthay MA, Morris A, Ancukiewicz M, et al. Higher versus lower positive end-expiratory pressures in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2004; 351(4): 327-36.

Cabrera-Benítez NE, Parotto M, Post M, Spieth PM, Cheng WE, Valladares F, et al. Mechanical stress induces lung fibrosis by epithelial-mesenchymal transition. *Crit Care Med* 2012; 40(2):510-17.

Carlton DP, Cummings JJ, Scheerer RG, Poulain FR, Bland RD. Lung overexpansion increases pulmonary microvascular protein permeability in young lambs. *J Appl Physiol.* 1990; 69: 577-83.

Chapman KE, Sinclair SE, Zhuang D, Hassid A, Desai LP, Waters CM. Cyclic mechanical strain increases reactive oxygen species production in pulmonary epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2005; 289: 834-41.

Cho HY, Jedlicka AE, Reddy SP, Kensler TW, Yamamoto M, Zhang Ly, Kleeberger SR. Role of NRF2 in protection against hypoxic lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2002; 26(2): 175-82.

Cho HY, Reddy SP, Kleeberger SR. Nrf2 defends the lung from oxidative stress. *Antioxid Redox Signal.* 2006; 8:76-87.

Chollet-Martin S, Jourdain B, Gilbert C, Elbim C, Chastre J, Gougerot-Pocidaló MA. Interaction between neutrophils and cytokines in blood and alveolar spaces during ARDS. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996; 153: 594-601.

Colmenero-Ruiz M, Fernández-Modejar R, Fernández-Sacristán MA, Rivera-Fernández R, Vázquez-Mata G. PEEP and low tidal volume ventilation reduce lung water in porcine pulmonary edema. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997; 155: 964-70.

Contreras M, Ansari B, Curley G, Higgins BD, Hassett P, O'Toole D, et al. Hypercapnic acidosis attenuates ventilation-induced lung injury by a nuclear factor-kappaB-dependent mechanism. *Crit Care Med*. 2012; 40: 2622–30.

Copetti R, Soldati G, Copetti P. Chest sonography: a useful tool to differentiate acute cardiogenic pulmonary edema from acute respiratory distress syndrome. *Cardiovascular Ultrasound*. 2008; 6:16.

Crapo JD, Barry BE, Foscue HA, Shelburne J. Structural and biochemical changes in rat lungs occurring during exposures to lethal and adaptative doses of oxygen. *Am Rev Respir Dis*. 1980; 122(1): 123-43.

Dalle-Donne I, Rossi R, Milzani A, Simplicio P. Di, Colombo R. The actin cytoskeleton response to oxidants: from small heat shock protein phosphorylation to changes in the redox state of actin itself. *Free Radic Biol Med*: 2001; 31: 1624-32.

Davis JE, Stembach GL, Varon J, Froman RE. Paracelsus and mechanical ventilation. *Resuscitation*. 2000; 47(1): 3-5.

Deneke SM, Fanburg BL. Normobaric oxygen toxicity of the lung. *N Engl J Med*. 1980; 303(2): 76-86.

Dinker P, Shaw L. An apparatus for the prolonged administration of artificial respiration. *J Clin Invest*. 1928; 92: 229-47.

Dreyfuss D, Saumon G. Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 157: 294–323.

- Dreyfuss D**, Soler P, Saumon G. Mechanical ventilation-induced pulmonary edema. Interaction with previous lung alterations. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995; 151: 1568-75.
- Eklund L**, Saharinen P. Angiotensin signalling in the vasculature. *Exp Cell Res*. 2013; 319(9): 1271-80.
- Elliot CG**, Rasmussen BY, Crapo RO, Morris AH, Jensen RL. Prediction of pulmonary function abnormalities after adult respiratory distress syndrome (ARDS). *Am Rev Respir Dis*. 1987; 135(3): 634-38.
- Fellahi JL**, Valtier B, Beauchet A, Bourdarias JP, Jardin F. Does positive end-expiratory pressure ventilation improve left ventricular function? A comparative study by transesophageal echocardiography in cardiac and noncardiac patients. *Chest*. 1998; 114(2): 556-62.
- Ferrando C**, Soro M, Belda FJ. Protection strategies during cardiopulmonary bypass: ventilation, anesthetics and oxygen. *Curr Opin Anesthesiol*. 2015; 28: 73-80.
- Forel JM**, Roch A, Marin V, Michelet P, Demory D, Blache JL, et al. Neuromuscular blocking agents decrease inflammatory response presenting with respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*. 2006; 34: 2749-57.
- Fothergill J**. Observations on a case published in the last volume of the medical essays. Recovering a man dead in appearance, by distending the lungs with air. *Phil Trans R Soc Med*. 1744–1745; 43: 275–81.
- Futier E**, Constantin JM, Paugam-Burtz C, Pascal J, Eurin M, Neuschwander A, et al. A trial of intraoperative low tidal-volume ventilation in abdominal surgery. *N Engl J Med*. 2013; 369: 428–37.
- Gajic O**, Dara SI, Mendez JL, Adesanya A, Festic E, Caples SM, et al. Ventilator-associated lung injury in patients without acute lung injury at the onset of mechanical ventilation. *Crit Care Med*. 2004; 32: 1817–24.

Gajic O, Frutos-Vivar F, Esteban A, Hubmayr RD, Anzueto A. Ventilator settings as a risk factor for acute respiratory distress syndrome in mechanically ventilated patients. *Intensive Care Med.* 2005; 31(7): 922-6.

Gao S, Guan S, Li H, Su A, Wang Y. Ameliorating effects of low tidal volume ventilation with associated hypercapnia on pneumoperitoneum-induced lung injury by inhibition of Toll-like receptor 4. *Int J Clin Exp Med.* 2015; 8(2): 1814-23.

Gattinoni L, Pesenti A, Avalli L, Rossi F, Bombino M. Pressure-volume curve of total respiratory system in acute respiratory failure. Computed tomographic scan study. *Am Rev Respir Dis.* 1987; 136(3): 730-6.

Gilbert-Kawai ET, Mitchell K, Martin D, Carlisle J, Grocott MP. Permissive hypoxaemia versus normoxaemia for mechanically ventilated critically ill patients. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014; May 7:5:CD009931.

Goerig M, Filos K, Renz D. Joseph O'Dwyer. A pioneer in endotracheal intubation and pressure respiration. *Anasth Intensivther Notfallmed.* 1988; Oct.23(5): 244-51.

Graaff AE. de, Dongelmans DA, Binnekade JM, Jonge E. de. Clinicians' response to hyperoxia in ventilated in a Dutch ICU depends on the level of FiO₂. *Intensive Care Med.* 2011; Jan; 37(1): 46-51.

Güldner A, Kiss T, Serpa Neto A, Hemmes S, Canet J, Spieth PM, et al. Intraoperative Protective Mechanical Ventilation for Prevention of Postoperative Pulmonary Complications: A Comprehensive Review of the Role of Tidal Volume, Positive End-expiratory Pressure, and Lung Recruitment Maneuvers. *Anesthesiology.* 2015; 123(3): 692-713.

Halbertsma FJ, Vaneker M, Scheffer GJ, Hoeven JG. van der. Cytokines and biotrauma in ventilator-induced lung injury: a critical review of the literature. *Neth J Med.* 2005; 63: 382-92.

Hatchkiss JR, Blanch L, Murias G. Effects of decreased respiratory frequency on ventilator-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 161: 463-68.

Hedenstierna G. Pulmonary perfusion during anesthesia and mechanical ventilation. *Minerva Anesthesiol.* 2005; 71(6): 319-24.

Hedenstierna G, Rothen HU. Atelectasis formation during anesthesia: causes and measures to prevent it. *J Clin Monit Comput.* 2000; 16(5-6): 329-35.

Held HD, Boettcher S, Hamann L, Uhlig S. Ventilator-induced chemokine and cytokine release is associated with activation of nuclear factor-kappaB and is blocked by steroids. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 163: 711-16.

Helmerhorst H, Schultz MJ, Voort P. van der, Bosman R, Juffermans N, Jonge E. de, et al. Self-reported attitudes versus actual practice of oxygen therapy by ICU physicians and nurses. *Annals of Intensive Care.* 2014; 4: 23.

Hernandez LA, Peevy KJ, Moise AA, Parker JC. Chest wall restriction limits high airway pressure-induced lung injury in young rabbits. *J Appl Physiol.* 1989; 66: 2364-8.

Herrera MA, Toledo C, Valladares F, Muros M, Díaz-Flores L, et al. Positive end expiratory pressure modulates local and systemic inflammatory responses in a sepsis induced lung injury model. *Intensive Care Medicine.* 2003; 29(8): 1345-53.

Hickling KG, Henderson SJ, Jackson R. Low mortality associated with low volume pressure limited ventilation with permissive hypercapnia in severe adult respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med.* 1990; 16: 372-77.

Hooke R. An account of an experiment made by M. Hooke, of preserving animals alive by blowing through their lungs with bellows. *Philos Trans R Soc Lond.* 1667; (2): 539-40.

Hovaquimian F, Lysakowski C, Elia N, Tramèr MR. Effect of intra-operative high inspired oxygen fraction on surgical site infection, postoperative nausea and vomiting, and pulmonary function: systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Anesthesiology.* 2013; 119: 303-16.

Hubmayr RD. Perspective on lung injury and recruitment: a skeptical look at the opening and collapse story. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002; 165(12): 1647-53.

Hübner RH, Gitter W, El Mokhtari NE, Mathiak M, Both M, Bolte H, et al. Standardized quantification of pulmonary fibrosis in histological samples. *BioTechniques*. 2008; 44: 507-17.

Huynh T, Messer M, Sing RF, Miles W, Jacobs DG, Thomason MH. Positive end expiratory pressure alters intracranial and cerebral perfusion pressure in severe traumatic brain injury. *J Trauma*. 2002; 53(3): 488-92.

Ibsen B. The Anaesthetist's Viewpoint on the Treatment of Respiratory Complications in Poliomyelitis During the Epidemic in Copenhagen, 1952. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*. 1954: 72-4.

Ichikado K, Muranaka H, Gushima Y, Kotani T, Nader HM, Fujimoto K, et al. Fibroproliferative changes on high-resolution CT in the acute respiratory distress syndrome predict mortality and ventilator dependency: a prospective observational cohort study. *BMJ Open*. 2012; 2: e000545.

Jaber S, Coisel Y, Marret E, Malinovsky JM, Bouaziz H. Ventilatory Management during General Anesthesia: A Multicenter Observational Study. *Anesthesiology*. 2006; A1516.

Jonge E. de, Peelen L, Keijzers PJ, Joore H, Lange D. de, Voort P. van der, et al. Association between administered oxygen, arterial partial oxygen pressure and mortality in mechanically ventilated intensive care unit patients. *Crit Care*. 2008; 12(6): R156.

Jozwiak M, Silva S, Persichini R, Anguel N, Osman D, Richard C, et al. Extravascular lung water is an independent prognostic factor in patients with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*. 2013; 41(2): 472-80.

Kallet R, Matthay MA. Hyperoxic acute lung injury. *Respiratory Care*. 2013; Vol 58(1): 123-41.

Kalluri R, Neilson EG. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J Clin Invest* 2003; 112: 1776-84.

Kapetanakis T, Siempos II, Metaxas EI, Kopterides P, Agrogiannis G, Lazaris AC, et al. Metabolic acidosis may be as protective as hypercapnic acidosis in an ex-vivo model of severe ventilator induced lung injury: a pilot study. *BMC Anesthesiol* 2011; 11: 8.

Kato A, Okura T, Hamada C, Miyoshi, Katayama H, Higaki J, et al. Cell stress induces upregulation of osteopontin via the ERK pathway in type II alveolar epithelial cells. *PLoS One*. 2014; Jun25; 9(6): e100106.

Katzenstein AL, Bloor CM, Leibow AA. Diffuse alveolar damage. The role of oxygen, shock, and related factors. A review. *Am J Pathol*. 1976; 85: 209-28.

Kawano T, Mori S, Cybulsky M. Effect of granulocyte depletion in a ventilated surfactant-depleted lung. *J Appl Physiol*. 1985; 62: 27-33.

Kierszenbaum A, Tres LL. *Histología y biología celular. Introducción a la anatomía patológica*. Tercera edición. Ed: Elsevier; 2012. P. 396.

Kilgannon JH, Jones AE, Shapiro NI, Angelos MG, Milcarek B, Hunter K, et al. Association between arterial hyperoxia following resuscitation from cardiac arrest and in-hospital mortality. *JAMA*. 2010; Jun 2; 303(21): 2165-71.

Kitamura Y, Hashimoto S, Mizuta N, Kobayashi A, Kooguchi K, Fujiwara I, et al. Fas/FasL-dependent Apoptosis of Alveolar Cells after Lipopolysaccharide-induced Lung Injury in Mice. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 163(3): 762-69.

Kolobow T, Moretti MP, Fumagalli R, Mascheroni D, Prato P, Chen V, et al. Severe impairment in lung function induced by high peak airway pressure during mechanical ventilation. *Am Rev Respir Dis*. 1987; 135: 312-15.

Kotani N, Takahashi S, Sessler DI, Hashiba E, Kubota T, Hashimoto H, et al. Volatile anesthetics augment expression of proinflammatory cytokines in rat alveolar macrophages during mechanical ventilation. *Anesthesiology* 1999; 91: 187–97.

Kuiper JW, Plötz FB, Groeneveld J, Haitsma JJ, Jothy S, Vaschetto RR, et al. High tidal volumen mechanical ventilation-induced lung injury in rats is greater after acid instillation than after sepsis-induced acute lung injury, but does not increase systemic inflammation: an experimental study. *BMC Anesthesiology*. 2011; 11: 26.

Kuiper JW, Versteilen AM, Niessen HW, Vaschetto RR, Sipkema P, Heijnen CJ, et al. Production of endothelin-1 and reduced blood flow in the rat kidney during lung injurious mechanical ventilation. *Anesth Analg*. 2008; 107(4): 1276-83.

Lassen HC. The Epidemic of Poliomyelitis in Copenhagen, 1952. Proceedings of the Royal Society of Medicine. 1953; Vol. 47: 67-71.

Leblanc D, Bouvet C, Degiovanni F, Nedelcu C, Bouhours G, Rineau E, et al. Early lung ultrasonography predicts the occurrence of acute respiratory distress syndrome in blunt trauma patients. Intensive Care Med. 2014; 40(10): 1468-74.

Lee PJ, Choi AM. Pathways of cell signalling in hiperoxia. Free Radic Biol Med. 2003; 35: 341-50.

Lee W, Slutsky AS. Ventilator-Induced Lung Injury and Recommendations for Mechanical Ventilation of Patients with ARDS. Semin Respir Crit Care Med. 2001; 22(3): 269-80.

Lellouche F, Lipes J. Prophylactic protective ventilation: lower tidal volumes for all critically ill patients?. Intensive Care Med. 2013; 39: 6-15.

LeTourneau JL, Pinney J, Phillips CR. Extravascular lung water predicts progression to acute lung injury in patients with increased risk. Crit Care Med. 2012; 40: 847-54.

Li LF, Liao SK, Lee CH, Quinn DA. Hyperoxia increases ventilator-induced lung injury by mitogen-activated protein kinases: a prospective, controlled animal experiment. Crit Care. 2007; 11(1): R25.

Lichtwarck-Aschoff M, Mols G, Hedlund AJ, Kessler V, Markström AM, Guttmann J, et al. Compliance is nonlinear over VT irrespective of PEEP level in surfactant-depleted piglets. Am J Respir Crit Care Med. 2000; 162: 2125-33.

Liu QP, Zhou DX, Sun L, Ling L, Wu CG, Lin SP, Han S. Bone marrow mesenchymal stem cells ameliorates seawater-exposure-induced acute lung injury by inhibition autophagy in lung tissue. Patholog Res Int. 2014; 2014: 104962.

Liu YY, Chiang CH, Chuang CH, Liu SL, Jheng YH, Ryu JH. Spillover of cytokines and reactive oxygen species in ventilator-induced lung injury associated with inflammation and apoptosis in distal organs. Respir Care. 2014; 59(9): 1422-32.

Llorens J, Belda FJ, Martí F. Mecánica del aparato respiratorio. En: Belda FJ, Llorens J, eds. Ventilación mecánica en anestesia. Madrid: Arán Ediciones; 1999. P. 27-34.

Lucangelo U, Zin WA, Antonaglia V, Petrucci L, Viviani M, Buscema G, et al. Effect of positive pressure and type of tracheal cuff on the incidence of aspiration in mechanically ventilated patients in an intensive care unit. *Crit Care Med.* 2008; 36: 409-13.

MacCarrick MJ, Torbati D, Kimura D, Raszynski A, Zeng W, Totapally BR. Does hypercapnia ameliorate hyperoxia-induced lung injury in neonatal rats?. *Lung.* 2010; 188: 235–40.

McQualter JL, Bertoncello I. Concise review: deconstructing the lung to reveal its potential. *Stem Cells.* 2012; 30: 811-16.

Manzano F, Fernández-Modéjar E, Colmenero M, Poyatos ME, Rivera R, Machado J, et al. Positive-end expiratory pressure reduces incidence of ventilator-associated pneumonia in nonhypoxemic patients. *Crit Care Med.* 2008; 36: 2225-31.

Mao C, Wong DT, Slutsky AS, Kavanagh BP. A quantitative assessment of how Canadian intensivists believe they utilize oxygen in the intensive care unit. *Crit Care Med.* 1999; 27: 2806–11.

Marini J, Gattinoni L. Ventilatory management of acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 2004; 32: 250-55.

Martin DS, Grocott MP. Oxygen therapy in critical illness: precise control of arterial oxygenation and permissive hypoxemia. *Crit Care Med.* 2013; 41(2): 423-32.

Martin TR, Pistorese BP, Chi EY, Goodman RB, Matthay MA. Effects of leukotriene B4 in the human lung. Recruitment of neutrophils into the alveolar spaces without a change in protein permeability. *J Clin Invest.* 1989; 84(5): 1609-19.

Matamis D, Lemaire F, Harf A, Brun-Buisson C, Ansquer JC, Atlan G. Total respiratory pressure-volume curves in the adult respiratory distress syndrome. *Chest.* 1984; 86: 58-66.

Matas R. Artificial respiration by direct intralaryngeal intubation with a new graduated air-pump its application to medical and surgical practice. *Am Med.* 1902; 3: 97-102.

Matsushita H, Lee Kh K, Tsao PS. Cyclic strain induces reactive oxygen species production via an endothelial NAD(P)H oxidase. *J Cell Biochem.* 2001; 81: 99–106.

Matsuyama H, Amaya, F, Hashimoto S, Ueno H, Beppu S, Mizuta M, et al. Acute lung inflammation and ventilator-induced lung injury caused by ATP via the P2Y receptors: an experimental study. *Respiratory Research*. 2008; **9**: 79.

Matute-Bello G, Downey G, Moore BB, Groshong SD, Matthay MA, Slutsky AS, et al. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animal. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2011; **44**: 725-38.

Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2008; **295**: 379–99.

Matute-Bello G, Frevert CW, Kajikawa O, Skerret SJ, Goodman RB, Park D, et al. Septic shock and acute lung injury in rabbit with peritonitis. Failure in the neutrophil response to localized infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; **163**: 234-43.

Mead J, Takishima T, Leith D. Stress distribution in lungs: a model of pulmonary elasticity. *J Appl Physiol*. 1970; **28**: 596-608.

Meade MO, Cook DJ, Guyatt GH, Slutsky AS, Arabi YM, Cooper DJ, et al. Ventilation strategy using low tidal volumes, recruitment maneuvers, and high positive end-expiratory pressure for acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2008; **299**: 637-45.

Meduri GU, Headley S, Kohler G, Stentz F, Tolley E, Umberger R, et al. Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS. *Chest*. 1995; **107**: 1062-73.

Mercat A, Richard JC, Vielle B, Jaber S, Osman D, Diehl JL, et al. Positive end-expiratory pressure setting in adults with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2008; **299**: 646-55.

Moriondo A, Pelosi P, Passi A, Viola M, Marcozzi C, Severgnini P, et al. Proteoglycan fragmentation and respiratory mechanics in mechanically ventilated healthy rats. *J Appl Physiol* (1985) 2007; **103**: 747–56.

- Muench E**, Bauhuf C, Roth H, Horn P, Phillips M, Marquetant N, et al. Effects of positive end-expiratory pressure on regional cerebral blood flow, intracranial pressure, and brain tissue oxygenation. *Crit Care Med.* 2005; 33(10): 2367-72.
- Murray JF**, Matthay MA, Luce JM, Flick MR. An expanded definition of the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis.* 1988; 138: 720-23.
- Narasaraju TA**, Chen H, Weng T, Bhaskaran M, Jin N, Chen J, et al. *J Cell Biochem.* 2006; 97(5): 984-98.
- Nash G**, Blennerhassett JB, Pontoppidan H. Pulmonary lesions associated with oxygen therapy and artificial ventilation. *N Engl J Med.* 1967; 276(7): 368-74.
- Nash G**, Bowen JA, Langlinais PC. Respirator lung: a misnomer. *Arch. Path.* 1971; 21: 234-40.
- Nava S**, Rubini F. Lung chest wall mechanics in ventilated patients with end stage idiopathic pulmonary fibrosis. *Thorax.* 1999; 54: 390-95.
- Ngiam N**, Kavanagh BP. Ventilator-induced lung injury: the role of gene activation. *Curr Opin Crit Care.* 2012; 18: 16-22.
- Nichol AD**, O’Cronin DF, Naughton F, Hopkins N, Boylan J, McLoughlin P. Hypercapnic acidosis reduces oxidative reactions in endotoxin-induced Lung Injury. *Anesthesiology.* 2010; 113: 116-25.
- O’Driscoll BR**, Howard LS, Davison AG. BTS guideline for emergency oxygen use in adult patients. *Thorax.* 2008; 63(Suppl 6): vi1-68.
- O’Reilly PJ**, Hickman-Davis JM, Davis IC, Matalon S. Hyperoxia impairs antibacterial function of macrophages through effects on actin. 2003; 28(4): 443-50.
- Orfanos SE**, Mavrommati I, Korovesi I, Roussos C. Pulmonary endothelium in acute lung injury: from basic science to the critically ill. *Intensive Care Med.* 2004; 30: 1702-14.
- Papazian L**, Doddoli C, Chetaille B, Gemez Y, Thirion X, Roch A, et al. A contributive result of open-lung biopsy improves survival in ARDS patients. *Crit Care Med.* 2007; 35: 755-62.

Papazian L, Forel JM, Gacouin A, Penot-Ragon C, Perrin G, Londou A, et al. Neuromuscular blockers in early acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2010; 363: 1107-16.

Parambil JG, Myers JL, Aubry MC, Ryu JH. Causes and prognosis of DAD diagnosed on lung biopsy. *Chest*. 2007; 132: 50.

Parsons PE, Eisner MD, Thompson BT, Matthay MA, Aucukiewicz M, Bernard GR. Lower tidal volume ventilation and plasma cytokine markers of inflammation in patients with acute lung injury. *Crit Care Med*. 2005; 33: 1-6.

Pecchiari M, Monaco A, Koutsoukou A, Della Valle P, Gentile G, D'Angelo E. Effects of Various Modes of Mechanical Ventilation in Normal Rats. *Anesthesiology*. 2014; 120: 943-50.

Pelosi P, Barassi A, Severgnini P, Gomiero B, Finazzi S, Merlini G, et al. Prognostic role of clinical and laboratory criteria to identify early ventilator associated pneumonia in brain injury. *Chest*. 2008; 134: 101–8.

Petrucci N, Feo C. De. Lung protective ventilation strategy for the acute respiratory distress syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013; 2: CD003844.

Plötz FB, Slutsky AS, Vught AJ. van, Haijnen CJ. Ventilator induced lung injury and multiple organ failure: a critical review of facts and hypotheses. *Intensive Care Med*. 2004; 30: 1865-72.

Prella M, Feihl F, Domenighetti G. Effects of short-term pressure-controlled ventilation on gas exchange, airway pressures, and gas distribution in patients with acute lung injury/ARDS: comparison with volume-controlled ventilation. *Chest*. 2002; 122: 1382-88.

PROVHILO trial. Prove Network Investigators for the Clinical Trial Network of the European Society of Anaesthesiology. Hemmes SN, Gama de Abreu M, Pelosi P, Schultz MJ. High versus low positive end-expiratory pressure during general anaesthesia for open abdominal surgery: a multicentre randomised controlled trial. *Lancet*. 2014; Aug 9; 384(9942): 495-503.

- Pugin J**, Dunn I, Jolliet P, Tassaux D, Magnenat JL, Nicod L, et al. Activation of human macrophages by mechanical ventilation in vitro. *Am J Physiol*. 1998; 275: 1040-50.
- Puneet P**, Moochhala S, Bhatia M. Chemokines in acute respiratory distress syndrome. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2005; 288: 3-15.
- Putensen C**, Theuerkauf N, Zinserling J, Wrigge H, Pelosi P. Meta-analysis: ventilation strategies and outcomes of the acute respiratory distress syndrome and acute lung injury. *Ann Intern Med*. 2009; 151: 566–76.
- Qin X**, Fu W, Zhao Y, Meng Q, You C, Yu Q. Ultrastructural study of alveolar epithelial type II cells by high-frequency oscillatory ventilation. *Biomed Res Int*. 2013; 2013: 240659.
- Ramos Gómez LA**, Benito Vales S. Modos de soporte ventilatorio. En: Ramos Gómez LA, Benito Vales S, eds. *Fundamentos de la ventilación mecánica*. Barcelona: Marge Médica Books; 2012. P. 83-85.
- Ranieri VM**, Suter PM, Tirtorella C, Tullio R, Dayer JM, Brienza A, et al. Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in patients with acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA*. 1999; 282: 54-61.
- Rawlins EL**, Hogan BL. Epithelial stem cells of the lungs: privileged few or opportunities for many? *Development*. 2006; 133: 2455-65.
- Reiss LK**, Kowallik A, Uhlig S. Recurrent recruitment manoeuvres improve lung mechanics and minimize lung injury during mechanical ventilation of healthy mice. *PLoS One*. 2011; 6:e24527.
- Repešé X**, Charron C, Vieillard-Baron A. Acute cor pulmonale in ARDS: rationale for protecting the right ventricle. *Chest*. 2015; 147(1): 259-65.
- Ricard JD**, Dreyfuss D, Saumon G. Production of inflammatory cytokines in ventilator-induced lung injury: a reappraisal. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 163: 1176-80.
- Rimensberger PC**. Neonatal respiratory failure. *Curr Opin Pediatr*. 2002; 14(3): 315-21.
- Roan E**, Waters CM. What do we know about mechanical strain in lung alveoli?. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2011; 301: 625–35.

- Roan E**, Wilhelm K, Bada A, Makena PS, Gorantla VK, Sinclair SE, et al. Hyperoxia alters the mechanical properties of alveolar epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2012; 302(12): 1235-41.
- Rodríguez-González R**, Martín-Barrasa JL, Ramos-Nuez A, Cañas-Pedrosa AM, Martínez-Saavedra MT, García-Bello MA, et al. Multiple system organ response induced by hiperoxia in a clinically relevant animal model of sepsis. *Shock*. 2014; 42(2): 144-53.
- Rønning OM**, Guldvog B. Should stroke victims routinely receive supplemental oxygen? A quasi-randomized controlled trial. *Stroke*. 1999; 30: 2033–37.
- Rothen HU**, Sporre B, Engberg G, Wegenius G, Reber A, Hedenstierna G. Prevention of atelectasis during general anaesthesia. *Lancet*. 1995; 345(8962): 1387-91.
- Rushworth SA**, Shah S, MacEwan DJ. TNF mediates the sustained activation of Nrf2 in human monocytes. *J Immunol*. 2011; 187(2); 702-07.
- Saugstad OD**, Ramji S, Vento M. Oxygen for newborn resuscitation:how much is enough?. *Pediatrics*. 2006; 118: 789-92.
- Schietroma M**, Cecilia EM, Sista F, Carlei F, Pessia B, Amicucci G. High-concentration supplemental perioperative oxygen and surgical site infection following elective colorectal surgery for rectal cancer: a prospective, randomized, double-blind, controlled, single-site trial. *Am J Surg*. 2014; 208(5): 719-26.
- Serpa Neto A**, Cardoso SO, Manetta JA, Pereira VG, Espósito BC, Pasqualucci Mde O, et al. Association between use of lung-protective ventilation with lower tidal volumes and clinical outcomes among patients without acute respiratory distress syndrome: a meta-analysis. *JAMA*. 2012; 308: 1651–59.
- Severgnini P**, Selmo G, Lanza C, Chiesa A, Frigerio A, Bacuzzi A, et al. Protective mechanical ventilation during general anesthesia for open abdominal surgery improves postoperative pulmonary function. *Anesthesiology*. 2013; 118: 1307–21.
- Sevitt S**. Diffuse and focal oxygen pneumonitis. A preliminary report on the threshold of pulmonary oxygen toxicity in man. *J Clin Pathol*. 1974; 27(1); 21-30.

Shander A, Fleisher LA, Barie PS, Bigatello LM, Sladen RN, Watson CB. Clinical and economic burden of postoperative pulmonary complications: patient safety summit on definition, risk-reducing interventions, and preventive strategies. *Crit Care Med.* 2011; 39: 2163–72.

Sibilla S, Tredici S, Porro GA, Irace M, Guglielmi M, Nicolini G et al. Equal increases in respiratory system elastance reflect similar lung damage in experimental ventilator-induced lung injury. *Intensive Care Med.* 2002; 28: 196-203.

Simonis FD, Binnekade JM, Braber A, Gelissen HP, Heidt J, Horn J, et al. PRevent-protective ventilation in patients without ARDS at start of ventilation: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials.* 2015; 16: 226.

Singer MM, Wright F, Stanley LK, Roe BB, Hamilton WK. Oxygen toxicity in man. A prospective study in patients after open-heart surgery. *N Engl J Med.* 1970; 283: 1473-78.

Slutsky AS. Mechanical ventilation. *Chest.* 1993; 104: 1833-59.

Slutsky AS. Neuromuscular blocking agents in ARDS. *N Engl J Med.* 2010; 363: 1176-80.

Slutsky AS. Ranieri M. Ventilator-Induced Lung Injury. *N Engl J Med.* 2013; 369: 2126-36.

Sohma A, Brampton WJ, Dunnill MS, Sykes MK. Effect of ventilation with positive end-expiratory pressure on the development of lung damage in experimental acid aspiration pneumonia in the rabbit. *Intensive Care Med.* 1992; 18: 112-7.

Spector IG, Klebanoff MA, Feusner JH, Georgieff MK, Ross JA. Childhood cancer following neonatal oxygen supplementation. *J. Pediatr.* 2005; 147: 27-31.

Stub D, Smith K, Bernard S, Nehme Z, Stephenson M, Bray JE, et al. Air versus oxygen in ST-Segment-Elevation myocardial infarction. *Circulation.* 2015; 131(14): 2143-50.

Stüber F, Wrigge H, Schroeder S, Wetegrove S, Zinserling J, Hoeft A, et al. Kinetic and reversibility of mechanical ventilation-associated pulmonary and systemic inflammatory response in patients with acute lung injury. *Intensive Care Med.* 2002; 28: 834-41.

Suarez-Sipmann F, Böhm SH, Tusman G, Pesch T, Thamm O, Reissmann H, et al. Use of dynamic compliance for open lung positive end-expiratory pressure titration in an experimental study. *Crit Care Med.* 2007; 35: 214-21.

Sun Y, Qiu X, Wu G, Wang J, Li J, Tang H, Xia Z. The effects of porcine pulmonary surfactant on smoke inhalation injury. *J Surg Res.* 2015; 198(1): 200-7.

Sun ZT, Yang CY, Miao LJ, Zhang SF, Han XP, Ren SE, et al. Effects of mechanical ventilation with different tidal volumen on oxidative stress and antioxidant in lung. *J Anesth.* 2015; 29(3): 346-51.

Suter PM, Fairley B, Isenberg MD. Optimum end-expiratory airway pressure in patients with acute pulmonary failure. *N Engl J Med.* 1975; 292: 284-89.

Suzuki S, Eastwood GM, Glassford NJ, Peck L, Young H, Garcia-Alvarez M, et al. Conservative oxygen therapy in mechanically ventilated patients: a pilot before-and-after trial. *Crit Care Med.* 2014; 42(6): 1414-22.

Swenson ER. Therapeutic hypercapnic acidosis: pushing the envelope. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004; 169 8–9.

Tagami T, Kushimoto S, Yamamoto Y, Atsumi T, Tosa R, Matsuda K. et al. Validation of extravascular lung water measurement by single transpulmonary thermodilution: human autopsy study. *Crit Care.* 2010; 14: R162.

Talmor D, Sarge T, Malhotra A, O'Donnell C, Ritz R, Lisbon A, et al. Mechanical ventilation guided by esophageal pressure in acute lung injury. *N Engl J Med.* 2008; 359: 2095-2104.

Takeshita K, Suzuki Y, Nishio K, Takeuchi O, Toda K, Kudo H, et al. Hypercapnic acidosis attenuates endotoxin induced nuclear factor κ B activation. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2003; 29: 124-32.

The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2000; 342: 1301-8.

Thompson JS, Baxter BT, Allison JG, Johnson FE, Lee KK, Park WY. Temporal patterns of postoperative complications. *Arch Surg.* 2003; 138: 596–602.

Thorens JB, Jolliet P, Ritz M, Chevrolet JC. Effects of rapid permissive hypercapnia on hemodynamics, gas exchange, and oxygen transport and consumption during mechanical ventilation for the acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med.* 1996; 22: 182-91.

Tomashefski JF, Davies P, Boggis C, Greene R, Zapol WM, Reid LM. The pulmonary vascular lesions of the adult respiratory distress syndrome. *Am J Pathol.* 1983; 112: 112–26.

Tremblay LN, Slutsky AS. Ventilator induced injury: from barotrauma to biotrauma. *Proc Assoc Am Physicians.* 1998; 110: 482-88.

Tremblay LN, Valenza F, Ribero P, Li J, Slutsky AS. Injurious ventilatory strategies increase cytokines and c-fosm- RNA expression in an isolated rat lung model. *J Clin Invest.* 1997; 99: 944-52.

Tschumperlin DJ, Marquies SS. Equibiaxial deformation-induced injury of alveolar epithelial cells in vitro. *Am J Physiol.* 1998; 275: 1173-83.

Uhlig S. Ventilation-induced lung injury and mechanotransduction: stretching it too far? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2002; 282: 892-96.

Vaneker M, Halbertsma FJ, Egmond J. van, Netea MG, Dijkman HB, Snijdelaar DG, et al. Mechanical ventilation in healthy mice induces reversible pulmonary and systemic cytokine elevation with preserved alveolar integrity: An *in vivo* model using clinical relevant ventilation settings. *Anesthesiology.* 2007; 107: 419–26.

Ventrice EA, Marti-Sistac O, Gonzalvo R, Villagra, A, López-Aguilar J, Blanch L. Mecanismos biofísicos, celulares y modulación de la lesión pulmonar inducida por la ventilación mecánica. *Med Intensiva.* 2007; 31(2): 73-82.

Vesalius A. *Pulmonis motuum de humani corporis fabrica libri septem.* Basel Oporinus. 1543: 658.

- Villar J**, Cabrera NE, Casula M, Flores C, Valladares F, Díaz-Flores L, et al. Mechanical ventilation modulates TLR4 and IRAK-3 in a non-infectious, ventilator-induced lung injury model. *Respir Res.* 2010; Mar 3; 11: 27.
- Villar J**, Cabrera NE, Valladares F, Casula M, Flores C, Blanch L, et al. Activation of the Wnt/ β - Catenin signaling pathway by mechanical ventilation is associated with ventilator-induced fibrosis in healthy lungs *PLoS One.* 2011; 6(9); e23914.
- Villar J**, Herrera-Abreu MT, Valladares F, Muros M, Pérez-Méndez L, Flores C, et al. Experimental ventilator-induced lung injury: exacerbation by positive end expiratory pressure. *Anesthesiology.* 2009; 110(6): 1341-47.
- Villar J**, Kacmarek R, Pérez- Méndez L, Aguirre-Jaime A, for the ARIES network. A high positive end-expiratory pressure, low tidal volume ventilatory strategy improves outcome in persistent acute respiratory distress syndrome: A randomized, controlled trial. *Crit Care Med.* 2006; 34: 1311-18.
- Vlahakis NE**, Hubmayr RD. Cellular stress failure in ventilator-injured lungs. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 171: 1328-42.
- Wang J**, Huazhong Z, Chenglei S, Chen J, Zhu H, Zhang H, et al. Dexamethasone ameliorates H₂S-induced Acute Lung Injury by alleviating matrix metalloproteinase-2 and 9 expression. *PLoS one.* 2014; 9(4): e 94701.
- Wang X**, Ryter S, Dai C, Tang ZL, Watkins SC, Yin XM, et al. Necrotic cell death in response to oxidant stress involves the activation of the apoptogenic caspase-8/bid pathway. *JBiol Chem.* 2003; 278: 29184–91.
- Webb HH**, Tierney DF. Experimental pulmonary edema due to intermittent positive pressure ventilation with high inflation pressures. Protection by positive end-expiratory pressure. *Am Rev Respir Dis.* 1974; 110: 556-65.
- Weiser TG**, Regenbogen SE, Thompson KD, Haynes AB, Lipsitz SR, Berry WR, et al. An estimation of the global volume of surgery: a modelling strategy based on available data. *Lancet.* 2008. Jul 12; 372(9633): 139-44.

- West JB**, Tsukimoto K, Mathieu-Costello O, Prediletto R. Stress failure in pulmonary capillaries. *J Appl Physiol.* 1991; 70(4): 1731-42.
- Wolthuis EK**, Vlaar AP, Choi G, Roelofs JJ, Juffermans NP, Schultz MJ. Mechanical ventilation using non-injurious ventilation settings causes lung injury in the absence of preexisting lung injury in healthy mice. *Crit Care.* 2009; 13: R1.
- Wrigge H**, Uhlig U, Zinserling J, Behrends-Callsen E, Ottersbach G, Fischer M, et al. The effects of different ventilatory settings on pulmonary and systemic inflammatory responses during major surgery. *Anesth Analg.* 2004; 98(3): 775-81.
- Wrigge H**, Zinserling J, Stüber F, von Spiegel T, Hering R, Wetegrove S, et al. Effects of mechanical ventilation on release of cytokines into systemic circulation in patients with normal pulmonary function. *Anesthesiology.* 2000; 93(6): 1413-17.
- Xu YD**, Hua J, Mui A, O'Connor R, Grotendorst G, Khalil N. Release of biologically active TGF-beta1 by alveolar epithelial cells results in pulmonary fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2003; 285(3): 527-39.
- Yang WC**, Song CY, Wang N, Zhang LL, Yue ZY, Cui XG, et al. Hypercapnic acidosis confers antioxidant and anti-apoptosis effects against ventilator-induced lung injury. *Laboratory Investigation.* 2013; 93: 1339-49.
- Yu S**, Shi M, Liu C, Liu Q, Guo J, Yu S, Jiang T. Time course changes of oxidative stress and inflammation in hyperoxia-induced acute lung injury in rats. *Iran J Basic Med Sci.* 2015; 18: 98-103.
- Zavadil J**, Böttinger EP. TGF-beta and epithelial-to-mesenchymal transitions. *Oncogene.* 2005; 24: 5764-74.
- Zaher TE**, Miller EJ, Morrow DM, Javdan M, Mantell LL. Hyperoxia induced signal transduction pathways in pulmonary epithelial cells. *Free Radic Biol Med.* 2007; 42(1): 897-908.
- Zhang X**, Shan P, Qureshi S, Homer R, Medzhitov R, Noble PW, et al. Cutting edge: TLR4 deficiency confers susceptibility to lethal oxidant lung injury. *J Immunol.* 2005; 175(8): 4834-38.

