

**UNIVERSITAT DE BARCELONA  
FACULTAT DE MEDICINA**

**Departamento de Cirugía y Especialidades Quirúrgicas**

***EFECTOS DEL ÓXIDO NÍTRICO INHALADO  
EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE  
VENTILACIÓN UNIPULMONAR***

Memoria presentada para optar al Título de Doctor en Medicina y Cirugía por:

**ANA MARÍA LÓPEZ GUTIÉRREZ**

Directoras: **Prof. Irene Rovira Canudas**

**Prof. Carmen Gomar Sancho**

Tutor: **Prof. Miguel Ángel Nalda Felipe**

Departamento de Cirugía y Especialidades Quirúrgicas

Facultad de Medicina

Universidad de Barcelona

Barcelona, enero de 2005



“Nuestra ciencia, comparada con la compleja realidad, es primitiva e infantil; aún así, es la cosa más preciada que tenemos”

*La dinámica del movimiento. 1905*  
ALBERT EINSTEIN



El trabajo de investigación, tema de esta tesis, ha sido financiado por un Premio Fin de Residencia del Hospital Clínico de Barcelona.



A mis padres, Isabel y Ricardo, que recorrieron un largo y arduo camino para brindarme la oportunidad de iniciar el mío y a quienes nunca podré agradecer lo suficiente el inmenso esfuerzo, el empeño y la ilusión que pusieron en conseguirlo.





# ***AGRADECIMIENTOS***



Mi más sincero agradecimiento a todos los que en el campo profesional han colaborado en la planificación, realización y redacción de este proyecto de investigación.

A las directoras de esta Tesis. A la **profesora Irene Rovira Canudas**, infatigable impulsora de la investigación experimental del Servicio de Anestesiología, que supo transmitirme el entusiasmo y el respeto por la investigación con animales, por su constante aliento durante la preparación, la realización y la redacción del trabajo. A la **profesora Carmen Gomar Sancho** por sus valiosos consejos en el diseño del proyecto y especialmente en la redacción de esta tesis.

A los compañeros del Servicio de Anestesiología, **Dra. Guillermina Fita** y **Dr. Enrique Carrero, Silvia Herrero** y a los **residentes**, que compartieron los éxitos y los fracasos durante las interminables horas de estabulario.

A todo el equipo de Cirugía Torácica del Hospital Clínico, especialmente a los **Dres. Josep Belda** y **Xavier Baldó**, sin cuya disponibilidad y solícita colaboración en la instrumentación de los animales no se hubiera podido realizar el proyecto.

Al grupo de investigación experimental de Cardiología del Hospital Clínico, por permitirme utilizar parte de su equipo de monitorización y registro, indispensable para la ejecución del estudio.

Al **Dr. Francesc Oliva**, profesor de Bioestadística de la Facultad de Biología, por su amistad y su dedicación en el riguroso análisis estadístico de los datos y a **Josep A. Sánchez** por su ayuda y sus consejos en la presentación de los resultados.

A los técnicos de laboratorio de urgencias del Hospital Clínico por su amabilidad y por la rapidez en el procesado de las múltiples muestras obtenidas durante la realización del estudio.

A las doctorandas **Dras. Annabel Blasi** y **Júlia Martínez**, continuadoras de esta línea de investigación, por sus sugerencias y su ánimo durante la prolongada redacción del documento.

Quiero expresar también mi gratitud a todos aquellos que en el plano personal han contribuido de manera decisiva a llevar a buen puerto esta tesis.

A las otras “víctimas” del proyecto, a mis hijos **David y Alicia**, por sus sonrisas y por aceptar con infantil naturalidad la interminable “conferencia del NO” como a uno más de la familia, a pesar de su evidente escepticismo sobre el éxito editorial del libro. A mi marido **Jorge** por su apoyo incondicional en los momentos difíciles y por resolver con rapidez, eficacia y buen humor las catastróficas crisis informáticas.

A toda mi familia por su cariñoso apoyo y en especial a mi hermana **Verónica** por su inestimable ayuda.

A **Fernando Luna y M. Asunción Rodríguez** por su paciencia y su solícito soporte logístico.

## *ABREVIATURAS*



AAS	Ácido acetilsalicílico
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
ATP	Adenosín trifosfato
°C	Grados centígrados
CaO <sub>2</sub>	Contenido arterial de oxígeno
CcO <sub>2</sub>	Contenido capilar de oxígeno
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
COX	Ciclooxigenasa
CPAP	Presión positiva continua en la vía aérea
CRF	Capacidad residual funcional
CvO <sub>2</sub>	Contenido venoso de oxígeno
EDRF	Factor relajante derivado del endotelio
FC	Frecuencia cardíaca
FiO <sub>2</sub>	Fracción inspirada de oxígeno
GC	Gasto cardíaco
GMPc	Guanosín monofosfato cíclico
GTP	Guanosín trifosfato
Hb	Hemoglobina
INDO	Indometacina
L-NAME	N <sup>G</sup> nitro-L-arginina metil éster
MetaHb	Metahemoglobina
N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	Tetraóxido de dinitrógeno
NADPH	Fosfato dinucleótido de adenosín nicotinamida
NO	Óxido nítrico
NOHb	Nitrosilhemoglobina
NO <sub>2</sub>	Dióxido de nitrógeno
NO <sub>3</sub>	Trióxido de nitrógeno
NOS	Óxido nítrico sintetasa
O <sub>2</sub>	Oxígeno

OxiHb	Oxihemoglobina
Pa	Presión arterial
PA	Presión alveolar
PaCO <sub>2</sub>	Presión parcial de dióxido de carbono arterial
PAO <sub>2</sub>	Presión alveolar de oxígeno
PaO <sub>2</sub>	Presión parcial de oxígeno arterial
PAP	Presión arterial pulmonar
PAS	Presión arterial sistémica
PCP	Presión capilar pulmonar
PEEP	Presión positiva espiratoria final
PDE	Fosfodiesterasa
ppb	Partes por billón
ppm	Partes por millón
Pv	Presión venosa
PVC	Presión venosa central
PvCO <sub>2</sub>	Presión parcial de dióxido de carbono venoso
PvO <sub>2</sub>	Presión parcial de oxígeno venoso
Q <sub>S</sub> /Q <sub>T</sub>	Shunt intrapulmonar
Q <sub>VA</sub> /Q <sub>T</sub>	Mezcla venosa
RNOS	Especies reactivas de los óxidos de nitrógeno
RVP	Resistencias vasculares pulmonares
RVPd	Resistencias vasculares pulmonares derechas
RVPi	Resistencias vasculares pulmonares izquierdas
RVS	Resistencias vasculares sistémicas
SOD	Superóxido dismutasa
VBP	Ventilación bipulmonar
VPH	Vasoconstricción pulmonar hipóxica
VU	Ventilación unipulmonar



# *ÍNDICE*



<b>1</b>	<b>JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO</b>	<b>21</b>
<b>2</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>27</b>
	<b>2.1 Ventilación unipulmonar</b>	<b>29</b>
	2.1.1 Indicaciones	29
	2.1.2 Fisiopatología de la ventilación unipulmonar	30
	2.1.3 Tratamiento de la hipoxemia durante la ventilación unipulmonar	40
	<b>2.2 Óxido nítrico</b>	<b>43</b>
	2.2.1 Óxido nítrico endógeno	43
	2.2.2 Óxido nítrico inhalado	53
	<b>2.3 Vasoconstricción del pulmón no ventilado</b>	<b>68</b>
	2.3.1 Inhibición de la síntesis del óxido nítrico	68
	2.3.2 Inhibición de la síntesis de prostaglandinas	71
	<b>2.4 Óxido nítrico inhalado asociado a otros tratamientos</b>	<b>73</b>
	2.4.1 Combinación de óxido nítrico inhalado con otros fármacos	74
	<b>2.5 Modelos experimentales de ventilación unipulmonar</b>	<b>76</b>
	2.5.1 Atelectasia <i>versus</i> ventilación hipóxica	77
	2.5.2 Posición	78
<b>3</b>	<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	<b>81</b>
	<b>3.1 Hipótesis</b>	<b>83</b>
	<b>3.2 Objetivos</b>	<b>83</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>85</b>
	<b>4.1 Diseño del estudio</b>	<b>87</b>
	4.1.1 Animales de experimentación	87
	4.1.2 Cálculo del tamaño de la muestra	88
	<b>4.2 Preparación de los animales</b>	<b>88</b>
	4.2.1 Anestesia	88
	4.2.2 Instrumentación	89
	<b>4.3 Variables estudiadas</b>	<b>92</b>
	4.3.1 Parámetros hemodinámicos	92
	4.3.2 Parámetros ventilatorios	93
	4.3.3 Flujo pulmonar izquierdo	93
	4.3.4 Determinaciones de los gases en sangre	94
	4.3.5 Parámetros calculados	94
	<b>4.4 Fármacos administrados</b>	<b>95</b>
	<b>4.5 Administración de óxido nítrico</b>	<b>96</b>
	<b>4.6 Protocolo experimental</b>	<b>97</b>
	4.6.1 Fase I	97
	4.6.2 Fase II	98
	<b>4.7 Análisis estadístico</b>	<b>99</b>

<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>103</b>
	<b>5.1 Modelo experimental de ventilación unipulmonar</b>	<b>105</b>
	5.1.1 Efectos de la ventilación unipulmonar	105
	5.1.2 Estabilidad del modelo de ventilación unipulmonar.	107
	5.1.3 Comparación de gasto cardíaco y flujo pulmonar izquierdo	108
	5.1.4 Efectos de la instrumentación	110
	<b>5.2 Fase I: curva dosis respuesta</b>	<b>111</b>
	<b>5.3 Fase II: estudio experimental</b>	<b>115</b>
	5.3.1 Efectos del óxido nítrico inhalado	116
	5.3.2 Efectos de la N <sup>G</sup> nitro L-arginina metil éster	117
	5.3.3 Efectos de la indometacina	118
	5.3.4 Efectos de la combinación de N <sup>G</sup> Nitro-L-Arginina metil éster y óxido nítrico inhalado	119
	5.3.5 Efectos de la combinación de indometacina y óxido nítrico inhalado	120
	5.3.6 Comparaciones intragrupos y entre grupos	122
	5.3.7 Cálculo de las resistencias vasculares de cada pulmón	131
<b>6</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>145</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>193</b>
<b>8</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>197</b>

## ***1 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO***



La ventilación unipulmonar permite aislar un pulmón del otro mediante la intubación selectiva de uno de los bronquios y es la técnica de elección en situaciones de riesgo vital como la hemorragia pulmonar masiva, la infección unipulmonar grave o la fístula broncopleural. El colapso de un pulmón y la ventilación selectiva del pulmón contralateral sigue siendo una técnica habitualmente utilizada en diferentes intervenciones intratorácicas diagnósticas o terapéuticas, incluso en los procedimientos mínimamente invasivos de reciente introducción, ya que facilita enormemente la exposición del campo operatorio. Sin embargo, esta modalidad de ventilación da lugar a profundos cambios en la hemodinámica pulmonar y sistémica y sobre todo en la relación ventilación/perfusión, que condicionan un rápido deterioro del intercambio de gases. Los mecanismos fisiológicos de compensación que se desencadenan, de los cuales el más importante es la vasoconstricción pulmonar hipóxica (VPH), atenúan el impacto de estos cambios, aunque no siempre son suficientemente eficaces.

La mayoría de los pacientes sometidos a cirugía torácica presentan algún tipo de patología pulmonar de base, que dificultan el manejo anestésico durante la ventilación unipulmonar. Así, un porcentaje no despreciable de pacientes presenta mala tolerancia a la ventilación unipulmonar con episodios de hipoxemia más o menos severos durante la misma. Además, al progresivo envejecimiento de la población y al aumento de la patología subyacente, se suma el incremento en el número de procedimientos torácicos diagnósticos y/o terapéuticos realizados con esta técnica. Los avances en el conocimiento de la fisiopatología de la ventilación unipulmonar, en la tecnología (fibrobronoscopios, monitores y respiradores) y en los fármacos y técnicas anestésicas han permitido en los últimos años mejorar la seguridad y la calidad del cuidado de los pacientes de cirugía torácica.

A pesar de ello, el manejo perioperatorio de estos pacientes supone un reto para los especialistas implicados, lo que explica el creciente interés en la investigación en este campo. Una de las líneas de investigación actuales se centra en la manipulación farmacológica de la circulación pulmonar mediante nuevas sustancias, nuevos sistemas de administración o la combinación de ambos. El objetivo es optimizar la relación

## *Justificación del estudio*

---

ventilación/perfusión con la mínima repercusión sistémica y por consiguiente mantener un adecuado intercambio de gases, a la par que la estabilidad hemodinámica.

La administración de óxido nítrico inhalado (iNO) tiene efecto vasodilatador pulmonar selectivo de las zonas ventiladas ampliamente demostrado y podría mejorar la oxigenación en estos pacientes al aumentar la perfusión del pulmón ventilado.

Por otro lado, la administración de inhibidores de la síntesis de las prostaglandinas y del NO endógeno dan lugar a una vasoconstricción pulmonar que es más intensa en condiciones de hipoxia, por este motivo se han utilizado para potenciar la VPH en diferentes modelos experimentales y en clínica.

Además, la asociación de iNO con fármacos que aumentan la VPH en el pulmón no ventilado, al disminuir la perfusión de éste, puede potenciar la redistribución del flujo pulmonar hacia el pulmón ventilado y en consecuencia mejorar las relaciones ventilación/perfusión y el intercambio de gases.

Así, de confirmarse estas hipótesis, el iNO solo o combinado con estos inhibidores, se podría aplicar durante la anestesia en ventilación unipulmonar y también en el tratamiento de pacientes con patología pulmonar unilateral severa.

Cuando se plantearon los objetivos de este trabajo de investigación, el iNO se utilizaba ya con buenos resultados en pacientes con hipoxia y/o hipertensión pulmonar de múltiples causas, pero no en ventilación unipulmonar para cirugía torácica. De hecho, el único trabajo publicado se había realizado en pacientes bajo ventilación unipulmonar en cirugía cardíaca a los que se había administrado iNO para estudiar el efecto vasodilatador pulmonar <sup>1</sup>.

Al iniciar este trabajo experimental, la combinación de iNO con la administración de sustancias que potencian la VPH tampoco se había utilizado todavía durante la ventilación unipulmonar, exceptuando el estudio de Moutafis <sup>2</sup>, en que se administró iNO combinado con almitrina, (fármaco que potencia la VPH, pero no disponible en nuestro país), durante la ventilación unipulmonar y en el que se demostró una mejoría de la oxigenación.



Por lo tanto, era necesario investigar otros fármacos y para ello se diseñó el presente estudio con un modelo experimental de ventilación unipulmonar para evaluar los efectos pulmonares del iNO solo o combinado con los inhibidores de las prostaglandinas y del NO endógeno. Los resultados esperados podrían hacer de la ventilación unipulmonar una técnica más segura, sobre todo en pacientes con escasa reserva pulmonar.



## ***2 INTRODUCCIÓN***



## **2.1 VENTILACIÓN UNIPULMONAR**

La ventilación unipulmonar mediante la intubación selectiva de uno de los bronquios es una técnica utilizada en aquellas situaciones clínicas en las que se requiere aislar un pulmón del otro, colapsar uno de ellos o ventilar de forma independiente ambos pulmones.

El aislamiento y protección del pulmón sano es obligado cuando se producen complicaciones con riesgo vital como la hemorragia masiva o absceso pulmonar unilateral, cuando se realizan lavados pulmonares (proteínosis alveolar, fibrosis quística) y para evitar el riesgo de neumotórax a tensión en presencia de fístulas broncopleurales o quistes gigantes.

El colapso de un pulmón o la ventilación independiente de cada uno de ellos son imprescindibles para la realización de determinados procedimientos de cirugía torácica, puesto que facilitan enormemente la exposición del campo quirúrgico.

### **2.1.1 INDICACIONES**

Además de las citadas en el apartado anterior, las indicaciones quirúrgicas absolutas incluyen la neumonectomía, la exéresis de un lóbulo apical, o la reparación de un aneurisma torácico. En general las indicaciones difieren de un centro a otro y dependen en último lugar de la experiencia y preferencias de los equipos quirúrgicos. La videotoroscopia, cada vez más utilizada en procedimientos diagnósticos y terapéuticos, requiere en ocasiones un pulmón perfectamente colapsado por lo que se realiza habitualmente bajo ventilación unipulmonar. En otros procedimientos la ventilación unipulmonar es una ayuda valiosa a la técnica quirúrgica aunque su indicación puede ser discutible, como en las torascopias, las lobectomías medias e inferiores, o las esofaguectomías.

Finalmente, con las nuevas técnicas de cirugía cardiaca mínimamente invasivas, técnica de *Heart-port*®, o *minimally invasive direct coronary artery bypass* (MIDCAB) que se

realizan mediante una pequeña toracotomía submamaria, es imprescindible el colapso pulmonar ipsilateral y la ventilación selectiva contralateral.

### **2.1.2 FISIOPATOLOGÍA DE LA VENTILACIÓN UNIPULMONAR**

La ventilación unipulmonar provoca intensos cambios fisiopatológicos en la ventilación y la perfusión pulmonar. Además, existen otros factores que también influyen en la relación ventilación/perfusión y que son propios de los diferentes procedimientos quirúrgicos que requieren ventilación unipulmonar, como la posición, la anestesia general y la toracotomía. Muchas de las indicaciones tradicionales implican la colocación del paciente en decúbito lateral, sin embargo, debido a los últimos avances en cirugía cardiorácica, varios procedimientos se realizan en decúbito supino (doble trasplante de pulmón, reducción de volumen pulmonar, cirugía coronaria mínimamente invasiva). Los cambios de posición tienen importantes implicaciones fisiológicas, por lo que se revisan conjuntamente con los producidos por los cambios en la ventilación unipulmonar.

#### **2.1.2.1 Distribución de la ventilación y de la perfusión**

La distribución de la ventilación en un individuo sano, en bipedestación y respirando espontáneamente no es uniforme, sino que existe un gradiente vertical de ventilación que favorece las áreas declives. La variación de la presión negativa interpleural hace que los alvéolos apicales estén más insuflados que los basales, pero a la vez que sean menos distensibles. La curva de complianza pulmonar (presión transpleural/volumen alveolar) tiene forma sigmoidea, por tanto los alvéolos de mayor tamaño (zona apical) y de tamaño muy pequeño (zonas de compresión) situados en los extremos de la curva apenas se distienden. En cambio, los alvéolos de tamaño intermedio de las bases se sitúan en la zona de mayor pendiente de la curva presentan una distensión máxima y por tanto una mayor eficacia en la ventilación alveolar.

Al igual que la ventilación, la distribución del flujo en bipedestación no es uniforme en todo el parénquima pulmonar sino que se produce un gradiente vertical de perfusión por acción de la gravedad privilegiando las zonas declives. Clásicamente el pulmón se divide en 3 zonas según el flujo pulmonar que reciben<sup>3</sup> y que depende de la interrelación entre la presión arterial, la presión alveolar y la presión venosa en cada

zona. Si la presión arterial no supera la presión alveolar, prácticamente no habrá flujo, como ocurre en la parte superior del pulmón o zona 1. En la zona intermedia o zona 2 la presión arterial es superior a la presión alveolar y a la presión venosa permitiendo el paso de flujo. La zona 3 o inferior es la que recibe mayor volumen sanguíneo, ya que la presión arterial es mayor, la presión alveolar es muy pequeña y el flujo depende solo del gradiente de presión arteriovenoso. También se ha descrito la zona 4 que aparecería si la presión pulmonar aumenta a niveles extremos y se produce trasudación. En este caso, el flujo sería menor que en la zona 3, ya que dependería del gradiente presión arterial-presión intersticial que es menor que el gradiente de presión arteriovenoso<sup>4</sup>.

En el paciente en decúbito supino, la ventilación se distribuye más uniformemente, mientras que la perfusión sigue privilegiando las áreas declives. En este caso, la altura que condiciona los cambios gravitacionales se reduce a un tercio y por tanto su impacto disminuye.

En decúbito lateral y respiración espontánea, el gradiente de presión pleural junto con la mayor curvatura del diafragma inferior o dependiente, favorecen la ventilación de las zonas declives. Del mismo modo, el gradiente de presión hidrostática favorece la perfusión de las mismas áreas por lo que la relación ventilación/perfusión se altera poco.

En decúbito lateral, con el paciente anestesiado, relajado, ventilado mecánicamente y con el tórax abierto, el gradiente de ventilación se invierte. El pulmón declive bajo la compresión de las estructuras mediastínicas y de los órganos intraabdominales por la pérdida de tono del diafragma, presenta menor complianza y por tanto se sitúa en una zona menos favorable de la curva presión/volumen. A esto se añade la reducción de volumen pulmonar debido al cierre precoz de las vías aéreas de pequeño calibre en las áreas dependientes. Otros factores que contribuyen a la disminución de la ventilación son la aparición de atelectasias por absorción a  $\text{FiO}_2$  altas y la formación de edema por aumento de la presión pulmonar. Todo ello repercute en una disminución de la oxigenación. En cambio, la perfusión sigue predominando en el pulmón declive ya que el gradiente de gravedad en esta posición aumenta el área correspondiente a la zona 3. Todo ello redundará en un desequilibrio de la ventilación/perfusión y condiciona un aumento del gradiente alveolo-arterial de  $\text{O}_2$ .

### **2.1.2.2 Repercusión de la ventilación unipulmonar sobre la distribución del flujo pulmonar y la oxigenación**

La instauración de la ventilación unipulmonar y el colapso del pulmón contralateral crea un *shunt* transpulmonar derecha-izquierda ya que todo el flujo que perfunde el pulmón no ventilado llega a las cavidades izquierdas sin oxigenar. Por tanto se produce un incremento de la diferencia alveolo arterial de O<sub>2</sub> y una disminución de la PaO<sub>2</sub>.

Sin embargo, en esta situación se desencadenan unos mecanismos compensatorios activos, como la vasoconstricción pulmonar hipóxica (VPH), que reducen la proporción de flujo que llega al pulmón no ventilado y por tanto atenúan la caída de la PaO<sub>2</sub><sup>5</sup>. En determinados casos además, se añade la contribución de factores pasivos que pueden disminuir aún más la perfusión del pulmón no ventilado.

En las intervenciones en decúbito lateral, como ya se ha citado, el mecanismo pasivo más importante es la distribución de flujo según la gravedad, que favorece la perfusión del pulmón declive ventilado<sup>6</sup>. Sin embargo, la repercusión del factor gravitatorio en el intercambio de gases durante la ventilación unipulmonar es variable según los estudios<sup>7</sup> y depende además, de otros factores como la FiO<sub>2</sub><sup>8</sup>.

Generalmente, la existencia de enfermedad pulmonar previa en el pulmón intervenido, favorece también la distribución de flujo hacia el pulmón sano ventilado durante la cirugía pulmonar ya que la perfusión de las áreas afectadas puede estar disminuida previamente. La manipulación quirúrgica del pulmón colapsado puede producir una reducción del flujo que éste recibe debido a la compresión y retracción vascular. Este efecto es máximo si el procedimiento requiere la ligadura de la arteria pulmonar o lobar correspondiente. En la cirugía toracoscópica las maniobras son más suaves y por tanto la repercusión es menor. En cualquier caso, esta redistribución pasiva del flujo no es suficientemente intensa para atenuar por sí sola el *shunt* creado al colapsar un pulmón.



### 2.1.2.3 Vasoconstricción pulmonar hipóxica (VPH)

La VPH es el factor autorregulador del flujo pulmonar más importante durante la ventilación unipulmonar. Cuando la respuesta vasoconstrictora está intacta en el pulmón no ventilado, el 50% del flujo sanguíneo que recibe se desvía hacia el pulmón ventilado, optimizando la relación ventilación/perfusión, por lo que el descenso de la PaO<sub>2</sub> no es tan crítico como cabría esperar si no existiera la VPH.

La VPH tiene lugar en las pequeñas arteriolas perialveolares y peribronquiolares<sup>9</sup> de 30 a 200 µm de diámetro y en menor medida en las vénulas postcapilares<sup>10</sup>. En preparaciones vasculares aisladas se ha demostrado que todas las arterias pulmonares, independientemente del tamaño, presentan vasoconstricción hipóxica. Es más, se ha demostrado que las células musculares lisas de las arterias pulmonares de cualquier calibre en cultivo se contraen de forma repetida con el estímulo hipóxico<sup>11,12</sup>. *In vivo*, las arterias de mayor tamaño, a pesar de estar en contacto con la sangre venosa mixta de su interior, no se contraen debido a que estos vasos reciben sangre oxigenada de las ramas bronquiales que se extienden hasta los vasos de 500 µm de diámetro. Sin embargo, en presencia de hipoxia sistémica (PaO<sub>2</sub> de 40-50 mmHg), sí responden con vasoconstricción. Por debajo de estos valores responden con vasodilatación como el resto de vasos sistémicos, probablemente debido a la circulación de factores vasodilatadores de las ramas bronquiales<sup>13</sup>.

Existe una gran variabilidad en cuanto a la sensibilidad a la hipoxia y la intensidad de la respuesta entre las preparaciones arteriales aisladas y los estudios *in vivo*. En preparaciones aisladas, la VPH típica observada presenta una primera fase de contracción rápida y transitoria seguida de una vasodilatación parcial y finalmente una contracción lenta y sostenida que alcanza una meseta a los 40 min<sup>14</sup>. *In vivo*, la hipoxia causa una vasoconstricción rápida y persistente, lo que sugiere que los factores neurales y humorales juegan un papel importante en la modulación de la respuesta en el animal intacto.

La pared de las arteriolas más pequeñas está en contacto por un lado con el gas alveolar y por el otro con la sangre venosa mixta, creándose un gradiente de difusión y

las células musculares responden a la presión local de O<sub>2</sub>. Por tanto el estímulo desencadenante de la HPV es una función de la presión alveolar de oxígeno (PAO<sub>2</sub>) y de la presión venosa mixta de oxígeno (PvO<sub>2</sub>). La ecuación que describe el estímulo hipóxico (PSO<sub>2</sub>) es:

$$PSO_2 = PAO_2^{0,6} + PvO_2^{0,4}$$

El modelo que mejor describe la relación entre la PSO<sub>2</sub> y la respuesta vasoconstrictora es una curva sigmoidea cuya P<sub>50</sub> corresponde a 30 mmHg. En condiciones normales la PAO<sub>2</sub> es el factor principal, sin embargo en los alvéolos no ventilados la PvO<sub>2</sub> se convierte en el factor determinante <sup>15</sup>.

### *2.1.2.3.1 Mecanismo de acción*

A pesar de la intensa investigación que se ha realizado en este campo desde que fue descrita en 1946 por von Euler y Liljestrand, aún no se ha llegado a un consenso sobre el mecanismo de acción exacto, es decir, cómo y dónde se detecta el nivel de O<sub>2</sub> en la célula y como se trasmite esta señal para producir la contracción de la célula muscular lisa. Se han propuesto dos hipótesis fundamentales <sup>9</sup>.

La primera sugiere que la VPH se produce por liberación de un mediador endotelial, aunque no se ha encontrado ninguno que cumpla todos los requisitos del mediador ideal, a pesar de una larga lista de posibles candidatos investigados. Se sabe que la VPH está modulada por numerosos factores, entre los que se incluyen aminas vasoactivas (catecolaminas, prostaglandinas, leucotrienos, serotonina, histamina, angiotensina, bradikinina, etc.), sin embargo, no se ha podido demostrar la liberación de ninguna de ellas en respuesta a la hipoxia como causante de la VPH.

La segunda hipótesis propone que la hipoxia por sí misma induce la constricción de los vasos pulmonares. Se ha demostrado en todas las especies estudiadas, que el entorno hipóxico inhibe los canales de K<sup>+</sup> produciendo la despolarización de la célula muscular lisa pulmonar. Esta despolarización va seguida de la entrada de Ca<sup>2+</sup> a través de los canales de Ca<sup>2+</sup> dependientes de voltaje, dando lugar a la fosforilación de las cadenas de miosina y la consiguiente contracción muscular <sup>16,17</sup>. Este fenómeno no se observa en los miocitos de las arterias sistémicas. Así mismo, se ha demostrado que la activación de

los canales de  $K^+$  inhibe la VPH y que la apertura de los mismos por vasodilatadores que elevan la concentración de cGMP o cAMP atenúa la respuesta vasoconstrictora a la hipoxia <sup>18</sup>. Por tanto, la inhibición de los canales de  $K^+$  es un eslabón fundamental entre la hipoxia y la vasoconstricción.

Se desconoce el mecanismo por el cual los niveles bajos de  $O_2$  causan la inhibición de los canales de  $K^+$ . Se ha sugerido que cambios en la homeostasis rédox de la célula o el bloqueo hipóxico del transporte de electrones en la mitocondria pueden ser los responsables de la detección de la  $PaO_2$ .

Otra teoría alternativa propone que la VPH se inicia por la liberación de  $Ca^{2+}$  desde las reservas intracelulares, dado que la hipoxia produce un rápido y transitorio aumento del  $Ca^{2+}$  intracelular <sup>19</sup>. Este a su vez inhibiría los canales  $K^+$  dependientes de voltaje dando lugar a la despolarización de la membrana y la posterior entrada de  $Ca^{2+}$  desde el exterior. Sin duda, tanto el  $Ca^{2+}$  de los depósitos intracelulares como el  $Ca^{2+}$  extracelular son fundamentales en la VPH aunque la contribución relativa de cada uno de ellos se desconoce.

Como se ha citado, los mediadores endoteliales ejercen un papel modulador en la respuesta vasoconstrictora observada *in vivo*, por lo que siguen siendo motivo de intensa investigación. El papel del óxido nítrico, identificado como el factor relajante derivado del endotelio <sup>20,21</sup> en la modulación de la VPH no se conoce con exactitud. De hecho existen teorías contrapuestas al respecto. Por un lado, numerosos trabajos demuestran que los inhibidores de la óxido nítrico sintetasa (NOS) potencian la VPH <sup>22</sup>, lo que sugiere que se libera óxido nítrico en respuesta a la VPH para evitar una vasoconstricción excesiva en respuesta a la hipoxia. Por otro lado, se ha sugerido que es la propia inhibición de la síntesis de NO lo que desencadena la vasoconstricción.

El papel del NO y de los productos derivados del ácido araquidónico será discutido posteriormente.

### 2.1.2.3.2 Factores que interfieren en la intensidad y efectividad de la VPH

Durante la anestesia y cirugía la VPH no es absolutamente predecible, sino que varía en función de numerosos factores <sup>5</sup>.

- Tamaño del compartimiento hipóxico.

La eficacia de la VPH es máxima entre el 30 y 70% de territorio pulmonar afectado. A medida que aumenta el tamaño del compartimiento hipóxico la capacidad de redistribuir el flujo disminuye. Cuando se supera la proporción del 70% aumenta el efecto deletéreo sobre la presión de la arteria pulmonar (PAP) ya que la vasoconstricción produce un aumento de las resistencias vasculares pulmonares (RVP). Si ambos pulmones están hipóxicos la distribución de flujo se hace imposible y la única respuesta posible es el aumento de la PAP.

- Presión de la arteria pulmonar y gasto cardiaco

La VPH es máxima cuando la PAP es normal y disminuye tanto a PAP altas como bajas debido a las propiedades físicas del circuito vascular. La elasticidad de los vasos permite su distensión a medida que aumenta la presión pero sólo hasta cierto punto, por otro lado, la fina capa muscular que recubre los vasos no impide que, una vez contraídos se reexpandan si se someten a una presión transmural suficiente. Estas características explican la forma de la curva presión-flujo tanto en condiciones normóxicas como hipóxicas. Si la PAP aumenta, los vasos no podrán contraerse a pesar del estímulo hipóxico. Si la PAP disminuye por debajo de la presión alveolar en el pulmón ventilado no habrá flujo (aumento de la zona 1) y puede incluso revertir el mismo hacia el pulmón no ventilado.

El aumento del flujo pulmonar, es decir del gasto cardiaco (GC), produce dos efectos contrapuestos sobre la VPH. Por un lado, a medida que el flujo aumenta, se produce una distensión de los vasos perfundidos y reclutamiento de vasos no perfundidos, sobre todo de los capilares que carecen de capa muscular. Si el flujo aumenta más, se producen cambios proporcionales en la PAP que disminuyen la HPV y aumentan el *shunt*. Por otro lado, el aumento del GC también aumenta la presión parcial venosa de oxígeno ( $PvO_2$ ) que conlleva un aumento de la oxigenación y además disminuye la intensidad de la VPH en las zonas no ventiladas.

- Presión venosa mixta de oxígeno

La respuesta vasoconstrictora es máxima cuando la  $PvO_2$  es normal y disminuye tanto si ésta aumenta o disminuye. Durante la ventilación unipulmonar, la VPH en el pulmón no ventilado se desencadena exclusivamente por el estímulo de la  $PvO_2$ . En aquellas situaciones en las que la  $PvO_2$  está disminuida por la causa que sea (bajo GC, anemia, hipoxemia), la VPH aumenta en el pulmón colapsado, optimizando la relación ventilación/perfusión. Sin embargo, si la disminución de la  $PvO_2$  es importante, la  $PSO_2$  también disminuirá y empezará a afectar el pulmón ventilado, de forma que aumentará la presión pulmonar que se opone a la VPH y por tanto empeora el intercambio de gases. Si la  $PvO_2$  se mantiene en el rango normal o alto disminuye la intensidad de la VPH en el pulmón hipóxico probablemente por difusión inversa del oxígeno <sup>23</sup>.

- Presión arterial de dióxido de carbono ( $CO_2$ ) y pH

Tanto la hipocapnia como la hipercapnia pueden disminuir la eficacia de la VPH. La hipercapnia parece tener un efecto potenciador directo y selectivo de la VPH, mientras que la hipocapnia inhibiría la VPH. Sin embargo los trabajos y revisiones publicados no son concluyentes al respecto debido a la influencia de otros factores. Durante la ventilación unipulmonar la acidosis o alcalosis respiratoria se producen por hipo o hiperventilación de un pulmón con los consiguientes cambios en las presiones de la vía aérea y su repercusión en la perfusión pulmonar que a su vez pueden aumentar o disminuir la VPH. Por tanto estos parámetros deben valorarse en su conjunto.

- Anestesia

La anestesia general modifica los factores humorales <sup>24</sup> neurales <sup>25</sup> y locales <sup>26</sup> que regulan la vasculatura pulmonar. Los efectos de los anestésicos inhalatorios y endovenosos en la VPH han sido profusamente estudiados y han sido objeto de amplias revisiones <sup>27,28</sup>. Los resultados varían considerablemente debido a la utilización de diferentes especies, preparaciones y modelos experimentales, así como a las diferencias en la metodología y en la concurrencia de otros factores implicados en la VPH como el GC, la PAP etc.

En preparaciones *in vitro* los anestésicos halogenados halotano, enflurano e isoflurano, disminuyeron la intensidad de la VPH<sup>29-31</sup>. En estudios *in vivo* en animales los resultados son discordantes con los obtenidos *in vitro*. En un estudio en perros, al comparar halotano, enflurano e isoflurano, solo éste último inhibió la VPH<sup>32</sup>. En estudios más recientes<sup>33</sup>, tanto el isoflurano como el desflurano disminuyeron la oxigenación en comparación con el propofol en un modelo de ventilación unipulmonar en cerdos. Sin embargo no pudieron demostrar un aumento del flujo hacia el pulmón hipóxico.

En estudios realizados en pacientes bajo ventilación unipulmonar el efecto depresor de la VPH de los anestésicos parece más difícil de demostrar ya que a las dosis habitualmente utilizadas este efecto es menos intenso. No se demostraron diferencias significativas entre enflurano y ketamina<sup>34</sup>, ni entre halotano o el isoflurano durante la anestesia intravenosa<sup>27</sup>. En cambio, la inhalación prolongada de halotano disminuyó significativamente la VPH en comparación con el isoflurano<sup>35</sup>. El efecto de los anestésicos halogenados sobre la VPH está influenciado por otros efectos concomitantes como la disminución del GC. Durante la anestesia inhalatoria, la eficacia de la VPH es inversamente proporcional al GC, de esta forma el efecto negativo de la inhibición directa de la VPH queda enmascarado con la potenciación de la misma secundaria a la disminución del GC. Durante la hipoxia unilateral el isoflurano disminuyó la VPH de forma dosis dependiente si el GC, la PvO<sub>2</sub> y la PAO<sub>2</sub> la PAP y la PCP se mantenían estables<sup>36</sup>.

En cuanto a los anestésicos intravenosos la mayoría de trabajos coinciden en que no modifican la VPH. Al pentobarbital se le ha atribuido tanto la disminución leve de la VPH<sup>37</sup>, como la ausencia de efecto sobre la hemodinámica pulmonar<sup>38</sup>. La administración de fentanilo, ketamina, tiopental, o pentobarbital no modificaron la intensidad de la VPH<sup>39</sup>. El propofol no inhibe la VPH durante la ventilación unipulmonar en modelos animales<sup>33</sup>, ni en pacientes<sup>40</sup>, incluso puede aumentarla<sup>41</sup>.

El efecto de la anestesia epidural combinada con anestesia general también ha sido estudiado. Aunque teóricamente el efecto vasodilatador de los anestésicos epidurales podría contrarrestar la VPH, no hay estudios concluyentes al respecto. De

hecho, en un estudio realizado en pacientes, la anestesia epidural con bupivacaína 0,5% combinada con isoflurano mantuvo mejor la oxigenación que la anestesia intravenosa con fentanilo y propofol <sup>42</sup>. Los mórficos epidurales tampoco parecen tener repercusión en la VPH. En otro estudio clínico no se encontraron diferencias entre la anestesia intravenosa con propofol y fentanilo con o sin meperidina epidural en cuanto a la oxigenación <sup>43</sup>.

- Otros factores

La VPH está influida por numerosos factores, además de los expuestos, como son la PaO<sub>2</sub> de la circulación bronquial que irriga las paredes de las arterias pulmonares, la presión capilar pulmonar, la temperatura corporal etc.

#### **2.1.2.4 Limitaciones a la redistribución de flujo**

Durante la ventilación unipulmonar los mecanismos compensadores activos y pasivos pueden ser insuficientes para disminuir el *shunt* derecha-izquierda en determinadas circunstancias. Además de los factores citados que pueden alterar la intensidad de la VPH en el pulmón no ventilado, y por tanto la cantidad de flujo redistribuido, puede estar alterada la capacidad del pulmón ventilado para aceptar dicho flujo como en las siguientes situaciones.

- Atelectasias pulmonares

La ventilación con FiO<sub>2</sub> elevadas, la presencia de áreas con bajos cocientes de ventilación/perfusión, o la dificultad de drenaje de las secreciones favorecen la aparición de atelectasias en zonas declives del pulmón ventilado.

- Disminución de la capacidad residual funcional (CRF)

Durante la anestesia general se produce una reducción del volumen del pulmón dependiente ventilado debido a la presión vertical ejercida por las estructuras mediastínicas y a la imposibilidad de expansión lateral por la rigidez de la mesa quirúrgica. La compresión de las vísceras abdominales en sentido cefálico a través del diafragma contribuye a la disminución de volumen pulmonar.

- Edema pulmonar

La dificultad de mantener una ventilación adecuada, especialmente en los procedimientos de larga duración, da lugar a hipoxemia, hipercapnia y acidosis. En estas condiciones aparece un aumento de la presión hidrostática pulmonar que favorece a progresiva acumulación de líquido trasudado en el pulmón ventilado.

- Aumento de la presión alveolar

El aumento de la presión alveolar en el pulmón ventilado produce un aumento de la RVP en el mismo. Si la presión alveolar supera la presión capilar pulmonar (PCP) se incrementará la proporción de zona 1 o colapso capilar con la consiguiente disminución del flujo derivado hacia este pulmón, es decir, una disminución de la eficacia de la VPH contralateral. La RVP es mínima cuando el volumen pulmonar es igual a la capacidad residual funcional (CFR) y aumenta cuando el volumen pulmonar disminuye (atelectasia) o aumenta (compresión de los capilares alveolares por hiperinsuflación). Por tanto, las maniobras de ventilación aplicadas durante el procedimiento con el fin de mejorar la oxigenación, como la hiperventilación y la aplicación de presión positiva al final de espiración (PEEP), pueden dar lugar a un empeoramiento del intercambio de gases si aumentan la presión alveolar

El resultado en estos casos es un aumento del *shunt* transpulmonar y una disminución de la PaO<sub>2</sub> que puede llegar a valores críticos en determinados pacientes, comprometiendo la oxigenación cerebral y miocárdica durante la cirugía.

### **2.1.3 TRATAMIENTO DE LA HIPOXEMIA DURANTE LA VENTILACION UNIPULMONAR**

La incidencia de hipoxemia y la intensidad de la misma en pacientes ventilados a un solo pulmón es muy variable según los trabajos publicados. En algunos estudios se han descrito entre un 9 y un 27% de casos de hipoxemia inaceptable <sup>44,45</sup>. En estos pacientes es fundamental aplicar las medidas disponibles para optimizar la oxigenación. En muchos casos, esto se consigue aumentando la FiO<sub>2</sub> hasta 1, ya que las ventajas superan los posibles efectos secundarios como la toxicidad y las atelectasias por



absorción. El aumento del volumen corriente del pulmón ventilado a 10-12 ml/kg a una frecuencia necesaria para mantener la PaCO<sub>2</sub> entre 35-40 mmHg es otra maniobra eficaz. Si a pesar de ello la hipoxemia persiste las técnicas utilizadas habitualmente son las siguientes.

### **2.1.3.1 Presión positiva alveolar continua (CPAP) en el pulmón no ventilado**

La aplicación de oxígeno a presión positiva y constante de 5-10 cm de H<sub>2</sub>O exclusivamente al pulmón no ventilado aumenta sustancialmente la oxigenación permitiendo cierto intercambio de gases en el espacio alveolar distendido. El pulmón se mantiene ligeramente insuflado aunque inmóvil durante la toracotomía, sin afectar significativamente al procedimiento quirúrgico. La CPAP además contribuye a disminuir el flujo hacia el pulmón no ventilado por aumento de la presión alveolar y redistribuirlo hacia el pulmón ventilado. Sin embargo, en la videotoracosopia la interferencia de esta técnica con la visibilidad es mayor. En muchos casos esta maniobra es suficiente para prevenir la hipoxemia aunque en casos de obstrucción bronquial o fístula broncopleural no se obtendrá suficiente presión alveolar de O<sub>2</sub> para mejorar la oxigenación.

### **2.1.3.2 Reclutamiento pulmonar y aplicación de PEEP en el pulmón ventilado**

Las maniobras de reclutamiento pulmonar y la aplicación de PEEP en el pulmón ventilado es una estrategia habitual para recuperar zonas atelectasiadas, aumentar la CRF y mejorar la oxigenación. Como ya se ha comentado, debe manejarse con cuidado ya que puede tener el efecto contrario y empeorar el intercambio de gases. El aumento de la presión alveolar puede aumentar la RVP o llegar a colapsar los vasos perialveolares con la consiguiente redistribución del flujo hacia el pulmón no ventilado. Esta maniobra se añade a la anterior cuando aquella no es suficiente.

### **2.1.3.3 Ventilación a alta frecuencia del pulmón colapsado**

Mejora la oxigenación en la misma proporción que la CPAP, aunque permite una mayor eliminación de CO<sub>2</sub> y una disminución del volumen corriente del pulmón ventilado. También se le ha atribuido un aumento del GC con respecto a la CPAP. El

inconveniente es que puede potenciar el atrapamiento de aire intrapulmonar dificultando así el procedimiento quirúrgico y además resulta cara y engorrosa.

### **2.1.3.4 Ventilación intermitente del pulmón colapsado**

Es la maniobra más rápida y efectiva para mejorar la oxigenación y se utiliza siempre que se produce hipoxemia grave y persistente con riesgo de comprometer la estabilidad del paciente. Esta maniobra obviamente dificulta y alarga el proceso quirúrgico.

### **2.1.3.5 Pinzamiento de la arteria pulmonar**

En los procedimientos quirúrgicos en los que finalmente se procederá a la ligadura de la arteria pulmonar (neumonectomía) el pinzamiento precoz de la misma mejora notablemente la oxigenación.

### **2.1.3.6 Modulación farmacológica de la circulación pulmonar**

La manipulación farmacológica selectiva del flujo que recibe cada pulmón durante la ventilación unipulmonar no es un concepto novedoso. En un estudio experimental en perros, la administración selectiva de vasoconstrictores como la prostaglandina  $F_{2\alpha}$  en la arteria del pulmón colapsado produjo un aumento de la  $PaO_2$  de forma dosis dependiente<sup>46</sup>. Del mismo modo, en pacientes sometidos a toracotomía, la administración local de vasodilatadores como la prostaglandina  $E_1$  en la arteria del pulmón ventilado mejoró significativamente la  $PaO_2$ <sup>47</sup>. Sin embargo, no son técnicas viables en la práctica clínica diaria puesto que implican la cateterización de las arterias pulmonares, un control exhaustivo de la posición del catéter durante la infusión y un ajuste cuidadoso de la dosis administrada para disminuir el efecto sistémico del fármaco vasoactivo.

Actualmente, el interés por la manipulación farmacológica del flujo pulmonar se centra en sistemas de administración menos complejos, como la administración sistémica de sustancias que aumentan la vasoconstricción en el pulmón hipóxico o bien administración por vía inhalatoria de vasodilatadores pulmonares al pulmón ventilado o vasoconstrictores al pulmón no ventilado.

El presente trabajo se centra en este aspecto del tratamiento de la hipoxemia durante la ventilación selectiva concretamente en tres vertientes:

1. Vasodilatación del pulmón ventilado
  - Óxido Nítrico
2. Vasocostricción del pulmón no ventilado
  - Inhibidores de la síntesis del óxido nítrico endógeno:  
NG-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME)
  - Inhibidores de la síntesis de prostaglandinas:  
Indometacina
3. Combinación de ambos tipos de modulación

## **2.2 ÓXIDO NÍTRICO**

Hasta hace poco más de una década, el NO era considerado simplemente un gas tóxico y contaminante procedente de los procesos de combustión. Su concentración atmosférica varía según el grado de polución ambiental, desde 10 partes por billón (ppb) en zonas poco contaminadas a 1,5 partes por millón (ppm) en zonas de intenso tránsito. La combustión de un cigarrillo puede llegar a liberar 1000 ppm de NO en 40 ml de humo.

### **2.2.1 ÓXIDO NÍTRICO ENDÓGENO**

Desde que en 1987 se identificó el NO como el factor relajante derivado del endotelio <sup>20,21</sup>, es conocido por su papel de mediador endógeno en innumerables procesos biológicos. En los últimos años, las investigaciones realizadas y los conocimientos adquiridos en torno a esta molécula han crecido de forma exponencial, abarcando prácticamente todas las ciencias de la vida. El premio Nobel de fisiología o medicina otorgado en 1998 a tres relevantes investigadores en el campo del NO (Robert F Furchgott, Louis J Ignarro y Ferid Murad) prueba el interés de la comunidad científica en esta molécula.

### **2.2.1.1 Propiedades físico-bioquímicas**

El NO es un gas incoloro, poco soluble en agua, con una densidad relativa a la del aire de 1,04 y un punto de ebullición de  $-151,6$  °C.

El peso molecular del NO es de 30 D y cuenta con un electrón no apareado en el orbital  $\pi$  de antienlace. Esta estructura de radical libre constituye la base química de sus efectos biológicos. La molécula de NO es extremadamente lipofílica y relativamente poco reactiva por lo que difunde fácil y rápidamente a través de las membranas según su gradiente de concentración <sup>48</sup>.

El NO interacciona sólo con metales de transición, oxígeno y radicales libres.

#### *2.2.1.1.1 Metales de transición*

La interacción con los metales de transición da lugar a tres tipos de reacción: 1) enlace covalente entre el NO y el metal como el  $\text{Fe}^{2+}$  del grupo heme de las proteínas formando compuestos nitrosil estables. 2) reacciones rédox entre el NO y los iones metálicos y 3) Unión del NO a los centros  $\text{Fe}^{2+}$ -S de los enzimas intracelulares.

#### *2.2.1.1.2 Oxígeno*

El NO reacciona con el oxígeno y con las especies reactivas del oxígeno dando lugar a diferentes moléculas. Según el grado de oxidación se obtienen diferentes compuestos (Tabla 1).

En fase acuosa, la reacción del NO con el oxígeno da lugar a dióxido de nitrógeno, trióxido de dinitrógeno y ácido nitroso, para convertirse finalmente en nitritos y nitratos.

En fase gaseosa, al combinarse con el oxígeno molecular da lugar principalmente a dióxido de nitrógeno que es altamente tóxico. La velocidad a la que se genera éste es directamente proporcional al producto de la constante de conversión, que varía según las condiciones experimentales, y las concentraciones de NO y oxígeno. La formación de  $\text{NO}_2$  tiene importantes implicaciones en el diseño de los sistemas de la administración de NO inhalado.

Tabla 1. Estados de oxidación del NO

Oxidación	Símbolo	Compuesto
+1	NO <sup>-</sup>	Anión nitrosilo
	N <sub>2</sub> O	Óxido nitroso
+2	NO	Óxido nítrico
+3	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Nitrito
	HNO <sub>2</sub>	Ácido nitroso
	NO <sup>+</sup>	Catión nitrosonio
	ONOO <sup>-</sup>	Anión peroxinitrito
	ONOOH	Ácido peroxinitroso
	N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Trióxido de dinitrógeno
	+4	NO <sub>2</sub>
N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>		Tetraóxido de dinitrógeno
+5	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nitrato
	HNO <sub>3</sub>	Ácido nítrico
	N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Pentóxido de dinitrógeno

### 2.2.1.1.3 Radicales libres

El NO reacciona rápidamente con otros radicales libres como el superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) para formar peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>), un potente agente oxidante. Esta reacción se produce a un ritmo de  $1,9 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  <sup>49</sup>. Su vida media es muy corta pero suficiente para interactuar con muchas biomoléculas. También se une a los radicales hidroxiperoxil evitando su acción oxidante.

### 2.2.1.2 Síntesis del NO endógeno

El NO es sintetizado por la óxido nítrico sintetasa (NOS), de la que se conocen tres isoformas. Estas enzimas catalizan la oxidación del 5º electrón del átomo de nitrógeno guanidino terminal del aminoácido L-arginina, produciendo una hidroxarginina altamente reactiva (N<sup>G</sup>-OH-L-arginina), que rápidamente se convierte en NO y L-citrulina <sup>50</sup>. En el proceso se consume O<sub>2</sub> y nicotinamida adenina dinucleótido hidrógeno fosfato (NADPH) como cosustratos y se requieren cofactores como flavin adenina dinucleótido (FAD) y flavin mononucleótido (FMN). Las tres isoformas necesitan la presencia de tetrahidrobiopterina (BH<sub>4</sub>) y posiblemente Zn<sup>++</sup> para catalizar la transferencia de electrones. La L-citrulina producida, entra en el ciclo de la urea y se reconvierte en L-arginina por incorporación de un grupo amonio procedente del metabolismo de los aminoácidos (Figura 1).

## Introducción

El factor limitante de la enzima parece ser la disponibilidad del sustrato y de la concentración de los cofactores, que también determinan la formación del radical superóxido  $O_2^-$ .

En la circulación periférica el estrés de la pared vascular puede activar directamente los canales de potasio calcio-dependientes y activar la cNOS, pero en la circulación pulmonar se necesita la estimulación del receptor para que se produzca la entrada de calcio.

Además de la síntesis por las NOS se ha demostrado la formación no enzimática de NO en condiciones de acidosis por isquemia <sup>51</sup>.

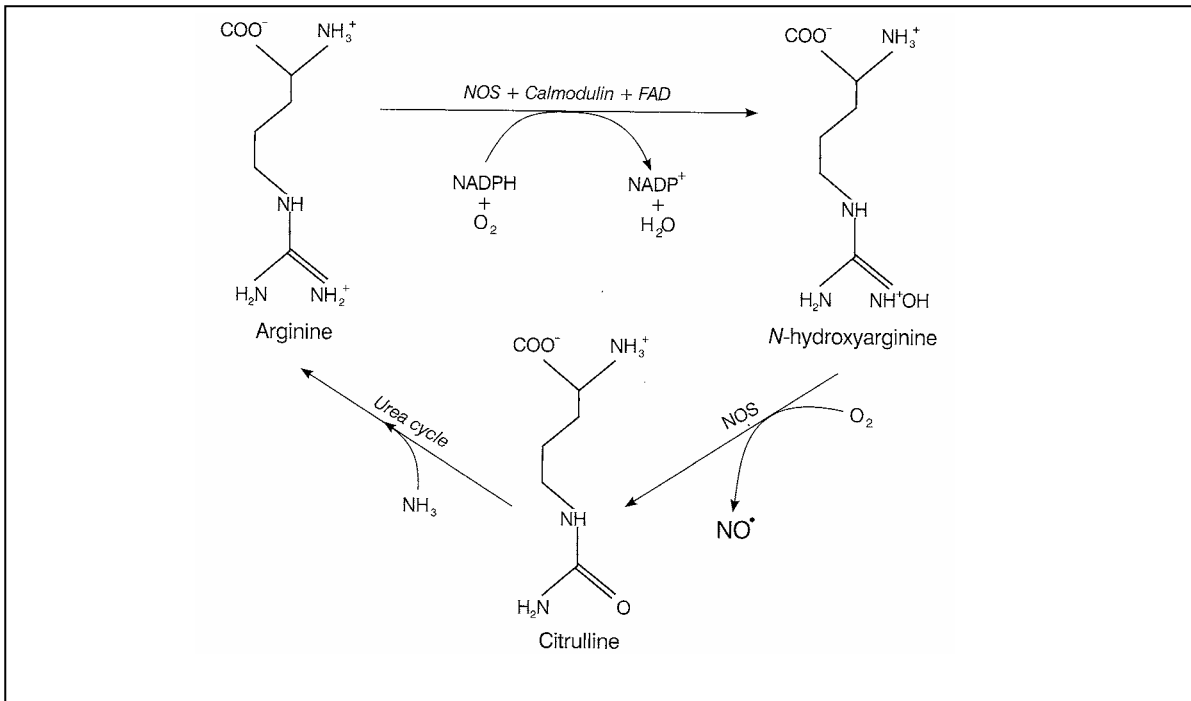


Figura 1. Producción bioquímica del NO. Tomada de Nunn's: Applied Respiratory Physiology 5ª edición.

### 2.2.1.2.1 Óxido Nítrico Sintetasas

Se han identificado tres tipos de isoenzimas similares en estructura y función, que proceden de cromosomas diferentes. Las tres isoformas son homólogas de la citocromo p450 reductasa y difieren en la secuencia de aminoácidos, la distribución tisular, los cofactores requeridos y la regulación de su actividad (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación y características de las óxido nítrico sintasas (NOS).

	Tipo I	Tipo II	Tipo III
Designación	nNOS	iNOS	eNOS
Expresión	Constitutiva	Inducible	Constitutiva
Ubicación intracelular	Citosólica	Citosólica	Membrana
Activación por $\uparrow$ $\text{Ca}^{2+}$	>100 nM	-	>100 nM
Producción de NO	Picomoles	Nanomoles	Picomoles
Cromosoma	12q24.2	17cen-q12	7q35-36

nNOS: neuronal. iNOS: inducible. eNOS: endotelial

La designación de las NOS depende del tipo de célula donde se identificaron por primera vez, aunque posteriormente se han aislado en una gran variedad de tejidos. La clasificación en constitutivas e inducibles no es categórica, ya que estudios recientes muestran que la expresión de las isoenzimas constitutivas es susceptible de regulación y que la inducible se expresa constitutivamente en determinadas células sin estimulación previa <sup>52</sup>.

La nNOS fue la primera en ser aislada y clonada en neuronas de rata y de cerdo. Es responsable de multitud de funciones en diversos tejidos. En el sistema nervioso periférico el NO actúa como neurotransmisor regulando la relajación del músculo liso en el aparato gastrointestinal, urogenital y en las vías respiratorias a través de las neuronas no adrenérgicas no colinérgicas <sup>53</sup>. En el sistema nervioso central regula innumerables procesos como la circulación, a través de los nervios vasodilatadores presentes en los grandes vasos, modula el almacenamiento de información e interviene en los procesos de memoria, comportamiento y percepción del dolor, entre otros. En el músculo esquelético regula la fuerza contráctil, el desarrollo de los miocitos y su inervación. Se ha aislado en las terminales nerviosas cardíacas que regulan la liberación de catecolaminas y en la retina donde interviene en control de la producción de fotorreceptores y células bipolares <sup>54</sup>.

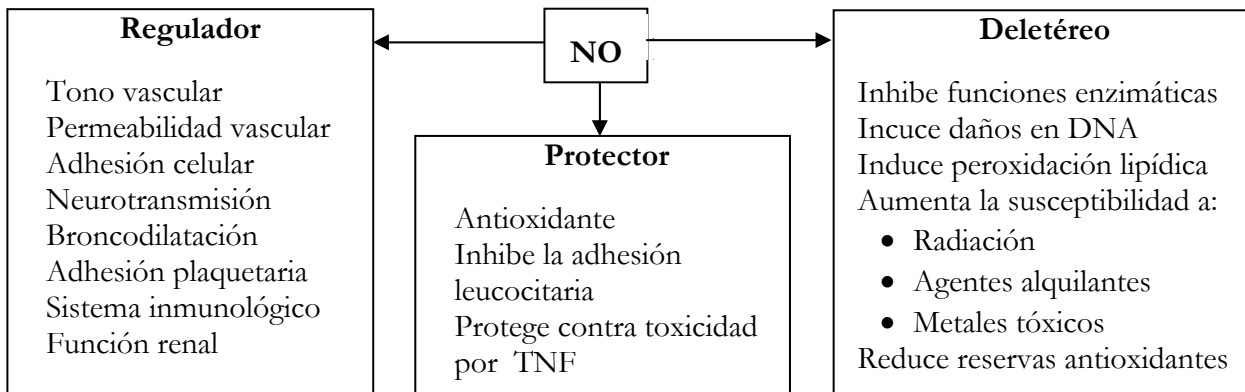
La eNOS fue inicialmente aislada en el endotelio vascular y su función mejor conocida es la regulación del tono vascular tanto en la circulación sistémica como en la pulmonar. La acetilcolina, la bradikinina y otros mediadores que aumentan la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular aumentan su actividad, aunque el mayor estímulo es el

estrés de rozamiento por flujo de la pared vascular. Tiene un papel primordial en el proceso de desarrollo y maduración pulmonar variando su expresión en el tejido pulmonar fetal según el grado de maduración <sup>55</sup>. Alteraciones en la expresión de la eNOS en el endotelio pulmonar están relacionadas con estados patológicos como la hipertensión pulmonar crónica <sup>56</sup>.

La iNOS se aisló originalmente en macrófagos activados de ratón, pero se ha encontrado en muchos tipos de células de la respuesta inmunitaria. Esta variante se expresa en respuesta a la estimulación infecciosa por endotoxinas o inmunológica por citokinas, como el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), la interleukina-1 (IL-1) interferón  $\alpha$  (IF- $\alpha$ ). Su expresión contribuye al efecto citotóxico o citostático del sistema inmune y se inhibe por los corticoides a altas dosis. Es capaz de sintetizar elevadas concentraciones de NO durante mucho tiempo causando vasodilatación arterial e hipotensión en la sepsis <sup>57</sup>.

### 2.2.1.3 Efectos biológicos del NO

La fisiología del NO es extremadamente compleja ya que incluye numerosas reacciones potenciales <sup>58</sup> ya sea como regulador, protector o citotóxico.



Probablemente la ambivalencia del NO es la cuestión más desconocida hasta ahora y la que suscita más controversia. Esta dualidad de función se manifiesta en prácticamente todos los campos en los que está implicado. Según el lugar donde se produce, el entorno bioquímico y la concentración local de NO presente o generada, puede actuar como mensajero en la regulación de muchos procesos fisiológicos,



citoprotector contra el estrés oxidativo o reaccionar como un potente citotóxico capaz de desencadenar múltiples procesos patológicos.

Las acciones biológicas del NO se han clasificado en directas e indirectas.

#### *2.2.1.3.1 Acciones directas*

Se producen a las concentraciones fisiológicas de NO (en el rango nanomolar) y son las derivadas de la unión directa del NO a las biomoléculas que contienen metales de transición y a determinados radicales libres (Tabla 3).

La gran mayoría de los efectos biológicos directos del NO están mediados por la activación del enzima guanilato ciclasa soluble (sGC)<sup>59</sup>, que se produce a concentraciones bajas de NO (EC<sub>50</sub>: 100 nM). Este enzima cataliza la transformación del guanosina 5'-trifosfato (GTP) en 3',5' guanosín monofosfato cíclico (cGMP) y pirofosfato. El cGMP es un segundo mensajero presente en el citoplasma de prácticamente todas las células de los mamíferos y actúa a través de diferentes dianas como proteinquinas específicas (PKG), canales iónicos y fosfodiesterasas (PDE).

Se conocen dos tipos de PKG (PKG I y PKG II) de las cuales la PKG I es la más importante en la mediación de los efectos del NO <sup>60</sup>. La relajación del músculo liso se produce por la fosforilación de determinadas moléculas diana que conducen a la disminución de la concentración de Ca<sup>2+</sup> intracelular y la defosforilación de las cadenas ligeras de miosina. La disminución de la agregación de las plaquetas se produce por la fosforilación y consiguiente inhibición del receptor A<sub>2</sub> del tromboxano en las mismas.

Los canales iónicos dependientes del cGMP son catión inespecíficos, se encuentran en muchos tejidos y regulan por ejemplo la fototransducción de los bastones y los conos en la retina.

El aumento de la concentración de cGMP inducido por el NO y por tanto su actividad es contrarrestada por la activación de las fosfodiesterasas (PDE), enzimas responsables de su rápida hidrólisis a GMP. Hay once familias de PDE, la más conocida es la PDE I que inactiva tanto el cGMP como el cAMP y la PDE V que es específica para el cGMP.

## Introducción

El balance de la actividad de la sGC y PDE está sometido a un estricto control que permite la rápida adaptación a los cambios de NO disponible. A altas concentraciones de NO se produce una desensibilización del sistema por inhibición de la sGC y por la activación de las PDE <sup>61</sup>. En cambio a bajas concentraciones se produce un aumento de la sensibilidad al NO <sup>62</sup>.

**Tabla 3. Acciones directas del óxido nítrico**<sup>58</sup>

Reacción	Molécula diana	Efecto	Repercusión fisiológica
Fe heme	Guanilatociclasa	Activación	Vasodilatación, Disminución de la agregación de plaquetas Disminución de la adhesión de leucocitos Transducción de señal en el sistema nervioso Inhibición de la proliferación celular, etc.
	Citocromo p-450	Inhibición	Regulación del metabolismo de los esteroides, eicosanoides y fármacos.
	Ciclooxigenasa	Activación/ inhibición	Modulación de la respuesta inflamatoria
	Catalasa	Inhibición	Potenciación de la citotoxicidad por H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
	Citocromo C oxidasa	Inhibición	Regulación de la respiración celular
	NOS	Inhibición	Autorregulación de la producción de NO
	Hemoglobina	Formación de nitrosilHb	Regulación alostérica de la liberación de O <sub>2</sub> y oxigenación tisular. Transporte de NO
Fe no heme	Tromboxano sintetasa	Inhibición	Disminución de la formación de leucotrienos proinflamatorios
Reacciones rédox	Hemoglobina	Formación de Meta Hb	Catabolismo del NO
	Metales hipervalentes	Reducción	Disminución del estrés oxidativo
Fe-S clusters	Aconitasa mitocondrial	Inhibición	Reducción de la respiración mitocondrial
	Aconitasa citoplasmática	Inhibición	Disminución de la síntesis de ferritina, Regulación de la homeostasis del Fe
Radicales libres	hidroxiperóxidos lipídicos	Eliminación	Reducción del estrés oxidativo Protección vascular

### 2.2.1.3.2 Acciones indirectas

Las acciones indirectas del NO aparecen cuando el NO alcanza concentraciones superiores (en el rango micromolar) y de forma sostenida, sobre todo como resultado de la expresión de la iNOS. Estos efectos derivan fundamentalmente de la reacción del NO con oxígeno o superóxido dando lugar a la formación de especies reactivas de los óxidos de nitrógeno (RNOS) con actividad bioquímica característica, en concreto trióxido de dinitrógeno y peroxinitrito. A su vez estas RNOS darán lugar a reacciones de

nitrosilación (adición del anión  $\text{NO}^+$ ), nitración (adición de  $\text{NO}_2^+$ ) y oxidación (sustracción de uno o dos electrones del sustrato).

- Trióxido de dinitrógeno ( $\text{N}_2\text{O}_3$ )

El trióxido de dinitrógeno es una especie altamente nitrosante con una vida media de 1 ms que en condiciones fisiológicas tiene escasa relevancia. Sin embargo, en la fase hidrofóbica de las membranas la producción puede multiplicarse por 15.000 en condiciones de elevado flujo de NO, debido a la mayor solubilidad del NO y el  $\text{O}_2$  <sup>63</sup>.

La principal reacción del trióxido de dinitrógeno es la nitrosilación de aminas y tioles dando lugar a N-nitrosaminas y S-nitrosotioles <sup>48</sup>. Las N-nitrosaminas se han relacionado con la carcinogénesis en procesos inflamatorios crónicos <sup>64</sup>.

Los S-nitrosotioles ejercen multitud de funciones biológicas en la célula, de hecho se cree que la S-nitrosilación de proteínas actúa como un mecanismo regulador de la función de las mismas de forma similar a la fosforilación <sup>65</sup>. Entre las moléculas diana de las reacciones de S-nitrosilación se encuentran canales iónicos, receptores de membrana, factores de transcripción de ADN, reguladores del estado redox celular y proteínas implicadas en múltiples vías metabólicas y en sistemas de amplificación de señal.

Los S-nitrosotioles se encuentran también unidos a proteínas del plasma cuya estabilidad y capacidad de donar NO les permite actuar como reserva y transporte de esta molécula. La S-nitrosoalbúmina es el S-nitrosotiol más abundante en el plasma alcanzando concentraciones de 5  $\mu\text{M}$  <sup>66</sup>. La S-nitrosohemoglobina es capaz de transportar NO interviniendo en la regulación de la microcirculación y la oxigenación tisular modulando la afinidad del la Hb por el  $\text{O}_2$ . Al entrar en la circulación pulmonar la Hb tiene más afinidad por el  $\text{O}_2$  y los grupos tiol que contiene tienen más afinidad por el NO, al llegar a la circulación periférica va cediendo  $\text{O}_2$  y aumenta la liberación de NO dilatando los vasos y permitiendo la distribución de  $\text{O}_2$  <sup>67</sup>.

- Peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ )

En condiciones fisiológicas la formación de peroxinitrito es mínima debido a que el superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) es eliminado por la superóxido dismutasa (SOD) y el NO se une

rápidamente a la hemoglobina. Sin embargo, cuando las concentraciones de NO y superóxido aumentan de forma equimolar o hay déficit de SOD, el peroxinitrito se produce en grandes cantidades. A dosis bajas puede ejercer funciones similares a las del NO, o unirse a azúcares o tioles de proteínas que actúan como donadores de NO.

Sin embargo, los efectos más importantes del peroxinitrito son los citotóxicos por oxidación, peroxidación o nitrosación de lípidos, tioles, proteínas y ácidos nucleicos en muchas condiciones patofisiológicas como la inflamación, isquemia-reperfusión y shock. La citotoxicidad es protectora cuando va dirigida contra microorganismos patógenos o células tumorales.

### **2.2.1.4 Metabolismo y Eliminación**

La vida media del NO en la circulación es de 111 a 130 ms<sup>68</sup>, puesto que es rápidamente inactivado por su unión a las moléculas diana. La vía principal de eliminación es la unión a la hemoglobina, convirtiéndose de esta forma en nitrosilhemoglobina (NOHb). En presencia de O<sub>2</sub> el grupo hemo de la nitrosilhemoglobina (Fe<sup>2+</sup>) es rápidamente oxidado (Fe<sup>3+</sup>), dando lugar a metahemoglobina (MetaHb), nitratos y nitritos residuales. A diferencia de otros ligandos de la Hb como el CO<sub>2</sub> y el O<sub>2</sub>, el NO puede unirse en estado oxidativo férrico (Fe<sup>3+</sup>) o ferroso (Fe<sup>2+</sup>). La relación entre la velocidad de captación y liberación de NO por la Hb es de 10<sup>5</sup> a 10<sup>6</sup> mayor que la del O<sub>2</sub>. La MetaHb es regenerada a Hb principalmente por la metahemoglobina reductasa en los hematíes. La mayor parte de los nitratos son eliminados por la orina, aunque una pequeña parte se elimina por la saliva donde se transforma en nitrito.

### **2.2.1.5 Aplicaciones terapéuticas**

La constante ampliación de conocimientos en torno al papel que juega el NO en los sistemas cardiopulmonar, respiratorio, nervioso e inmunitario, junto con la identificación y aislamiento de los diferentes enzimas que sintetizan el NO, ha permitido plantear nuevas estrategias diagnósticas y terapéuticas. En este sentido se están utilizando la determinación del NO exhalado, la manipulación farmacológica o genética de los enzimas NOS, la administración de donadores de NO y de NO inhalado.

## **2.2.2 ÓXIDO NÍTRICO INHALADO**

### **2.2.2.1 Efectos fisiológicos**

Los efectos biológicos del óxido nítrico inhalado (iNO) se empezaron a estudiar en 1991 en distintos modelos experimentales y todavía hoy siguen siendo objeto de intensa investigación.

#### *2.2.2.1.1 Vasodilatación pulmonar selectiva*

El iNO se comporta como un vasodilatador pulmonar selectivo. Su efecto se limita a los vasos pulmonares próximos a su lugar de administración, ya que, al igual que el NO endógeno, es rápidamente inactivado por la hemoglobina. De esta forma se impide su acceso y por tanto su efecto en los vasos sistémicos <sup>69,70</sup>. El iNO es especialmente efectivo en revertir la hipertensión pulmonar por hipoxia. En un modelo de hipoxia alveolar en ovejas despiertas el NO inhalado se comportó como un vasodilatador pulmonar selectivo sin modificar el gasto cardíaco ni la presión arterial sistémica <sup>71</sup>. Este efecto se ha demostrado en otros modelos animales y en pacientes con hipertensión pulmonar <sup>72</sup> y síndrome del distrés respiratorio del adulto (SDRA) <sup>73,74</sup>.

El lugar exacto de la vasculatura pulmonar donde ejerce su efecto el iNO no está totalmente definido. Se ha localizado a nivel precapilar <sup>75</sup>, en las pequeñas arterias y venas <sup>76</sup> o distribuido uniformemente a lo largo de toda la vasculatura pulmonar desde las arteriolas hasta las venas incluyendo la microcirculación <sup>77</sup>. Todos estos estudios experimentales realizados en pulmones aislados de diferentes especies sometidos a distintos estímulos vasoconstrictores sugieren que el iNO actúa sobre las arterias o venas con un tono basal aumentado y que se encuentran en las proximidades del alvéolo.

#### *2.2.2.1.2 Vasodilatación selectiva de las áreas ventiladas*

El NO inhalado vasodilata solo los vasos adyacentes a los alvéolos a los que accede, es decir, los que reciben una correcta ventilación. Este efecto facilita la redistribución de flujo hacia las zonas mejor oxigenadas procedente de las áreas mal ventiladas e hipóxicas, contribuyendo a una disminución del *shunt* y una mejoría de la oxigenación. La potenciación de la VPH del NO se ha demostrado en diferentes

modelos de alteración de la relación ventilación/perfusión intrapulmonar como la lesión pulmonar por ácido oleico <sup>78</sup> o el lavado pulmonar <sup>79</sup>. Sin embargo, la eficacia del iNO depende del grado de alteración de la relación V/Q predominante, siendo mayor en presencia de *shunt*. Si el NO accede y vasodilata áreas con baja relación V/Q, la PaO<sub>2</sub> puede aumentar, disminuir o no modificarse en absoluto <sup>80</sup>.

En un modelo animal de lesión pulmonar por endotoxina, nuestro grupo observó que el NO inhalado actúa como vasodilatador pulmonar selectivo reduciendo el *shunt* derecha-izquierda y aumentando la PaO<sub>2</sub> <sup>81</sup>. El mismo efecto se ha demostrado en pacientes con SDRA <sup>70</sup>.

### ***2.2.2.1.3 Broncodilatación***

El NO participa en la regulación del tono bronquial como lo demuestra la presencia del enzima NOS en el epitelio bronquial y en las terminales nerviosas no adrenérgicas no colinérgicas, aunque su papel exacto se desconoce. A pesar de que en diferentes tipos de animales se ha demostrado el efecto broncodilatador del iNO<sup>82</sup>, en pacientes con asma bronquial o en la broncoconstricción por metacolina este efecto es débil <sup>83</sup>.

### ***2.2.2.1.4 Otros efectos pulmonares***

El surfactante pulmonar se sintetiza en los neumocitos tipo II y está compuesto por proteínas y fosfolípidos. Su función principal es disminuir la tensión superficial de la pared alveolar permitiendo una expansión homogénea del pulmón, facilitando así el intercambio de gases. También ejerce un papel protector actuando como antimicrobiano. El NO inhibe la secreción de surfactante *in vitro*. En ovejas, la inhalación de NO en concentraciones de (80-200 ppm) alteró la actividad del surfactante inhibiendo la agregación lipídica de la proteína A, un efecto relacionado con la formación de peroxinitrito y la aparición de nitrotirosina <sup>84,85</sup>. La formación de NO<sub>2</sub> en las vías aéreas distales altera la actividad y el metabolismo del surfactante <sup>86</sup>. También se ha demostrado que la metahemoglobina inactiva el surfactante, por tanto en situaciones en las que la hemoglobina esté presente en el espacio alveolar (edema pulmonar) la inhalación de NO puede dar lugar a la generación de metahemoglobina y a la inactivación del surfactante <sup>87</sup>.

El iNO atenúa la lesión endotelial inhibiendo la adhesión de neutrófilos. Bajas dosis de NO inhalado (5 ppm) disminuyeron la actividad y el número de neutrófilos y la formación de superóxido en el pulmón de ovejas prematuras <sup>88</sup>. A dosis de 50 ppm el iNO redujo la migración de neutrófilos desde el espacio vascular al alveolar <sup>89</sup>. Este efecto se explica por la inhibición de la expresión de moléculas de adhesión en la superficie de los leucocitos <sup>90</sup>, además puede estimular la apoptosis de los neutrófilos en el pulmón <sup>91</sup>. La disminución del número de neutrófilos y de su actividad oxidativa en el pulmón durante la inhalación de NO también atenúa la lesión pulmonar en estados patológicos como en la sepsis por pseudomonas <sup>92</sup> y la lesión pulmonar por IL-1 <sup>89,93</sup>. El efecto protector de la lesión inflamatoria pulmonar se ha relacionado con el momento de la administración, es decir el iNO parece proteger si se administra antes o al inicio del proceso de lesión por endotoxina <sup>94</sup>, en cambio, si se administra una vez establecida la lesión el iNO puede tener el efecto contrario <sup>95</sup>.

El iNO disminuye la permeabilidad de la microvasculatura pulmonar en ovejas sometidas a endotoxemia <sup>96</sup> y en pacientes con lesión aguda pulmonar (ALI) <sup>97</sup>. También se ha relacionado con la modulación del movimiento ciliar del epitelio bronquial y con la secreción de la mucosa <sup>98</sup>.

Otros efectos beneficiosos del NO que potencian su acción en la vasculatura son la inhibición de la producción de endotelina y de tromboxano, la estimulación de la producción de prostaciclina y la inhibición de la agregación de las plaquetas.

#### *2.2.2.1.5 Efectos sistémicos*

A pesar de que el iNO actúa principalmente en el pulmón, estudios recientes sugieren que también tendría efecto en la vasculatura sistémica por dos mecanismos que le permiten eludir su rápida eliminación. Uno sería la unión a moléculas transportadoras que liberan NO en la circulación periférica como ya se ha citado. La S-nitrosoalbúmina es un compuesto bioactivo que en perros produce vasodilatación coronaria, venodilatación e inhibición plaquetaria <sup>99</sup>. La nitrosilación de tioles presentes en la Hb da lugar a la formación S-nitrosohemoglobina que regula la microcirculación tisular periférica. Una nitrosilación inadecuada de la Hb durante la inhalación de NO puede interferir con la adaptación del transporte al consumo de O<sub>2</sub> por los tejidos. El otro

mecanismo sería la modificación de plaquetas y leucocitos durante su paso por el pulmón. Altas concentraciones de NO inhalado pueden disminuir la actividad plaquetaria y aumentar el tiempo de sangría.

El acceso de NO inhalado a la circulación sistémica puede explicar muchos de sus efectos en diferentes territorios vasculares. Se ha descrito la reversión del secuestro leucocitario y la alteración de la permeabilidad mesentérica inducida por endotoxinas <sup>100</sup>, reducción de la adhesión leucocitaria en la circulación mesentérica <sup>101</sup>, disminución de las resistencias vasculares sistémicas (RVS) tanto en perros sépticos como en los controles normales <sup>102</sup>, disminución de la formación de neointima en los vasos secundaria a lesión vascular <sup>103</sup> o el incremento del gasto urinario independientemente de los parámetros hemodinámicos <sup>104</sup>.

### **2.2.2.2 Metabolismo del NO inhalado**

El NO inhalado sigue las mismas vías metabólicas ya descritas para el NO endógeno. Prácticamente se absorbe el 90% del NO inhalado una vez alcanzado el equilibrio, el 70% se excreta por la orina en forma de NO<sub>3</sub> en 48 horas, el 30% restante se excreta en forma de NO<sub>2</sub> por la saliva o se convierte en N<sub>2</sub> gas en el intestino desde donde se reabsorbe y se convierte en urea a través del hígado.

### **2.2.2.3 Aplicaciones del NO inhalado**

#### *2.2.2.3.1 Insuficiencia respiratoria hipóxica e hipertensión pulmonar persistente (HPP) del recién nacido*

Este síndrome se caracteriza por hipertensión pulmonar, hipoxemia y acidosis severas que no responden a la oxigenoterapia.

- Estudios experimentales

Los primeros estudios se realizaron en ovejas recién nacidas hipóxicas e hipercápnicas o con hipertensión pulmonar inducida. La administración de iNO disminuyó la PAP y mejoró significativamente la supervivencia en estos animales<sup>105,106</sup>.



- Estudios clínicos

Los primeros estudios clínicos con recién nacidos a término con HPP demostraron una rápida mejoría de la oxigenación con el NO inhalado <sup>107,108</sup>. Los estudios randomizados multicéntricos realizados en este tipo de pacientes muestran que el NO mejora la oxigenación, disminuye la necesidad de oxigenación extracorpórea (ECMO) y tiende a mejorar la supervivencia <sup>109</sup>. A raíz de estos estudios, la *Food and Drug Administration* (FDA) aprobó por primera vez el uso de iNO en pacientes. Los estudios de seguimiento a largo plazo no revelan diferencias en el desarrollo psicomotor, crecimiento, o la incidencia de enfermedades respiratorias al compararlos con los niños que recibieron otros tratamientos <sup>110</sup>.

#### *2.2.2.3.2 Síndrome del distrés respiratorio del adulto (SDRA) y lesión pulmonar*

- Modelos experimentales

La efectividad del iNO como vasodilatador pulmonar selectivo se ha demostrado en múltiples modelos animales de hipertensión y lesión pulmonar como la mediada por tromboxano <sup>71</sup>, la reacción heparina-protamina <sup>111</sup>, instilación de ácido oleico <sup>112</sup>, deplección de surfactante por lavado pulmonar bilateral <sup>79</sup>, lesión pulmonar por inhalación de humo <sup>113</sup> y por administración de endotoxina <sup>114</sup>. También se ha estudiado el papel protector del NO en la lesión pulmonar por las especies reactivas del oxígeno y los oxidantes derivados de los neutrófilos <sup>115</sup>.

- Estudios clínicos

En pacientes con SDRA también se ha demostrado la eficacia del iNO <sup>74,116-118</sup>. Además de disminuir selectivamente la PAP y las RVP, el iNO mejora rápidamente la oxigenación en la mayoría de los pacientes, aunque no en todos. A pesar de estos datos positivos, no se ha podido demostrar un aumento de la supervivencia en los pacientes con SDRA tratados con iNO <sup>119,120</sup>. Esta indicación no está todavía aprobada aunque se está trabajando en la elaboración de guías clínicas que regulen su utilización. En la actualidad la investigación en este campo se centra en medidas que potencien el efecto del iNO.

### *2.2.2.3.3 Hipertensión pulmonar crónica (HTP)*

La persistencia de HTP induce la neomuscularización vascular de forma irreversible que conduce a la perpetuación de la hipertensión y a la hipertrofia del ventrículo derecho.

- Modelos experimentales

En ratas sometidas a hipoxia crónica el iNO previno la remodelación vascular, la HTP y la hipertrofia ventricular D <sup>121</sup>.

- Estudios clínicos

El efecto vasodilatador pulmonar selectivo permite utilizar el iNO como prueba diagnóstica del grado de respuesta vascular pulmonar al tratamiento vasodilatador en esta patología. La eficacia del iNO como tratamiento ambulatorio en pacientes con HTP crónica ya ha sido probada, aunque se requieren estudios de la toxicidad de este tratamiento en la administración a largo plazo. El iNO domiciliario puede ser una terapia útil en pacientes que esperan un trasplante pulmonar.

### *2.2.2.3.4 Cardiopatías congénitas y cirugía cardiaca*

La capacidad del iNO para disminuir las RVP sin repercusión sistémica en niños con cardiopatía congénita ha sido demostrada en varios estudios <sup>107,122</sup>. El iNO reduce la HTP y la necesidad de ECMO en el postoperatorio de los pacientes sometidos a corrección quirúrgica de las alteraciones cardíacas <sup>123</sup>. En pacientes sometidos a recambio valvular mitral o aórtico la inhalación de NO disminuye la HTP. También se ha descrito su eficacia después de cirugía de revascularización coronaria <sup>124</sup>.

### *2.2.2.3.5 Trasplante pulmonar*

- Modelos experimentales

Varios estudios realizados en animales prueban los efectos beneficiosos del iNO en la lesión por isquemia-reperfusión, la función del injerto, el aumento de la PAP y la oxigenación después del trasplante pulmonar <sup>125</sup>. También se ha visto que mejora la

oxigenación y la supervivencia del injerto en los pulmones procedentes de donantes a corazón parado si se administraba iNO antes y después del trasplante <sup>126</sup>.

- Estudios clínicos

El tratamiento con iNO se ha utilizado con buenos resultados en el postoperatorio del trasplante pulmonar para disminuir la PAP <sup>127</sup>. En un estudio retrospectivo el iNO mejoró la función del injerto y la oxigenación y redujo las complicaciones respiratorias y la mortalidad <sup>128</sup>. En un estudio prospectivo <sup>129</sup> el iNO no previno la lesión por isquemia-reperfusión pero si mejoró la oxigenación y disminuyó la PAP en estos pacientes.

#### *2.2.2.3.6 Edema pulmonar por la altura*

En un estudio realizado en montañeros, los sujetos con edema pulmonar que inhalaban NO presentaron una disminución de la PAP y un aumento de la PaO<sub>2</sub> <sup>130</sup> y la combinación de iNO con oxígeno tuvo efectos aditivos beneficiosos en estos parámetros<sup>131</sup>.

#### *2.2.2.3.7 Embolismo pulmonar y trombosis*

En un modelo porcino de embolia pulmonar por microesferas el iNO consiguió reducir la PAP, la PaCO<sub>2</sub> y la agregación plaquetaria. La inhalación de 80 ppm de NO también disminuyó la PAP y los acúmulos de plaquetas en los pequeños vasos pulmonares de las ratas a las que se les provocó trombosis pulmonar por colágeno <sup>132</sup>.

En pacientes se han publicado varios casos clínicos con buenos resultados <sup>133 134</sup>, aunque no hay estudios prospectivos al respecto.

#### *2.2.2.3.8 Enfermedad de células falciformes*

Esta enfermedad se caracteriza por la presencia de fenómenos vasooclusivos e isquemia. La hemoglobina S (HbS) desoxigenada se agrega en grandes polímeros dando lugar a deformaciones rígidas de los eritrocitos que la contienen y la obstrucción de los capilares a su paso. Además la HbS tiene una menor afinidad por el O<sub>2</sub>. En un estudio en ratas la inhalación de 20 ppm de NO antes y durante el estímulo hipóxico aumentó la

significativamente la supervivencia de los animales afectados <sup>135</sup>. La inhalación de NO por voluntarios con esta enfermedad disminuyó la P<sub>50</sub> de forma significativa por desviación de la curva de la disociación de la Hb a la izquierda.

### ***2.2.2.3.9 Ventilación unipulmonar***

- Modelos experimentales

Los estudios realizados en modelos animales sometidos a hipoxia lobar demuestran que la inhalación de NO disminuye el *shunt* y aumenta la PaO<sub>2</sub> <sup>80</sup>. Otros efectos beneficiosos del iNO en este modelo son la disminución de la PAPM, las RVP y del flujo hacia el lóbulo hipóxico <sup>136</sup>.

- Trabajos clínicos

Los estudios realizados en pacientes bajo ventilación unipulmonar obtuvieron resultados dispares. El iNO disminuyó las PVR en aquellos casos en que estas estaban aumentadas sin cambios en la oxigenación <sup>1</sup>. Sin embargo en pacientes que no presentaron hipoxia o cambios en la hemodinámica pulmonar durante la ventilación unipulmonar, el iNO no tuvo efecto significativo <sup>137,138</sup>. La respuesta al iNO en cuanto a la oxigenación fue positiva en algunos estudios <sup>139,140</sup>, mientras que en otros no se obtuvo mejoría <sup>141</sup>.

## **2.2.2.4 Administración de óxido nítrico inhalado**

### ***2.2.2.4.1 Presentación***

El NO se comercializa disuelto en nitrógeno puro. Las concentraciones disponibles varían desde 200 a 1000 ppm. Actualmente existe una norma ISO (*International Standards Organisation*) para la identificación de los cilindros de NO con el color verde. También se ha desarrollado un sistema de conexión de gases específico para NO según la *Health Technical Memorandum 2002*. Sin embargo, después de la aprobación del iNO como tratamiento en neonatos, se comercializa como producto farmacéutico para su utilización clínica.

#### *2.2.2.4.2 Métodos de administración*

En 1994 un panel de expertos del *National Heart, Lung and Blood Institute* publicaron sus recomendaciones para una administración de NO segura y eficaz <sup>142</sup>, posteriormente Inglaterra y Francia publicaron normas similares. Recientemente en Europa se han elaborado unas guías de consenso para su administración.

Se han descrito muchos sistemas de administración de NO que se pueden clasificar en función del punto del circuito respiratorio donde se introduce el gas, ya sea antes o después del respirador.

Las ventajas de los sistemas en los que el NO entra en el circuito antes del respirador <sup>143</sup> son la estabilidad y homogeneidad de la mezcla de NO en los gases inspirados y la precisión de la concentración administrada independientemente del modo de ventilación y de los parámetros respiratorios del paciente. Las desventajas son el elevado coste de los reguladores de flujo controlados por microprocesador, la dificultad de administración de concentraciones bajas de NO y sobre todo, el riesgo de formación de NO<sub>2</sub> por el mayor tiempo de contacto entre NO y el O<sub>2</sub>. Por este motivo se suele incorporar un canister de cal sodada en el circuito que debe ser cambiada con frecuencia.

Los sistemas que incorporan el NO en algún punto de la rama inspiratoria pueden ser continuos o secuenciales. La ventaja es que minimizan el tiempo de contacto entre NO y O<sub>2</sub> y por tanto el riesgo de generación de NO<sub>2</sub>. Los más sencillos consisten en un caudalímetro que libera un flujo de NO de forma continua en la porción proximal de la rama inspiratoria. La principal desventaja es el riesgo de fluctuaciones importantes de la concentración administrada, especialmente en modos de ventilación no controlados. Este efecto es debido a la acumulación de NO en la tubuladura durante la espiración, que al sumarse al que entra durante la inspiración siguiente puede alcanzar concentraciones puntualmente elevadas de NO <sup>144,145</sup>. Cuanto más alejado esté el punto de entrada del NO en la rama inspiratoria del paciente más homogénea será la mezcla, no siendo aconsejable incorporar el NO en la pieza en Y <sup>146</sup>.

La administración secuencial de NO sincronizada con la fase inspiratoria evita el efecto bolus, consiguiendo concentraciones estables en ventilación controlada. Estos

sistemas utilizan un sensor de presión que detecta el inicio de la inspiración y abre la válvula solenoide que deja pasar el flujo de NO (Opti-NO®) <sup>117,145</sup>. Sin embargo, este sistema no garantiza la estabilidad de la concentración en otros modos de ventilación <sup>144</sup>.

Actualmente existen respiradores equipados con sistema de administración de NO, aunque todavía no se ha estandarizado el procedimiento. En cualquier caso, se debe prever un sistema de evacuación de los gases espirados para evitar la contaminación ambiental de la unidad. Los sistemas más utilizados son los que conectan la salida de gases del respirador al sistema de vacío central y los que hacen pasar el gas por un canister con material absorbente como la cal sodada.

### *2.2.2.4.3 Monitorización*

Las recomendaciones de los grupos de expertos en administración de NO coinciden en la necesidad de monitorizar de forma continua, precisa y reproducible las concentraciones de NO y NO<sub>2</sub> inspiradas, ya que las fórmulas para calcular la concentración no son suficientemente fiables y ambos gases son tóxicos si se supera su límite de exposición. El punto del circuito respiratorio aconsejable para obtener la muestra de gas es lo más próximo posible al paciente, donde la concentración es más homogénea. Los monitores de NO disponibles se diferencian en el método utilizado (quimioluminiscencia o electroquímico) y en la rapidez de respuesta. En ambos casos los monitores deben ser calibrados con frecuencia.

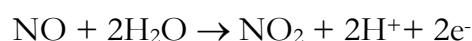
- Quimioluminiscencia

Es el método estándar de monitorización de NO. La reacción entre el ozono (O<sub>3</sub>) generado en el monitor y el NO libera un fotón de luz cuya intensidad es proporcional a la concentración de NO. Un fotomultiplicador y un microprocesador amplían y convierten respectivamente la señal en un valor numérico. El NO<sub>2</sub> sigue el mismo proceso después de ser convertido en NO en una cámara previa. La concentración final de NO<sub>2</sub> es la resultante de restar la concentración real de NO al total de los óxidos de nitrógeno medidos. Las ventajas principales respecto a otros sistemas son la sensibilidad, especificidad, rapidez y amplitud de rango de medida (ppb a ppm). Los monitores de segunda generación diseñados para uso médico tienen una rapidez de respuesta

suficiente para medir la concentración inspirada y espirada de gas. Las desventajas incluyen el elevado volumen de gas de muestra obtenido de la mezcla inspirada que obliga a ajustar el volumen minuto y dificulta el mantenimiento de la presión al final de la espiración (PEEP).

- Electroquímico

El gas analizado pasa a través de una membrana plástica a una solución electrolítica ácida que contiene un electrodo sensor (ánodo), un electrodo medidor (cátodo) y un electrodo de referencia. Si se mantiene el voltaje constante entre el ánodo y el cátodo la corriente que fluye es proporcional a la concentración de NO en el gas. La reacción electroquímica que tiene lugar en el electrodo varía según el monitor.



Estos monitores son más baratos y manejables que los de quimioluminiscencia, pero tienen un rango de medición menor. Pueden presentar interferencias con otros gases presentes en el aire espirado (amonio, etanol, CO y CO<sub>2</sub>), aunque los errores de lectura de NO son mínimos. La fiabilidad de los monitores en comparación con los de quimioluminiscencia ha sido demostrada por diferentes autores. Son más lentos de respuesta y por tanto no son aptos para detectar las fluctuaciones de concentración durante la administración de NO continua.

#### **2.2.2.5 Toxicidad y efectos secundarios del NO inhalado**

Los efectos tóxicos potenciales del NO pueden ser directos o derivados de las especies reactivas del NO y de la metaHb. La Administración Americana para la Seguridad y la Salud en el Trabajo (OSHA) recomienda unos límites de exposición ambiental de 25 ppm para el NO y de 5 ppm para el NO<sub>2</sub> durante 8 horas al día.

##### *2.2.2.5.1 Toxicidad directa por NO:*

En animales de experimentación la toxicidad por NO se relaciona con la dosis, el tiempo de exposición y la especie animal estudiada. La inhalación de altas dosis de NO

(> 500 ppm) produce edema y hemorragia alveolar, hipoxemia y muerte en pocas horas debido a la elevada producción de NO<sub>2</sub> en el perro anestesiado <sup>147</sup>. La administración de 10 ppm de NO en ratas durante 6 meses causó un aumento de la hemólisis, leucocitosis y lesiones degenerativas y necróticas en los pulmones, sin embargo la exposición a 2,4 ppm de NO toda su vida no produjo cambios histológicos <sup>148,149</sup>. La exposición a concentraciones de 17 ppm de NO y de 2 ppm de NO<sub>2</sub> durante un año causó cambios histológicos pulmonares en ratas, que se normalizaron posteriormente <sup>150</sup>. La susceptibilidad a presentar lesiones pulmonares con la inhalación de óxidos de nitrógeno difiere según las especies, así los monos y las cobayas toleran concentraciones 10 veces superiores de NO<sub>2</sub> que la rata.

La primera evidencia de toxicidad en humanos por NO se publicó en 1967 como resultado de la contaminación inadvertida de la fuente de óxido nitroso utilizado como anestésico en dos pacientes que presentaron edema pulmonar y metahemoglobinemia<sup>151</sup>. La administración clínica de bajas concentraciones de NO inhalado durante cortos periodos de tiempo es aparentemente segura. En 12 recién nacidos que recibieron 20 ppm de iNO durante 4 días no se encontraron signos de aumento de la peroxidación lipídica, alteración de la actividad del surfactante ni cambios en el perfil de citokinas <sup>152</sup>. El seguimiento a los 8 meses de pacientes con SDRA tratados con NO no mostró diferencias respecto a los no tratados en cuanto a la función pulmonar <sup>153</sup>. Sin embargo, sus efectos a largo plazo están aún por determinar ya que los estudios publicados al respecto son escasos.

### *2.2.2.5.2 Toxicidad por NO<sub>2</sub>*

El potencial tóxico del NO<sub>2</sub> es de 5 a 20 veces mayor a la del NO. A dosis superiores a 10 ppm se ha observado pérdida de los cilios, inflamación de la mucosa, edema pulmonar, hemorragia alveolar, lesiones de patrón enfisematosos y fibrosis intersticial en 5 especies diferentes <sup>154</sup> A mayores dosis es letal. En humanos se han descrito incremento de la resistencia de la vía aérea en asmáticos <sup>155</sup> y aumento de la respuesta inflamatoria en el lavado broncoalveolar en voluntarios sanos <sup>156</sup>. Otros efectos descritos son: aumento de la predisposición a presentar infecciones víricas, alteración del surfactante e inflamación difusa <sup>86</sup>.



### *2.2.2.5.3 Toxicidad por peroxinitrito*

La formación y los efectos citotóxicos del peroxinitrito ya se han discutido anteriormente. Sin embargo, el papel que juegan las moléculas derivadas del NO endógeno o inhalado en los procesos inflamatorios del pulmón es difícil de valorar. En dos niños que requirieron inhalación prolongada de NO se detectaron residuos de nitrotirosina en muestras de la vía aérea<sup>152</sup>, aunque la formación de esta especie se ha demostrado en lesiones pulmonares agudas no expuestas a NO exógeno.

### *2.2.2.5.4 Mutagenicidad, carcinogénesis y efectos antiproliferativos*

El NO y las especies reactivas derivadas son genotóxicos por tres mecanismos químicos: la producción nitrosaminas mutagénicas, la reacción directa de las RNOS con la cadena de DNA y la inhibición de sistemas enzimáticos necesarios para la reparación el DNA lesionado. Se ha demostrado que en un entorno aeróbico el NO produce desaminación de los nucleósidos, nucleótidos y ácidos nucleicos en cultivos de células de mamíferos<sup>157</sup> y la rotura de las cadenas de DNA de forma dosis dependiente<sup>158</sup>. Por otro lado, el NO protege el DNA de la lesión por peróxido<sup>159</sup>. Probablemente in vivo las alteraciones del DNA producidas por las especies reactivas de nitrógeno estén limitadas por el efecto protector del NO contra el estrés oxidativo.

Del mismo modo, el NO tiene un papel multidimensional en la carcinogénesis ya que se ha relacionado tanto con la prevención como con la iniciación de la misma<sup>48</sup>. Los tejidos que sufren exposiciones prolongadas a altas concentraciones de NO y de las especies reactivas derivadas, en situaciones de inflamación crónica, acumulan mutaciones que pueden originar tumores. A medida que estos crecen, el NO producido por la iNOS puede suprimir las células por mecanismos citotóxicos o citostáticos y posteriormente inhibir la angiogénesis, la capacidad metastásica y eliminar células por mecanismos apoptóticos.

El aumento de cGMP intracelular que ocasiona el NO tiene la capacidad de modular la síntesis de ADN y de disminuir la proliferación celular. Además, el NO inhibe la proliferación celular por mecanismos no dependientes del cGMP que no se conocen con exactitud. La inhalación de NO a dosis terapéuticas previene la

neomuscularización y la remodelación vascular pulmonar de ratas recién nacidas hipertensas <sup>160</sup>.

### ***2.2.2.5.5 Metahemoglobinemia***

Los iones nitritos reaccionan con la hemoglobina dando lugar a NOHb que se oxida rápidamente a metaHb. Ésta se regenera a Hb fundamentalmente por la acción de la enzima metaHb reductasa y en menor medida por la NADP deshidrogenasa, el ácido ascórbico y el glutathion reducido. Los valores fisiológicos de metahemoglobina están en torno al 1%, aunque en caso de déficit congénito de la metaHb reductasa se pueden alcanzar cifras del 20%.

La formación de metaHb durante la administración de iNO es dosis y tiempo dependiente, y su concentración en plasma debe ser analizada periódicamente ya que puede aumentar progresivamente en las exposiciones prolongadas. Se aceptan valores de metaHb < 5% del total de Hb, pero si se supera este límite se debe reducir o suprimir la inhalación de NO. La formación de metaHb a las dosis de iNO habitualmente utilizadas (< 80 ppm) es infrecuente. En una revisión de los estudios multicéntricos publicados de iNO se describieron solo tres casos de aumento de metahemoglobinemia que obligaron a retirar el tratamiento de un total de 471 pacientes que recibieron dosis variables. En voluntarios sanos la inhalación de 128 ppm elevó los niveles de metaHb a 3,75% alcanzando el equilibrio entre 3 y 5 horas <sup>161</sup>. Sin embargo, se ha descrito un caso de elevación de los niveles de metaHb de 67% durante la ventilación asistida con presión soporte y una concentración de NO de 20 ppm <sup>162</sup>. Los pacientes con más riesgo de presentar metaHb son los prematuros dado que la Hb fetal se oxida con más facilidad y pueden tener además déficit de metaHb reductasa. También tienen riesgo los pacientes que reciben altas concentraciones de NO durante largos periodos, los tratados con nitrovasodilatadores endovenosos y los que tienen alteraciones de la actividad de la metaHb reductasa adquirida o congénita.

El efecto tóxico de la metaHb empieza a concentraciones de 15% y se debe a la disminución de la liberación de O<sub>2</sub> a los tejidos por la marcada desviación de la curva de disociación hacia la izquierda. A partir del 15-20% aparece cianosis y a partir del 30% disnea. El tratamiento consiste en suprimir la inhalación de NO y administrar azul de

metileno, que permite disminuir rápidamente los niveles de metaHb aunque no la elimina.

#### *2.2.2.5.6 Efecto rebote*

La disminución brusca de las dosis de NO o la supresión de tratamiento puede dar lugar en algunos casos al empeoramiento de la hipertensión pulmonar y de la oxigenación junto con inestabilidad hemodinámica <sup>116,163,164</sup>. Cuatro pacientes afectados de SDRA tratados con NO presentaron hipoxemia severa al suspenderlo, que se resolvió al reiniciar el NO. Sin embargo, todos murieron las 24 horas siguientes a la supresión definitiva del NO <sup>165</sup>. Para evitar esta complicación se aconseja una reducción progresiva de la concentración de NO inhalado llegando hasta dosis de 1 ppm, antes de la supresión del tratamiento <sup>166</sup>. También se ha utilizado la administración de coadyuvantes como el dipiridamol, un inhibidor de la PDE V, después de la cirugía cardíaca en niños <sup>167</sup>. En caso de ser necesario el traslado de pacientes que reciben NO se debe prever un sistema de administración durante el transporte <sup>168</sup>.

El mecanismo implicado en dicho efecto rebote podría ser la reducción de la síntesis de NO endógeno inducida por la regulación negativa del NO inhalado <sup>169,170</sup>. El vasoespasmo podría verse exacerbado por vasoconstrictores como la endotelina-1 que está aumentada en la hipertensión pulmonar. Sin embargo, en ratas con hipertensión pulmonar hipóxica la inhalación de 20 ppm de NO durante tres semanas no reveló cambios en los niveles pulmonares de eNOS, ni en la actividad ni en la vasodilatación endotelio dependiente e independiente. La actividad de la sGC pulmonar se redujo inicialmente pero se recuperó a las 3 semanas de tratamiento <sup>171</sup>.

#### *2.2.2.5.7 Elevación del tiempo de sangría*

El NO inhibe la adhesión y la agregación de las plaquetas y puede producir alargamiento del tiempo de sangría. En conejos que inhalaban 3, 30 y 300 ppm de NO durante un periodo de solo 15 minutos se observó un aumento de la hemorragia <sup>172</sup>. El efecto en el tiempo de sangría en clínica es variable, así, en voluntarios sanos se ha descrito tanto la inhibición de la agregación y el alargamiento del tiempo de sangría <sup>173</sup>, como la ausencia de efecto sobre estos parámetros <sup>174</sup>. En pacientes con SDRA tratados

con dosis entre 3 y 100 ppm de iNO no se observaron alteraciones en este parámetro <sup>175</sup> en cambio otros autores encontraron alargamiento del tiempo de sangría y reducción de la expresión de P-selectina en este tipo de pacientes <sup>176</sup>. En estudios multicéntricos realizados en niños tratados con NO no se demostraron diferencias en el tiempo de sangría respecto al grupo control tratado con placebo <sup>177</sup>. Sin embargo, en un estudio reciente en neonatos el tiempo de sangría se dobló a los 30 minutos de iniciar la inhalación de 40 ppm de NO <sup>178</sup>.

El efecto antiagregante plaquetar del iNO podría tener valor terapéutico en determinadas situaciones patológicas.

### ***2.2.2.5.8 Disfunción ventricular izquierda***

En pacientes con severa disfunción ventricular izquierda se ha observado que la inhalación de NO produce vasodilatación pulmonar y aumenta la precarga izquierda, que a su vez causa un brusco aumento de las presiones de llenado de la aurícula izquierda y favorece la aparición de edema pulmonar <sup>179</sup>. En estos casos es recomendable la monitorización invasiva de la función cardíaca.

## **2.3 VASOCONSTRICCIÓN DEL PULMÓN NO VENTILADO**

La utilización sistémica de fármacos que potencian la VPH ha sido aplicada en modelos experimentales y también en pacientes para mantener una oxigenación adecuada en situaciones en las que predomina el *shunt* como ocurre en el SDRA o la neumonía. Muchos estudios demuestran que esta estrategia también es eficaz durante la ventilación unipulmonar. Entre las sustancias que han demostrado su capacidad de potenciar la VPH estudiamos los inhibidores de la síntesis de NO y los inhibidores de la síntesis de prostaglandinas.

### **2.3.1 INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DEL ÓXIDO NÍTRICO**

Las enzimas NOS son inhibidas por el propio NO, que se une al grupo prostético heme impidiendo la unión del O<sub>2</sub> y la activación de la L-arginina. Las formas constitutivas son mucho más sensibles a esta inhibición que la forma inducible de NOS.

Se han identificado y caracterizado otros inhibidores endógenos de las NOS, que son análogos de la L-arginina con modificaciones de grupo guanidino terminal. La N<sup>G</sup>-monometil L-arginina (L-NMMA) también se ha utilizado como inhibidor sintético y la dimetilarginina asimétrica (ADMA) se ha implicado en numerosos procesos patológicos (arteriosclerosis, hipertensión insuficiencia renal y cardíaca).

Los inhibidores sintéticos conocidos del grupo de enzimas son también análogos de la L-arginina con una modificación en el grupo amino de la misma. Actúan inhibiendo las enzimas NOS por un mecanismo competitivo de forma dosis dependiente y estereoespecífica para el enantiómero L. Las principales son la N<sup>G</sup>-monometil L-arginina (L-NMMA), que inhibe más la iNOS, la N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina (L-NAME) que inhibe más la cNOS, la N<sup>G</sup>-amino-L-arginina (L-NAA), la N-iminoetil-L-ornitina (L-NIO), la N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina (L-NA) y la aminoguanidina. Esta última es capaz de inhibir de forma selectiva la iNOS <sup>180</sup>.

El descubrimiento de la vía L-arginina-óxido nítrico-GMPc y la identificación de los análogos de la L-arginina como inhibidores competitivos del enzima NOS ha permitido establecer el papel del NO en múltiples procesos biológicos. Además, la posibilidad de manipular la producción de NO abrió una gran variedad de líneas de investigación sobre potencial terapéutico de los inhibidores.

En la circulación pulmonar, la síntesis basal de NO mantiene el bajo tono muscular de la pared arterial, dado que la administración de inhibidores de la NOS aumenta el tono vascular tanto en preparaciones de vasos aislados como en pulmones perfundidos <sup>181-184</sup>. *In vivo*, la administración de L-NAME también provoca una potente vasoconstricción atribuida a la inhibición de la síntesis de NO <sup>185</sup>. Sin embargo, en algunas especies los inhibidores no tienen ningún efecto en el tono basal de la vasculatura pulmonar como ocurre en cobayas<sup>186</sup> y en perros<sup>187</sup>. En un estudio realizado en ratas normóxicas la administración de L-NAME o L-NMMA no tuvo ningún efecto mientras que en las ratas expuestas a hipoxia crónica causaron un aumento de la PAP <sup>188</sup>. En cualquier caso, estos estudios pusieron de manifiesto que el aumento de las RVP producida por los inhibidores era mayor en condiciones de hipoxia que de normoxia, es decir que potenciaban de la respuesta vasoconstrictora hipóxica <sup>181,185,188-191</sup>.

Estos resultados han dado lugar, como se ha citado anteriormente, a dos teorías sobre el papel del NO en la VPH. Una de ellas sugiere que se produce una liberación de NO en respuesta a la VPH como mecanismo protector que impide una vasoconstricción excesiva. La otra considera que la inhibición de la síntesis basal de NO es el mecanismo que desencadena la respuesta vasoconstrictora <sup>192-195</sup>.

### **2.3.1.1 L-NAME**

La hipótesis de que los inhibidores del NO potencia la VPH y por tanto podrían redistribuir el flujo hacia zonas ventiladas con la consiguiente mejoría de la oxigenación fue investigada en modelos experimentales de hipoxia regional. La administración de L-NAME a conejos con hipoxia unilateral causó una redistribución de flujo hacia el pulmón ventilado y un aumento de la PaO<sub>2</sub> <sup>196</sup>, lo que sugiere una potenciación de la VPH en este modelo. En un estudio similar de hipoxia lobar en conejos, la infusión de L-NAME produjo una reducción de forma dosis dependiente del porcentaje de flujo sanguíneo del lóbulo no ventilado y un aumento de la PaO<sub>2</sub> <sup>197</sup>.

En clínica, se han utilizado los inhibidores de la NOS en el tratamiento de la hipotensión secundaria a la liberación masiva de NO como ocurre en el shock séptico. La administración sistémica de L-NMDA o de L-NAME revirtió la hipotensión en pacientes con shock refractario <sup>198-200</sup>. En algunos estudios se observó que además del aumento de la presión arterial los pacientes presentaron una disminución del QS/QT y una mejoría de la oxigenación <sup>201</sup>.

#### ***2.3.1.1.1 Efectos secundarios***

La administración de inhibidores de la síntesis de NO a altas dosis tiene un potente efecto vasoconstrictor y depresor cardíaco <sup>202</sup>. También se ha visto que produce una disminución del volumen plasmático probablemente secundario al aumento de permeabilidad vascular <sup>203</sup>, lo que resulta en una disminución de la precarga. Disminuye además el flujo renal. Por otro lado, se ha atribuido a la L-NAME y a otros inhibidores de la NOS un efecto inotrópico negativo <sup>202</sup> y vasoconstrictor coronario en modelos animales <sup>204,205</sup> y en humanos <sup>206</sup>.

### *2.3.1.1.2 Toxicidad*

En algunos modelos animales de shock endotóxico demostraron que la L-NAME tenía efectos deletéreos y aumentaba la mortalidad <sup>207,208</sup>. Los efectos negativos de los inhibidores de la NOS son dosis-dependientes. En un estudio realizado en conejos con endotoxemia a los que se les administró 300 mg/kg de L-NMMA presentaron un empeoramiento hemodinámico y un aumento de la mortalidad <sup>209</sup>. Las dosis utilizadas en clínica son muy inferiores <sup>198,199,210,211</sup> y no se han descrito efectos tóxicos relevantes atribuidos a la L-NAME.

## **2.3.2 INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE PROSTAGLANDINAS**

El pulmón tiene una gran capacidad para producir ácido araquidónico a partir de los fosfolípidos de membrana, que se metaboliza por dos vías metabólicas principales: la ciclooxigenasa y la lipooxigenasa. Uno de los principales productos de la vía de la ciclooxigenasa (COX) es un potente vasodilatador, la prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), que se sintetiza continuamente en condiciones basales. Se ha sugerido que en condiciones de hipoxia aumenta su producción, manteniendo así el flujo sanguíneo hacia estas zonas hipóxicas y oponiéndose a la HPV como mecanismo protector de una vasoconstricción excesiva<sup>196</sup>. La PGE<sub>1</sub> actúa también como vasodilatador en la circulación pulmonar <sup>212</sup> pero su producción endógena es escasa.

Las prostaglandinas vasodilatadoras juegan un papel importante en la regulación del flujo pulmonar. Actúan directamente en el músculo liso activando la adenilato ciclasa para sintetizar cAMP como segundo mensajero. Éste, activa proteinquinas intracelulares que, mediante la fosforilación de moléculas diana, reduce la concentración de Ca<sup>2+</sup> intracelular y produce la defosforilación de las cadenas de miosina dando lugar a la relajación de la fibra muscular.

Otras prostaglandinas sintetizadas en esta vía tienen el efecto contrario como el tromboxano y la PF<sub>2α</sub>, aunque se cree que tienen un papel secundario con respecto a la HPV. Por otro lado la vía de la lipooxigenasa da lugar a los leucotrienos, potentes vasoconstrictores que potencian la VPH y podrían actuar como mediadores en este proceso.

La utilización de inhibidores de la (COX) ha permitido poner de relieve la relación entre los derivados del ácido araquidónico y la VPH. El aumento del tono vascular pulmonar causado por la inhibición de la síntesis de prostaglandinas parece ser más intenso en las áreas hipóxicas. Se han publicado multitud de trabajos en los que la inhibición de la COX mediante la administración de diferentes fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINES) potenciaron la VPH en pulmones aislados y en animales de experimentación, fundamentalmente perros, en diferentes patologías pulmonares (Tabla 4).

**Tabla 4. Trabajos experimentales sobre el efecto de los inhibidores de las prostaglandinas en la vasoconstricción pulmonar hipóxica**

<b>AUTOR</b>	<b>MODELO</b>	<b>AINE</b>	<b>RESULTADO</b>
Garret R. C. 1983 <sup>213</sup>	Atelectasia lobar en perros	Meclofenamato	Disminuye el <i>shunt</i>
Light R. B. 1986 <sup>214</sup>	Neumonía en perros	Indometacina y AAS	Disminuye el <i>shunt</i>
Ali J. 1987 <sup>215</sup>	Edema lobar en perros	Indometacina 10 mg.kg <sup>-1</sup>	Disminuye el <i>shunt</i>
Hanly P. 1987 <sup>214</sup>	Neumonía en perros	Indometacina 2 mg.kg <sup>-1</sup>	Disminuye el <i>shunt</i> Mejora la oxigenación
Mayers I. 1987 <sup>216</sup>	Aspiración ácida en perros	Indometacina 5 mg.kg <sup>-1</sup>	Disminuye el <i>shunt</i> e índice cardíaco No reduce el edema pulmonar
Leeman M. 1988 <sup>217</sup>	Edema pulmonar en perros	Indometacina 2 mg.kg <sup>-1</sup> y AAS 1 g	Disminuye <i>shunt</i> Mejora la oxigenación
Shulman L. 1988 <sup>218</sup>	Ácido oleico en perros	Meclofenamato 2 mg.kg <sup>-1</sup>	Disminuye el <i>shunt</i> y aumenta la PaO <sub>2</sub> . No reduce el agua pulmonar
Calvin J. E. 1988 <sup>219</sup>	Embolismo pulmonar en perros	Ibuprofeno 25 mg.kg <sup>-1</sup>	Mejora oxigenación
Sprague R. S. 1984 <sup>220</sup>	Hipoxia unilateral en perros	Indometacina 5 mg.kg <sup>-1</sup> Meclofenamato 5 mg.kg <sup>-1</sup>	Disminuye el <i>shunt</i> Mejora la oxigenación

AAS: ácido acetilsalicílico

Sin embargo, no en todos los modelos experimentales se confirma el efecto beneficioso de la inhibición de la COX sobre el intercambio de gases. La indometacina no tuvo ningún efecto profiláctico en la lesión pulmonar por ácido oleico en ratas <sup>221</sup> o perros <sup>222</sup>, como tampoco lo tuvo el ibuprofeno en un modelo similar en ovejas <sup>223</sup>. Incluso se ha descrito el empeoramiento del intercambio de gases en un modelo de embolismo pulmonar en perros <sup>224</sup>.



La utilización de inhibidores de la síntesis de PG en pacientes también ha dado resultados dispares. En pacientes con SDRA la administración de una única dosis de indometacina disminuyó el *shunt* y mejoró la PaO<sub>2</sub> de forma significativa durante 8 horas<sup>225</sup>. Sin embargo, en pacientes con neumonía la administración de AAS no mejoró la oxigenación<sup>226</sup>.

### **2.3.2.1 Indometacina**

La indometacina es un AINE del grupo de los ácidos acéticos. Su mecanismo de acción es la inhibición del enzima ciclooxigenasa y por tanto de la formación de prostaglandinas. Su efecto inhibitor es más potente que el ácido acetilsalicílico y puede ejercer otros efectos sobre el tono vascular y bronquial independientes de las prostaglandinas<sup>227</sup>. Es uno de los inhibidores de la COX más utilizados en los trabajos relacionados con la HPV.

#### *2.3.2.1.1 Efectos secundarios*

Los AINES en general están asociados con la elevación de la presión arterial tanto en pacientes normotensos como hipertensos. Aunque el mecanismo de acción no se conoce con exactitud, la inhibición de la síntesis de las prostaglandinas juega un papel muy importante, ya que por un lado se atenúa el efecto vasodilatador de las prostaglandinas y por otro se produce un aumento de la retención de agua y de sodio.

De los AINES utilizados habitualmente, la indometacina es de los que presenta una mayor correlación entre su utilización y la hipertensión<sup>228</sup>.

## **2.4 ÓXIDO NÍTRICO INHALADO ASOCIADO A OTROS TRATAMIENTOS**

La toxicidad potencial del iNO y sus derivados obliga a ajustar la dosis cuidadosamente y a utilizar la mínima dosis eficaz. Por otro lado, la respuesta al iNO tanto en modelos experimentales como en pacientes muestra una gran variabilidad interindividual. De hecho, entre un 30 a 45% de los individuos presentan una respuesta débil o inapreciable al iNO según los estudios. Todo ello ha conducido a la búsqueda de

terapias y estrategias, que combinadas con el iNO, intensifiquen o prolongan su efecto y permitan disminuir la dosis utilizada.

### **2.4.1 COMBINACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO INHALADO CON OTROS FÁRMACOS**

Se han ensayado muchos principios activos, desde fármacos clásicos a novedosas sustancias actualmente en estudio, que constituyen un grupo heterogéneo no solo por su mecanismo de acción, sino también por las vías de administración.

#### **2.4.1.1 Óxido nítrico inhalado e inhibidores de la síntesis de óxido nítrico endógeno**

En algunos modelos experimentales de lesión pulmonar la combinación de iNO junto con la inhibición de su síntesis mejoró el intercambio de gases, aunque los resultados de algunos trabajos son controvertidos. En un modelo canino de lesión pulmonar por ácido oleico se observó una mejoría significativa de la relación V/Q con la combinación de iNO y L-NMMA<sup>78</sup>. Sin embargo, en un modelo de lavado pulmonar en ovejas la combinación de L-NAME y NO no fue significativamente mejor que el iNO solo<sup>79</sup>.

En otros modelos como la hipoxia lobar en conejos la combinación de iNO y L-NAME causó una disminución significativa de la perfusión del lóbulo hipóxico<sup>197</sup>.

#### **2.4.1.2 Óxido nítrico inhalado e inhibidores de las prostaglandinas**

Dado que la inhibición de la síntesis de PG puede potenciar la VPH en determinadas situaciones clínicas caracterizadas por la presencia de *shunt* intrapulmonar y que la inhalación de NO contribuye a la redistribución de flujo hacia las áreas ventiladas, la combinación de ambos tratamientos podría tener efectos sinérgicos. Sin embargo no hemos encontrado trabajos en los que combinen ambas terapias.

#### **2.4.1.3 Óxido nítrico inhalado e inhibidores de las fosfodiesterasas**

Como se ha comentado, el cGMP es hidrolizado por las PDE plasmáticas, por tanto la inhibición de estas enzimas da lugar a un aumento de los niveles de cGMP

potenciando así el efecto del iNO. Algunos de estos inhibidores se utilizan habitualmente en clínica como vasodilatadores y se diferencian por la especificidad del enzima inhibido.

El zaprinast es un inhibidor inespecífico de las PDE. Se utilizó por vía inhalatoria conjuntamente con iNO en ovejas despiertas con hipertensión pulmonar inducida causando vasodilatación pulmonar selectiva y potenciando además el efecto vasodilatador del NO <sup>229</sup>.

El dipiridamol, inhibidor también inespecífico, se utilizó para potenciar el efecto del iNO en un modelo de hipertensión pulmonar en ovejas recién nacidas <sup>230</sup> y en estudios clínicos <sup>231,232</sup>.

El sildenafil es un inhibidor más selectivo de la PDE V, que potenció el efecto vasodilatador del iNO en pacientes con hipertensión pulmonar y previno el efecto rebote en la retirada del tratamiento con iNO <sup>233</sup>.

#### **2.4.1.4 Óxido nítrico inhalado y almitrina**

La almitrina es un agonista de los quimiorreceptores periféricos que potencia la VPH. Su administración con el fin de aumentar la VPH ya se había demostrado eficaz en pacientes con SDRA antes de la introducción del iNO <sup>234</sup>.

Los primeros estudios realizados combinando la administración de almitrina con el iNO se llevaron a cabo en este tipo de pacientes y el resultado fue un aumento del efecto del iNO <sup>235-239</sup>.

También se utilizó esta combinación con buenos resultados durante la ventilación unipulmonar en 20 pacientes sometidos a toracoscopia <sup>2</sup>.

#### **2.4.1.5 Óxido nítrico inhalado y fármacos vasoconstrictores**

La utilización de vasoconstrictores como coadyuvantes del iNO ha sido utilizada en pacientes con SDRA con resultados variables. La administración de fenilefrina potenció el efecto del iNO en los pacientes con esta patología que habían respondido a la fenilefrina sola <sup>240</sup>.

La utilización de noradrenalina sin embargo, no tuvo ningún efecto beneficioso sobre la oxigenación en pacientes con SDRA <sup>241</sup>.

### **2.4.1.6 Óxido nítrico y estimuladores de la guanilato ciclasa soluble**

El reciente descubrimiento de sustancias que activan el enzima sGC para sintetizar cGMP independientemente del NO y que producen efectos similares a éste, abre un nuevo abanico de posibilidades terapéuticas.

El compuesto YC-1 estimula la producción de cGMP y aumenta la sensibilidad de la sGC al NO, por lo que presenta un efecto sinérgico con los donadores de NO *in vitro* <sup>242</sup>. Además actúa como inhibidor inespecífico de la PDE.

El compuesto BAY 41 8543 es un estimulador heme-dependiente que produce una potente vasodilatación *in vitro* en diferentes preparaciones vasculares y aumenta la sensibilidad del enzima al NO produciendo un efecto sinérgico <sup>243</sup>. En cambio, el BAY 58 2667 estimula la forma no heme del enzima y tiene un efecto aditivo en relación con el NO<sup>244</sup>.

El compuesto BAY 41 2272 además de estimular la sGC y aumentar la sensibilidad de la enzima al NO, actúa inhibiendo específicamente la PDE V con una potencia similar, por lo que presenta un efecto sinérgico con el NO <sup>245</sup>. *In vivo* se observó una actividad sinérgica con los donadores de NO en la inducción de la erección en conejos <sup>246</sup>.

## **2.5 MODELOS EXPERIMENTALES DE VENTILACIÓN UNIPULMONAR**

Los modelos experimentales utilizados en los diferentes estudios relacionados con la ventilación unipulmonar, difieren en factores como el tamaño del área hipóxica, el método para inducir la hipoxia alveolar o la colocación del animal. Estos aspectos interfieren en la fisiopatología y pueden influir en la variabilidad de los resultados.

### 2.5.1 ATELECTASIA *VERSUS* VENTILACIÓN HIPÓXICA

En algunos trabajos, la hipoxia alveolar se produce mediante la ventilación selectiva de un pulmón o lóbulo pulmonar con una mezcla hipóxica o anóxica, mientras que en otros se evita la ventilación causando una atelectasia por absorción. Aunque se ha demostrado que el papel más relevante en la disminución del flujo a las regiones hipóxicas es la VPH, en determinadas condiciones como la variación del GC, el factor mecánico del colapso pulmonar puede tener implicaciones adicionales.

En un estudio en perros no se encontraron diferencias en la magnitud de la VPH entre la ventilación hipóxica y la atelectasia de un lóbulo pulmonar durante la ventilación mecánica con el tórax abierto o cerrado <sup>247</sup>. Benumof en un estudio de hipoxia lobar en perros concluyó que la VPH es el mecanismo que disminuye el flujo al lóbulo hipóxico independientemente de si la causa es atelectasia o ventilación hipóxica <sup>248</sup>. Tampoco Domino y cols. <sup>14</sup> diferenciaron la hipoxia alveolar causada por atelectasia y por ventilación hipóxica en perros con el tórax abierto. Estos mismos autores en 1984 publicaron un trabajo en el que sugiere que la efectividad es la misma pero con diferencias en el tiempo de instauración. Algunos autores sugieren que los factores mecánicos pasivos no influyen en la distribución del flujo <sup>249</sup>.

Otros autores en cambio, encuentran diferencias significativas en la disminución de flujo hacia el lóbulo hipóxico dependiendo del mecanismo utilizado. La respuesta vasoconstrictora fue más intensa durante el colapso del lóbulo pulmonar que durante la ventilación hipóxica del mismo <sup>250</sup>. Probablemente la reducción de flujo al lóbulo colapsado se debe predominantemente a la VPH pero se intensifica por factores mecánicos durante el colapso y por la PCO<sub>2</sub> aumentada <sup>251</sup>. En este mismo estudio el aumento del GC aumentó el flujo en el lóbulo colapsado pero no en el ventilado con mezcla hipóxica. En un modelo de disminución del GC e hipoxia unilateral se observó un aumento del *shunt* en el colapso pulmonar, pero no en la ventilación hipóxica <sup>252</sup>. La presión intrapleurales también modifica la intensidad de la VPH de forma distinta en el colapso pulmonar que en la ventilación hipóxica <sup>253</sup>. Se ha sugerido menor efectividad de la HPV durante el colapso pulmonar que durante la ventilación hipóxica en perros con el tórax cerrado <sup>254</sup>. Esta diferencia desaparecía con el tórax abierto concluyendo que la

presión pleural negativa generada durante el colapso pulmonar contrarresta en parte la VPH.

Por tanto la implicación de los factores mecánicos en la VPH y su contribución a las diferencias en los resultados no están totalmente esclarecidas.

En el presente estudio se eligió el modelo de colapso pulmonar por su similitud con las condiciones clínicas.

### **2.5.2 POSICIÓN**

Dado que la gravedad es un importante determinante fisiológico de la distribución del flujo pulmonar, los cambios en la posición durante la ventilación unipulmonar pueden modificar la relación ventilación perfusión y repercutir por tanto en la oxigenación.

En decúbito lateral la perfusión favorece el pulmón declive por lo que resulta una posición ventajosa para la ventilación unipulmonar. Sin embargo, cada vez se realizan más procedimientos que requieren ventilación unipulmonar en decúbito supino lo que representaría, al menos teóricamente, mayor riesgo de hipoxemia.

En este sentido se han realizado estudios para determinar el grado de repercusión de la posición tanto en animales como en pacientes. En estudios experimentales se ha cuestionado la importancia de la gravedad sobre la distribución del flujo pulmonar. El cambio de posición de decúbito supino a decúbito lateral no interfirió en la redistribución del flujo <sup>255</sup>.

En estudios realizados en pacientes no se encontraron diferencias en cuanto a la oxigenación durante los primeros 20 minutos después de cambiar de decúbito supino a decúbito lateral. Sin embargo, en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) intervenidos de resección pulmonar se observó una mejoría de la oxigenación en decúbito lateral comparado con el decúbito supino <sup>8</sup>.

La disparidad de resultados refleja la complejidad de la regulación del flujo durante la ventilación unipulmonar y sugiere que la contribución del factor gravitatorio puede ser relevante en determinadas circunstancias patológicas.

Durante la ventilación unipulmonar, por tanto, la distribución de la perfusión pulmonar es el principal determinante del grado de alteración del intercambio de gases y está regulada por múltiples factores tanto activos como pasivos. La manipulación selectiva de la distribución del flujo es pues un enfoque atractivo del manejo de la anestesia durante la ventilación unipulmonar. El descubrimiento de las posibilidades terapéuticas de la vía del NO, tanto la administración exógena mediante sistemas de inhalación y monitorización cada vez más precisos como de la modificación de su síntesis endógena, permite plantear la ampliación de sus aplicaciones. Sin embargo, quedan por resolver muchas cuestiones en cuanto a la farmacología, dosis, toxicidad e indicaciones que requieren ser investigadas para evitar su uso indiscriminado. La combinación de distintos tratamientos que actúen por distintas vías para obtener un efecto sinérgico con menores dosis, disminuye el riesgo de toxicidad y efectos secundarios. Entre los distintos fármacos que se han utilizado para potenciar el efecto del iNO, no relacionados con la síntesis o metabolización del mismo, no se han probado los inhibidores de la síntesis de PG, cuya importancia en la regulación del flujo pulmonar es conocida desde hace tiempo.





### ***3 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS***



### **3.1 HIPÓTESIS**

En el presente estudio se plantearon las siguientes hipótesis: durante la ventilación unipulmonar la inhalación de un vasodilatador pulmonar selectivo como el óxido nítrico aumentaría el flujo hacia el pulmón ventilado, disminuyendo el *shunt* y mejorando el intercambio de gases. La inhibición de mecanismos vasodilatadores mediante la administración sistémica de inhibidores de la síntesis de NO (L-NAME) o de inhibidores de la síntesis de prostaglandinas (indometacina) potenciaría la VPH reduciendo el flujo sanguíneo hacia el pulmón no ventilado. La administración conjunta de NO inhalado y dichos inhibidores potenciaría el efecto de ambos en cuanto a la redistribución de flujo resultando en una optimización de las relaciones ventilación/perfusión con el consiguiente aumento de la PaO<sub>2</sub>.

### **3.2 OBJETIVOS**

Los objetivos del presente estudio fueron:

1. Estudiar los cambios hemodinámicos pulmonares y sistémicos, la distribución de flujo sanguíneo en cada uno de los pulmones y su repercusión en el intercambio de gases utilizando un modelo animal de ventilación unipulmonar.
2. Establecer una curva dosis-respuesta al NO inhalado en este modelo animal.
3. Conocer los efectos que en dichos parámetros tiene la administración de:
  - NO inhalado en una mezcla de oxígeno y aire
  - Inhibidores de la síntesis endógena de NO: infusión endovenosa de L-NAME
  - Inhibidores de la síntesis de prostaglandinas: infusión endovenosa de indometacina
4. Determinar si la administración por vía sistémica de L-NAME o de indometacina potencia los efectos del NO inhalado sobre los parámetros mencionados.



## ***4 MATERIAL Y MÉTODOS***



## **4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO**

Este estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación del Hospital Clínico de Barcelona y por el Comité Ético de Experimentación Animal (CEEAA) de la Universidad de Barcelona.

Se trata de un estudio experimental de un modelo de ventilación unipulmonar dividido en dos fases consecutivas. En la primera de ellas se estudió la relación dosis respuesta del óxido nítrico inhalado y se determinó la dosis mínima eficaz. En la segunda fase se comparó la eficacia de dos tratamientos distintos solos o combinados con óxido nítrico inhalado.

Se diseñó como estudio prospectivo y aleatorizado. En la primera fase se aleatorizó el orden de administración de las distintas dosis a estudiar, mientras que en la segunda fase se aleatorizó la inclusión en uno de los dos grupos de tratamiento. También se planteó el estudio de un grupo control.

Este trabajo de investigación se realizó íntegramente en el estabulario de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona.

### **4.1.1 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN**

Se estudiaron ovejas (*ovis aries*) adultas y sanas de 25 a 30 kilos de peso. Este modelo animal ha sido anteriormente testado por nuestro grupo en otros estudios experimentales.

Se seleccionaron aquellos animales que cumplían los siguientes criterios de inclusión considerados normales para la oveja anestesiada en decúbito supino <sup>256</sup>:

- Temperatura central inferior a 40,2° C.
- Recuento de leucocitos entre 4000 y 12000 células/mm<sup>3</sup>
- Presión media arteria pulmonar inferior o igual a 20 mmHg.
- *Shunt* (medido como mezcla venosa:  $(Q_{VA} / Q_T)$  inferior o igual al 17%.

Se inició el estudio en 35 animales y se completó en 26 de ellos. El resto tuvo que ser excluido por presencia de neumonía previa en 2 casos, dificultades técnicas en 3 casos e hipoxemia extrema en 4 casos.

Al finalizar el estudio los animales fueron sacrificados bajo anestesia general mediante una inyección de cloruro potásico.

### **4.1.2 CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA**

Dado que no se pudo predecir con suficiente fiabilidad la variabilidad de la muestra en cuanto al efecto del tratamiento en el modelo animal propuesto, y que la mínima diferencia detectable considerada relevante sería diferente para cada dosis administrada, el cálculo del tamaño de la muestra en este diseño se consideró poco preciso. Por tanto, la determinación del número de animales que se incluyeron en el estudio se basó en otros criterios, como el tamaño muestral utilizado en los trabajos experimentales publicados más relevantes en este campo.

## **4.2 PREPARACIÓN DE LOS ANIMALES**

Los animales fueron transportados al estabulario el mismo día del experimento por la mañana y se pesaron y se mantuvieron en ayunas hasta el inicio del estudio.

### **4.2.1 ANESTESIA**

Las ovejas fueron anestesiadas con una inyección endovenosa de tiopental (5 mg.kg<sup>-1</sup>), fentanilo (3 µg.kg<sup>-1</sup>) y pancuronio (0,1 mg.kg<sup>-1</sup>) a través de una cánula colocada en la vena yugular externa. A continuación fueron intubadas con un tubo oro-traqueal Mallinckrodt de 8,5 mm de diámetro interno y ventiladas mecánicamente con un respirador Engström 300 a una frecuencia de 15 respiraciones por minuto, un volumen corriente de 15 ml.kg<sup>-1</sup>, y una presión espiratoria final positiva de 5 cm H<sub>2</sub>O. Se realizaron maniobras de reclutamiento manuales cada 30 minutos. Se monitorizaron las presiones de la vía aérea y el CO<sub>2</sub> final espirado.



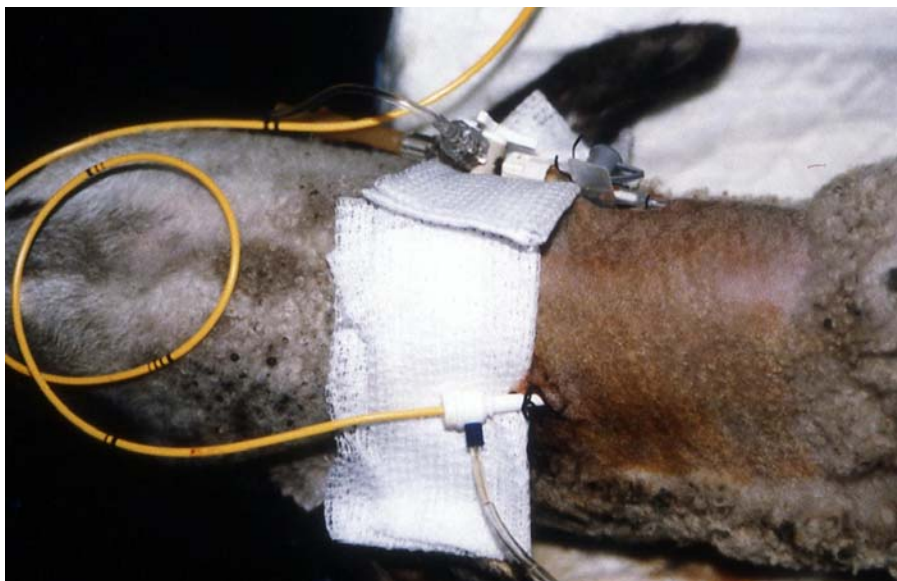
La fracción inspirada de oxígeno ( $FiO_2$ ) se monitorizó mediante un oxímetro Ohmeda colocado en la rama inspiratoria en un punto próximo al animal y se mantuvo constante entre 0,8 y 0,85. Se modificó el volumen de oxígeno administrado para mantener esta  $FiO_2$  en función del volumen de NO necesario para obtener la concentración deseada. La hipnosis y la relajación muscular se mantuvieron respectivamente con una infusión continua de tiopental ( $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ) y de pancuronio ( $0,1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ). Se administraron bolos de fentanilo ( $2 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) antes de iniciar las técnicas de instrumentación cruentas. En la siguiente imagen se muestra la preparación de la sala antes de iniciar el estudio.



**Figura 2.** Imagen de la sala donde se realizó el estudio con todos los sistemas de monitorización.

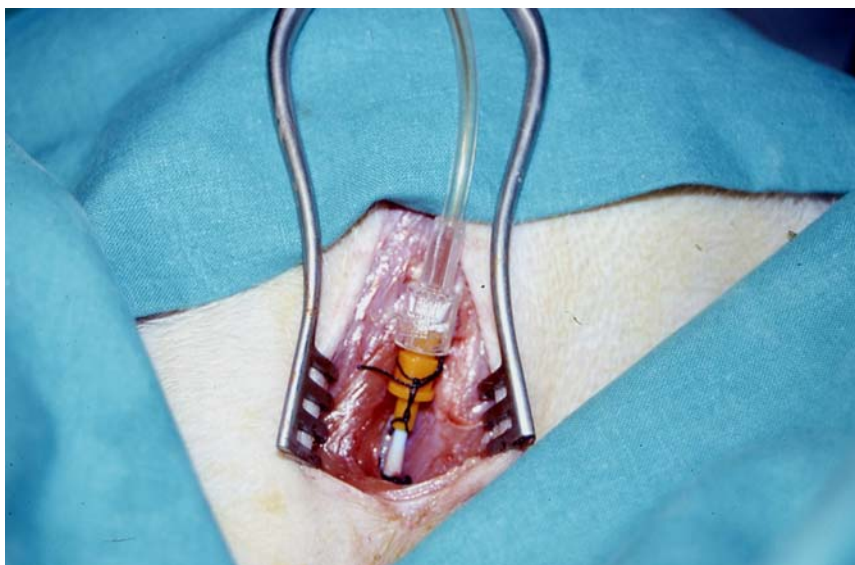
#### **4.2.2 INSTRUMENTACIÓN**

Se colocó un introductor 8F (Cordis) en la vena yugular derecha (figura 3) a través del cual se avanzó un catéter de termodilución 7F hasta la arteria pulmonar para obtener muestras de sangre venosa mixta y monitorizar las presiones pulmonares de forma continua, el gasto cardíaco y la temperatura central. La posición del catéter se comprobó directamente por palpación de ambas arterias pulmonares durante la colocación de la sonda electromagnética.



**Figura 3. Colocación del introductor y del catéter de arteria pulmonar a través de la vena yugular D. La cánula en la vena contralateral se utilizó para la administración de los fármacos anestésicos.**

Se colocó un catéter de polivinilo 8F en la aorta a través de la arteria femoral derecha previa disección y exposición de la misma en la región inguinal (figura 4), para obtener las muestras de sangre arterial y monitorizar la presión arterial sistémica.



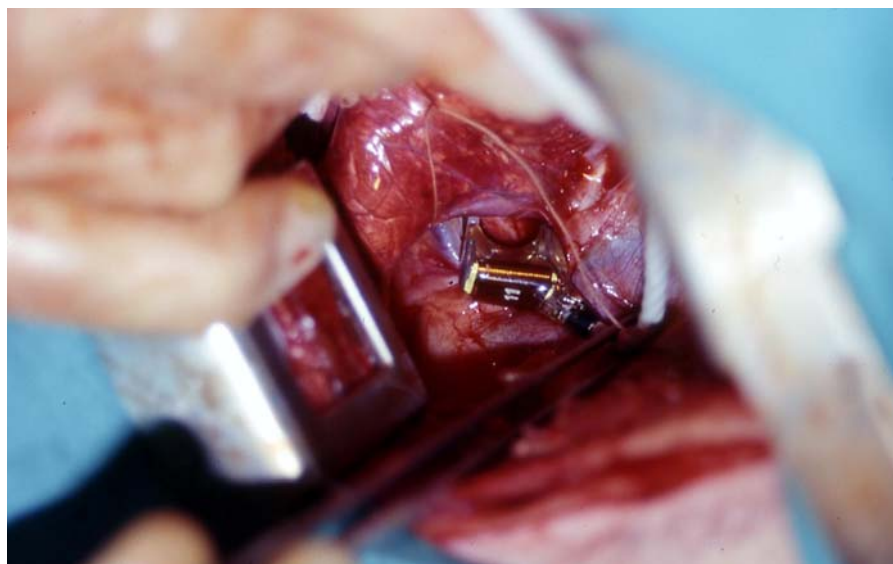
**Figura 4. Colocación del catéter en la arteria femoral D por exposición directa.**

Se realizó una traqueotomía a nivel del 2<sup>o</sup> ó 3<sup>er</sup> anillo traqueal para facilitar la intubación selectiva del bronquio principal izquierdo mediante un tubo de doble luz izquierdo (Mallinckrodt n° 39).

Se practicó una toracotomía en el 5° espacio intercostal izquierdo, con los animales en decúbito lateral derecho y en condiciones asépticas. Se instauró ventilación unipulmonar derecha para facilitar la disección del hilio pulmonar. Se colocó una sonda electromagnética de medición de flujo sanguíneo (Nihon Kohden) en la arteria pulmonar izquierda de diámetro interno (DI) variable entre 10 y 12 mm de según el calibre de la arteria. Se desestimó la monitorización de la arteria pulmonar derecha dado que en la práctica totalidad de animales observados, ésta se bifurca en dos o tres troncos antes de salir del pericardio, impidiendo así la colocación de la sonda.



**Figura 5. Sonda electromagnética de medición de flujo.**

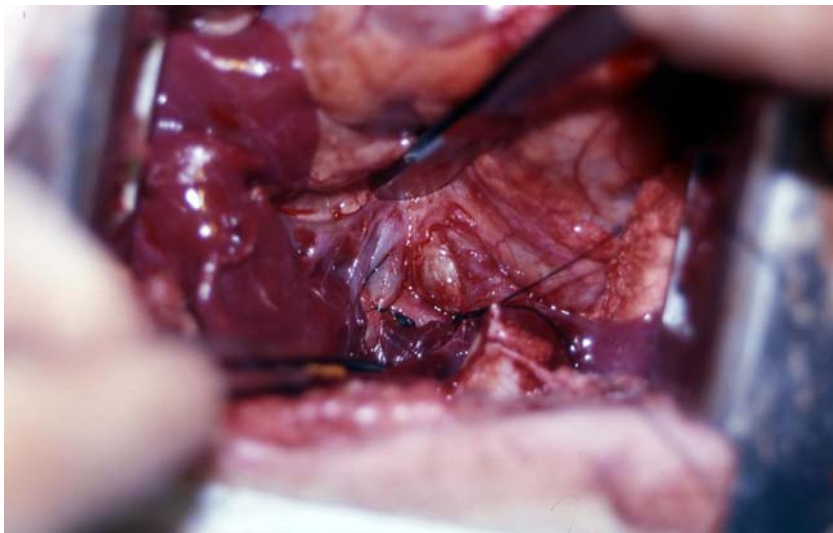


**Figura 6. Sonda electromagnética de 11 mm de diámetro colocada en la arteria pulmonar izquierda.**

Se realizó una minitoracotomía derecha para verificar el colapso del pulmón derecho durante el estudio.

Una vez finalizada la instrumentación se reexpandió cuidadosamente el pulmón izquierdo mediante maniobras manuales y se instauró ventilación unipulmonar izquierda. Antes de iniciar el estudio se dejó un periodo mínimo de 30 minutos para permitir la estabilización del animal en estas condiciones.

Al final del estudio, se procedió a ligar la arteria pulmonar derecha en 5 animales con el propósito de comparar los valores de GC obtenidos por temodilución y los obtenidos mediante la sonda electromagnética colocada en la arteria pulmonar izquierda que de esta forma recibía todo el flujo procedente de las cavidades derechas (asumiendo que no hay comunicación intracardiaca).



**Figura 7.** Ligadura de las dos divisiones de la arteria pulmonar D a su salida del pericardio.

### **4.3 VARIABLES ESTUDIADAS**

#### **4.3.1 PARÁMETROS HEMODINÁMICOS**

Se monitorizaron:

- Presión arterial sistémica (PAM)
- Presión arterial pulmonar (PAP)

- Presión capilar pulmonar (PCP)
- Presión de la aurícula derecha (PAD)

Las presiones se midieron mediante dos transductores de presión calibrados colocados a la altura de la aurícula derecha para ajustar el cero y conectados a un monitor Siemens 403. Se anotaron los valores obtenidos al final de la espiración.

- Gasto cardíaco (GC)

Se midió por termodilución en el monitor Siemens 403 mediante la inyección de 10 ml de suero fisiológico a 4°C por el acceso proximal del catéter de la arteria pulmonar. Se realizaron un mínimo de tres determinaciones y se aceptó la media de los tres valores más similares.

- Frecuencia cardíaca

Se obtuvo a partir del trazado electrocardiográfico de tres derivaciones y registrado en el monitor Siemens 403.

#### **4.3.2 PARÁMETROS VENTILATORIOS**

Se monitorizaron:

- Presión pico de la vía aérea (Pva) medida por el respirador Engström 300
- Fracción inspirada de oxígeno (FiO<sub>2</sub>) medida con un oxímetro Ohmeda 5120
- Dióxido de carbono final espirado (ETCO<sub>2</sub>) mediante un capnógrafo Critical Care System Inc Poette

#### **4.3.3 FLUJO PULMONAR IZQUIERDO**

Se midió mediante un monitor de flujo Nihon Khoden 3200 y se registró en un polígrafo Coburn Astromet 9500 de 8 canales. Se anotó el valor medio en cada tiempo. La sonda utilizada se calibró antes de ser colocada sumergiéndola en un recipiente con suero fisiológico.

El principio utilizado en los caudalímetros electromagnéticos se basa en la ley de inducción electromagnética de Faraday. Según esta ley, cuando una corriente eléctrica

pasa a través de una espiral se genera un campo magnético. Si un caudal de sangre fluye en dirección perpendicular al campo magnético, se crea una fuerza eléctrica en dirección perpendicular tanto al campo magnético como al flujo sanguíneo. La magnitud de la fuerza eléctrica generada es proporcional al flujo, por lo que éste se puede conocer midiendo la corriente eléctrica.

Se realizaron 10 determinaciones de flujo pulmonar total y de GC de forma simultánea con un intervalo de 10 minutos en los cinco animales a los que se les ligó la arteria pulmonar D para comparar las técnicas electromagnética y de termodilución.

### **4.3.4 DETERMINACIONES DE LOS GASES EN SANGRE**

Se determinaron los siguientes parámetros de sangre arterial y venosa mixta:

- Presión parcial de oxígeno arterial ( $PaO_2$ ) y venoso ( $PvO_2$ )
- Presión parcial de dióxido de carbono arterial ( $PaCO_2$ ) y venoso ( $PvCO_2$ )
- pH
- Concentración de bicarbonato ( $CO_3H$ )
- Exceso de Base
- Saturación de oxígeno

Para ello se extrajeron dos muestras de 1,5 ml a través del catéter pulmonar y aórtico simultáneamente en jeringas de plástico previamente heparinizadas. Se trasladaron en un recipiente con hielo al laboratorio donde se procesaron inmediatamente en un analizador Ciba-Corning (Bayer).

Se determinó la concentración de hemoglobina (Hb) y el recuento de leucocitos mediante un analizador Sysmex (Roche).

### **4.3.5 PARÁMETROS CALCULADOS**

A partir de los datos hemodinámicos y analíticos se obtuvieron los siguientes parámetros derivados:

- Resistencias vasculares sistémicas (RVS):

$$RVS = (PAM - PAD)/GC$$

- Resistencias vasculares pulmonares (RVP)

$$RVP = (PAPM - PCP)/GC$$

- Mezcla venosa o *shunt* derecha-izquierda ( $Q_{VA}/Q_T$ )

$$Q_{VA}/Q_T = (CcO_2 - CaO_2)/(CcO_2 - CvO_2)$$

Siendo:

$$CcO_2 = (Hb \times Sat.AO_2 \times 1,39) + (PAO_2 \times 0,003) = \text{contenido central de } O_2$$

$$PAO_2 = [(PB - PH_2O) \times FiO_2] - (PaCO_2 \times 1,25) = \text{presión alveolar de } O_2$$

$$CaO_2 = (Hb \times Sat.a O_2 \times 1,39) + (PaO_2 \times 0,003) = \text{contenido arterial de } O_2$$

$$CvO_2 = (Hb \times Sat.v O_2 \times 1,39) + (PvO_2 \times 0,003) = \text{contenido venoso de } O_2$$

#### **4.4 FÁRMACOS ADMINISTRADOS**

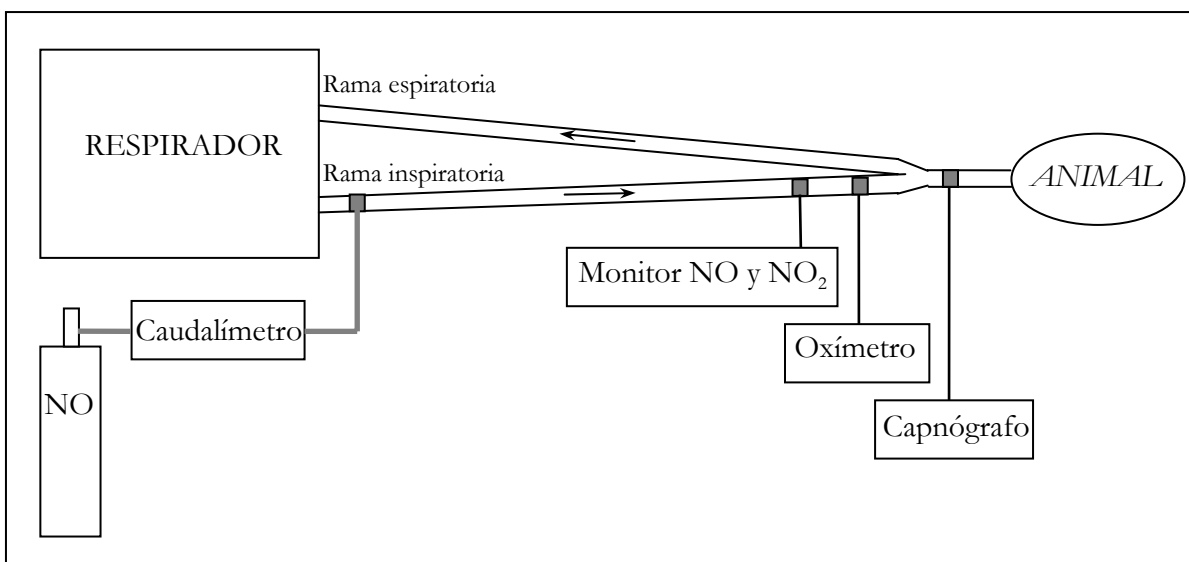
- Tiopental sódico (Abbott Laboratoris, Madrid): diluido en 20 ml de suero fisiológico.
- Bromuro de pancuronio (Organon, Barcelona).
- Fentanilo (Roche, S.A., Products, Madrid).
- L-NAME (Sigma Química): La preparación se realizó inmediatamente antes de su administración diluyendo la cantidad calculada ( $30 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) y pesada en una balanza de precisión en 20 ml de suero fisiológico. Se administró en infusión endovenosa continua durante 5 minutos.
- Indometacina sódica, (Merck Sharp & Dome, Madrid): se administraron  $5 \text{ mg.kg}^{-1}$  de esta sustancia disuelta en 20 ml suero fisiológico en infusión endovenosa continua durante 5 minutos.

## 4.5 ADMINISTRACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO

Se utilizó óxido nítrico (Abelló Linde, Barcelona) almacenado en nitrógeno puro en cilindros de 10 litros a una concentración de 800 partes por millón (ppm) y una proporción de NO<sub>2</sub> en la mezcla inferior al 1%.

Se conectó un caudalímetro de precisión de bajo flujo calibrado (Air Liquid) a la salida del cilindro para regular flujo de NO en función de la dosis deseada y mediante una conexión plástica se administró el gas en la rama inspiratoria en el extremo próximo al respirador donde se diluía con la mezcla O<sub>2</sub>/aire prefijada.

En el otro extremo de la rama inspiratoria, justo antes de la pieza en Y, se intercaló una conexión para la obtención de la muestra de gas para la medición del NO y NO<sub>2</sub> inspirados y a continuación el sensor para la monitorización de la FiO<sub>2</sub> real que llegaba al animal. El sensor para la monitorización del CO<sub>2</sub> final espirado se situó entre el tubo traqueal y la pieza en Y. La figura 8 muestra un esquema del sistema de administración y monitorización del NO inhalado utilizado en este modelo animal.



**Figura 8. Esquema del circuito respiratorio con el sistema de administración y monitorización del NO inhalado.**

Los gases espirados fueron evacuados mediante un sistema de aspiración conectado al reservorio espiratorio del respirador para minimizar la contaminación ambiental.



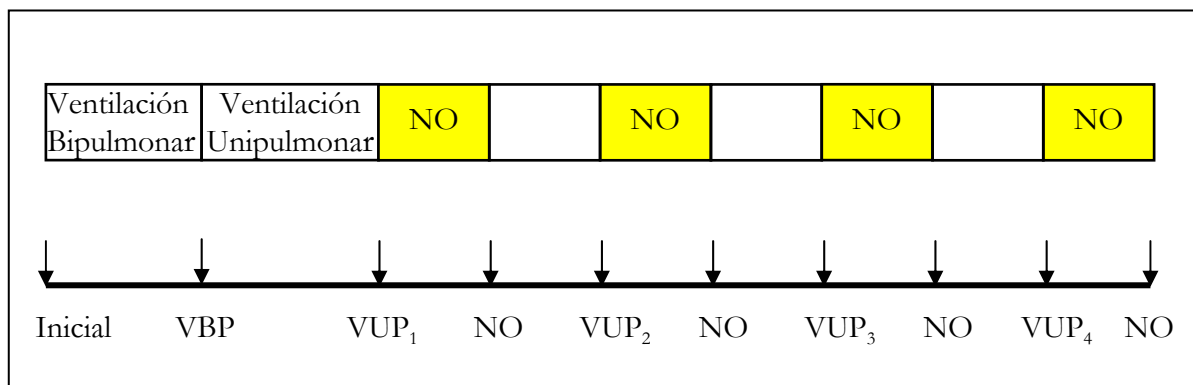
La concentración inhalada de NO se monitorizó de forma continua mediante un analizador de óxidos de nitrógeno por quimioluminiscencia (Eco Physics CLD 700) con un rango de 0,01 a 100 partes por millón (ppm). Se consideraron válidas las concentraciones administradas cuando la variación de las mismas fue inferior a  $\pm 2$  ppm y se mantuvieron fijas durante el periodo de estudio. La concentración de NO<sub>2</sub> formada en el circuito durante la administración también se midió de forma continua.

## 4.6 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Los 26 animales en los que se completó el estudio fueron divididos en dos fases, como se detalla a continuación:

### 4.6.1 FASE I

Se determinaron los efectos del NO inhalado en este modelo experimental y se estableció una curva dosis-respuesta a la administración de distintas concentraciones del mismo. Para ello se utilizaron 7 animales según el esquema que se muestra a continuación.



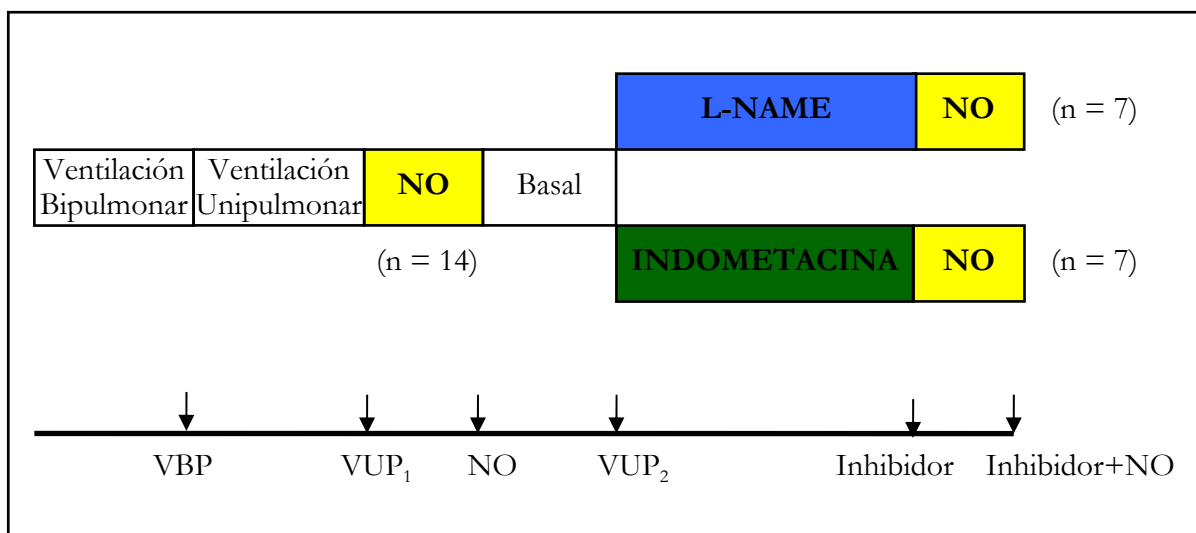
Después de un periodo de estabilización hemodinámica de 30 minutos en ventilación unipulmonar (VUP), cada animal inhaló en orden aleatorio una serie de 4 concentraciones de NO de 10, 20, 40 y 80 ppm en O<sub>2</sub> al 80% durante 10 minutos. Cada dosis administrada fue seguida de un periodo de reposo de 10 minutos en los que los animales se mantuvieron ventilados con O<sub>2</sub> al 80% (VUP<sub>1</sub>, VUP<sub>2</sub>, VUP<sub>3</sub>, VUP<sub>4</sub>).

El análisis de los resultados de esta fase del estudio permitió determinar la concentración óptima de NO en relación al aumento de la PaO<sub>2</sub> y del flujo pulmonar izquierdo. Esta dosis fue la utilizada en la segunda fase del estudio.

#### **4.6.2 FASE II**

##### **4.6.2.1 Grupo estudio**

Se estudiaron los efectos de la administración NO inhalado, de un inhibidor de la síntesis de NO (L-NAME) y de un inhibidor de la síntesis de prostaglandinas (indometacina), así como los efectos de la administración conjunta de cada inhibidor con NO inhalado. Se estudiaron 14 animales según el siguiente esquema:



Una vez instaurada la ventilación unipulmonar se dejó un periodo de estabilización hemodinámica de 30 minutos (VUP<sub>1</sub>). Todos los animales recibieron la concentración de NO inhalado previamente determinada en la Fase I, durante 10 minutos (NO), seguido de un periodo igual de reposo (VUP<sub>2</sub>). A partir de aquí a cada animal se le asignó de forma aleatoria uno de los dos tratamientos L-NAME o indometacina. Después de la administración endovenosa del inhibidor asignado, se esperó un mínimo de 30 minutos hasta la estabilización en estas condiciones (Inhibidor). Finalmente todos los animales inhalaban nuevamente la misma concentración de NO durante 10 minutos (Inhibidor + NO).

#### 4.6.2.2 Grupo control

Paralelamente se estudiaron 5 animales para valorar la estabilidad del modelo experimental. Los animales de este grupo fueron anestesiados, instrumentados y monitorizados igual que los anteriores. Una vez instaurada la ventilación unipulmonar con oxígeno al 80%, se mantuvieron en las mismas condiciones durante 2 horas aproximadamente. Las determinaciones se obtuvieron después de la estabilización hemodinámica (VPU<sub>1</sub>) y cada 30 minutos (VUP<sub>2</sub>, VUP<sub>3</sub>, VUP<sub>4</sub> y VUP<sub>5</sub>).

### 4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizaron análisis de la normalidad de las variables mediante *probability plots* y test de Kolmogorow-Smirnow, aceptándose en la mayoría de los casos la hipótesis de normalidad. En los casos en que debía rechazarse tal hipótesis ( $p$ -valor del test < 0,05), la distribución de los datos era aceptablemente simétrica, de modo que teniendo en cuenta la robustez de las técnicas utilizadas (análisis de la varianza, test T de Student), las conclusiones estadísticas pueden considerarse fiables. Cuando se efectuaron comparaciones múltiples, se utilizó la corrección de Bonferroni para adecuar el riesgo de tipo I al nivel de significación elegido ( $\alpha=5\%$ ).

- **Estudio del efecto de la ventilación unipulmonar en este modelo**

Para comparar las variables estudiadas, entre ventilación bipulmonar y unipulmonar se aplicó el test T de Student de comparación de medias para datos apareados.

- **Repercusión del tiempo en los parámetros valorados: estabilidad del modelo de ventilación unipulmonar.**

Para comparar las variables estudiadas en los cinco tiempos establecidos en el grupo control se utilizó el análisis de la varianza para medidas repetidas, considerando el factor tiempo como el efecto dentro de individuos y el factor animal como el efecto entre individuos. Se aplicó la corrección de Huynh y Feldt <sup>257</sup> de los valores de probabilidad para el factor de medidas repetidas.

- **Comparación de los valores de GC y de flujo**

Para comparar los valores de GC medidos por la técnica de termodilución y los de flujo pulmonar total medidos mediante sonda electromagnética se utilizó el ajuste de un modelo lineal mixto para realacionar ambas variables. La variable animal constituyó el nivel de agrupación y se consideró la inclusión de efectos aleatorios en la ordenada de origen, validándose el modelo correspondiente.

- **Estudio de la curva dosis respuesta: Fase I**

Se realizó el estudio con las variables PaO<sub>2</sub> y flujo/GCC. Para la comparación de los valores obtenidos con cada dosis respecto al valor basal previo se utilizó el test T de Student para datos apareados.

Las variaciones obtenidas con las distintas dosis de iNO se calcularon como porcentaje de variación respecto al valor basal previo a cada dosis. Los valores de flujo se expresaron como porcentaje del GCC:  $(\text{Flujo}/\text{GCC}) \times 100$  en cada tiempo. Para comparar el efecto de las dosis entre sí se utilizó el análisis de la varianza para medidas repetidas y posteriormente se realizaron las comparaciones múltiples oportunas.

- **Análisis de la Fase II**

Para comparar el efecto de la instrumentación sobre los parámetros hemodinámicos y gasométricos iniciales se utilizó el test T de Student para datos apareados.

Para la comparación de los valores obtenidos con cada tratamiento respecto al valor basal previo se utilizó el test T de Student de significación para el % de variación.

Para analizar si existían diferencias significativas entre grupos (INDO y L-NAME) y nivel experimental (NO, Inhibidor, Inhibidor+NO) así como su posible interacción, se utilizó el análisis de la varianza para medidas repetidas, aplicando la corrección de Huynh – Feldt de los p-valores para el factor de medidas repetidas.

Para las comparaciones múltiples dos a dos del efecto del nivel experimental dentro del mismo grupo se utilizó el test T de Student de comparación de medias para datos apareados. Para comparar el efecto del nivel experimental entre los dos grupos se

utilizó el test T de Student para muestras independientes. Para garantizar el nivel de significación global ( $\alpha=5\%$ ) se aplicó la corrección de Bonferroni.

Todos los valores se expresan como media  $\pm$  error estándar o desviación estándar según se consideró mas adecuado para su interpretación. En todos los casos, se interpretó como significativo un efecto cuyo p-valor asociado fue inferior al 5%.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SAS para PC versión V8.



## ***5 RESULTADOS***





## **5.1 MODELO EXPERIMENTAL DE VENTILACIÓN UNIPULMONAR**

### **5.1.1 EFECTOS DE LA VENTILACIÓN UNIPULMONAR**

Para valorar los cambios producidos por la ventilación unipulmonar se incluyeron los 26 animales del estudio (5 del grupo control, 7 de la Fase I y 14 de la Fase II), ya que en todos ellos se realizó el proceso bajo las mismas condiciones. Los valores medios de las variables hemodinámicas y respiratorias antes y después de instaurar la ventilación unipulmonar, el porcentaje de variación y el p-valor se muestran en las tablas 5 y 6 respectivamente.

La instauración de la ventilación unipulmonar en este modelo causó una profunda modificación en los parámetros hemodinámicos, la distribución de flujo y el intercambio de gases.

Los efectos de la ventilación selectiva sobre la hemodinámica sistémica fueron un aumento significativo del GC y de la FC. También causó una disminución de las RVS, probablemente secundaria al aumento del GC. No se modificaron la PAM, la PVC ni la PCP.

Los parámetros hemodinámicos pulmonares sufrieron cambios más marcados. El valor medio de la PAPM subió de 17 a 22 mmHg y el de las RVP aumentó de 212 a 294 dinas.s<sup>-1</sup>.cm<sup>-5</sup> lo que representa un incremento promedio de 28 y 38% respectivamente.

En cuanto a la distribución de flujo se constató un incremento significativo de la perfusión que recibía el pulmón izquierdo de más de 700 ml por minuto.

La PaO<sub>2</sub> media disminuyó drásticamente de 276 a 59 mm Hg observándose valores inferiores a 60 mmHg en la mitad de los animales. La PaCO<sub>2</sub> aumentó 11 mmHg en media, aunque se observaron cifras superiores a 50 mmHg en 9 casos. En relación directa se produjo una disminución significativa del pH de 0,1 punto.

## Resultados

El *shunt* o  $Q_{VA}/Q_T$  pasó del 25% en ventilación bipulmonar al 54% en ventilación unipulmonar.

Respecto a la mecánica pulmonar se valoró únicamente la presión pico de la vía aérea, que presentó un aumento medio de 10 cm de H<sub>2</sub>O con respecto a la ventilación bipulmonar.

**Tabla 5. Efectos de la ventilación unipulmonar en los parámetros hemodinámicos y flujo pulmonar**

	VBP	VUP1	%	p valor
<b>GCC</b> (l.min <sup>-1</sup> )	3,8 ± 0,7	4,2 ± 0,7	10,4	0,0038
<b>FC</b> (latidos. min)	137 ± 25	154 ± 26	17,4	0,0068
<b>PAM</b> (mmHg)	99,7 ± 7,6	99,2 ± 7,7	-0,45	0,38
<b>PAPM</b> (mmHg)	17,5 ± 3,2	22,4 ± 3,2	27,9	0,0000
<b>PVC</b> (cm H <sub>2</sub> O)	7,9 ± 1,3	7,7 ± 2	-1,88	0,34
<b>PCP</b> (cm H <sub>2</sub> O)	8,7 ± 2,1	9 ± 2,1	3,8	0,15
<b>RVS</b> (dinas.s <sup>-1</sup> .cm <sup>-5</sup> )	2220 ± 391	2029 ± 457	-8,6	0,0079
<b>RVP</b> (dinas.s <sup>-1</sup> .cm <sup>-5</sup> )	212 ± 51	294 ± 70	38,4	0,0000
<b>FLUJO</b> (l.min <sup>-1</sup> )	1,6 ± 0,3	2,3 ± 0,4	44,5	0,0000
<b>Flujo/GCC</b> (%)	41 ± 6	54 ± 7	31,3	0,0000

Datos expresados en media ± DE. Los cambios significativos ( $p < 0,05$ ) aparecen sombreados. Datos obtenidos del conjunto de 26 animales.

**Tabla 6. Efectos de la ventilación unipulmonar en los parámetros respiratorios**

	VBP	VUP1	%	p valor
<b>PaO<sub>2</sub></b> (mm Hg)	276 ± 109	59 ± 8,7	-78,7	0,0000
<b>PvO<sub>2</sub></b> (mm Hg)	48 ± 6,5	39 ± 6,1	-18,7	0,0001
<b>PaCO<sub>2</sub></b> (mm Hg)	35 ± 4,3	46 ± 7,5	33,1	0,0000
<b>pH</b>	7,44 ± 0,05	7,33 ± 0,06	-1,56	0,0000
<b>Q<sub>VA</sub>/Q<sub>T</sub></b> (%)	25 ± 8	54 ± 10	173,4	0,0000
<b>P<sub>Vía Aérea</sub></b> (cm H <sub>2</sub> O)	33 ± 2,6	43 ± 4	33,3	0,0000

Datos expresados en media ± DE. Los cambios significativos ( $p < 0,05$ ) aparecen sombreados. Datos obtenidos del conjunto de 26 animales

### 5.1.2 ESTABILIDAD DEL MODELO DE VENTILACIÓN UNIPULMONAR.

A fin de delimitar el grado de contribución del factor tiempo en los parámetros estudiados, se valoraron los cambios observados en cinco animales del grupo control durante dos horas a partir de la finalización de la monitorización, tiempo de duración aproximado del estudio. La tabla 7 muestra los parámetros hemodinámicos y de distribución de flujo y la tabla 8 los parámetros respiratorios en estos animales, así como el p-valor obtenido en el análisis de la varianza para el factor animal y para el factor tiempo.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar los distintos tiempos para ninguna de las variables estudiadas aunque se observó una marcada tendencia creciente en los valores medios de la presión de la vía aérea ( $p=0,054$ ). Se hallaron diferencias significativas al comparar los animales entre sí en cada tiempo para todos los parámetros excepto para la PVC, lo que demuestra una gran variabilidad interindividual. Por tanto, podemos asumir que los cambios observados en los animales del grupo de estudio fueron debidos a los tratamientos aplicados y no al tiempo transcurrido.

**Tabla 7. Cambios en el tiempo en los parámetros hemodinámicos y de flujo pulmonar**

	VUP <sub>1</sub>	VUP <sub>2</sub>	VUP <sub>3</sub>	VUP <sub>4</sub>	VUP <sub>5</sub>	Animal p valor	Tiempo p valor
<b>FC</b> (latidos.min <sup>-1</sup> )	161 ± 23	158 ± 38	162 ± 29	168 ± 38	167 ± 24	0,0048	0,9502
<b>GCC</b> (l.min <sup>-1</sup> )	4 ± 0,4	4,3 ± 0,5	4 ± 0,4	4 ± 0,4	3,9 ± 0,5	0,0008	0,3805
<b>PAM</b> (mmHg)	98,6 ± 12	99,8 ± 10	99,4 ± 10	99,2 ± 6	98,8 ± 9	0,0001	0,9862
<b>PAPM</b> (mmHg)	23,4 ± 2,4	24,6 ± 0,9	24,2 ± 2,4	24,6 ± 2,6	25,6 ± 1,8	0,0006	0,6312
<b>PVC</b> (cm H <sub>2</sub> O)	8 ± 1,5	8 ± 1,1	8 ± 0,6	9 ± 0,9	9 ± 1,1	0,1295	0,9924
<b>PCP</b> (cm H <sub>2</sub> O)	11 ± 2,1	11 ± 1,9	11 ± 3,3	11 ± 3,4	11 ± 2,7	0,0001	0,7313
<b>RVS</b> (dinas.s <sup>-1</sup> .cm <sup>-5</sup> )	2027±372	1927±368	2053±259	2017±354	2076±258	0,0001	0,6709
<b>RVP</b> (dinas.s <sup>-1</sup> .cm <sup>-5</sup> )	292 ± 57	293 ± 52	306 ± 64	301 ± 52	302 ± 46	0,0034	0,9685
<b>FLUJO</b> (l.min <sup>-1</sup> )	2,14 ± 0,5	2,25 ± 0,5	2,1 ± 0,5	2,15 ± 0,4	2,06 ± 0,4	0,0001	0,6716
<b>Flujo/GCC</b> (%)	53,7 ± 6,6	53,1 ± 6,9	53,1 ± 12,2	53,3 ± 6,3	52,9 ± 8,5	0,0001	0,9967

Datos expresados en media ± DE. Los cambios significativos ( $p < 0,05$ ) aparecen sombreados

## Resultados

Tabla 8. Cambios en el tiempo en los parámetros respiratorios

	VUP <sub>1</sub>	VUP <sub>2</sub>	VUP <sub>3</sub>	VUP <sub>4</sub>	VUP <sub>5</sub>	Individ. p valor	Tiempo p valor
PaO <sub>2</sub> (mm Hg)	63 ± 8	62 ± 9	60 ± 10	63 ± 9	63 ± 7	0,0002	0,8996
PvO <sub>2</sub> (mmHg)	42 ± 7	41 ± 5	39 ± 6	41 ± 4	39 ± 9	0,0001	0,6381
PCO <sub>2</sub> (mmHg)	45 ± 7	47 ± 8	45 ± 6	46 ± 11	46 ± 8	0,0001	0,7749
pH	7,29 ± 0,07	7,30 ± 0,05	7,31 ± 0,06	7,32 ± 0,06	7,28 ± 0,04	0,0001	0,2593
Q <sub>VA</sub> /Q <sub>T</sub> (%)	51 ± 0,04	52 ± 0,05	50 ± 0,05	51 ± 0,08	52 ± 0,09	0,0001	0,9775
P <sub>VA</sub> (cm H <sub>2</sub> O)	46,6 ± 2,3	47,20 ± 2,2	47,6 ± 2,5	48,2 ± 2,1	49,2 ± 1,1	0,0006	0,0544

Datos expresados en media ± DE. Los cambios significativos ( $p < 0,05$ ) aparecen sombreados

### 5.1.3 COMPARACIÓN DE GASTO CARDÍACO Y FLUJO PULMONAR IZQUIERDO

En el presente estudio, se determinó el grado de correlación entre las técnicas de medición de flujo por termodilución y por sonda electromagnética en este modelo animal. Para ello, en cada uno de los cinco animales con la APD ligada, se realizaron 10 mediciones simultáneas de GC por termodilución y flujo total a través de la arteria pulmonar izquierda por sonda electromagnética. Los datos se muestran en la tabla 9, donde se puede observar que los valores de flujo total obtenidos mediante sonda electromagnética fueron superiores a los obtenidos por termodilución como era previsible.

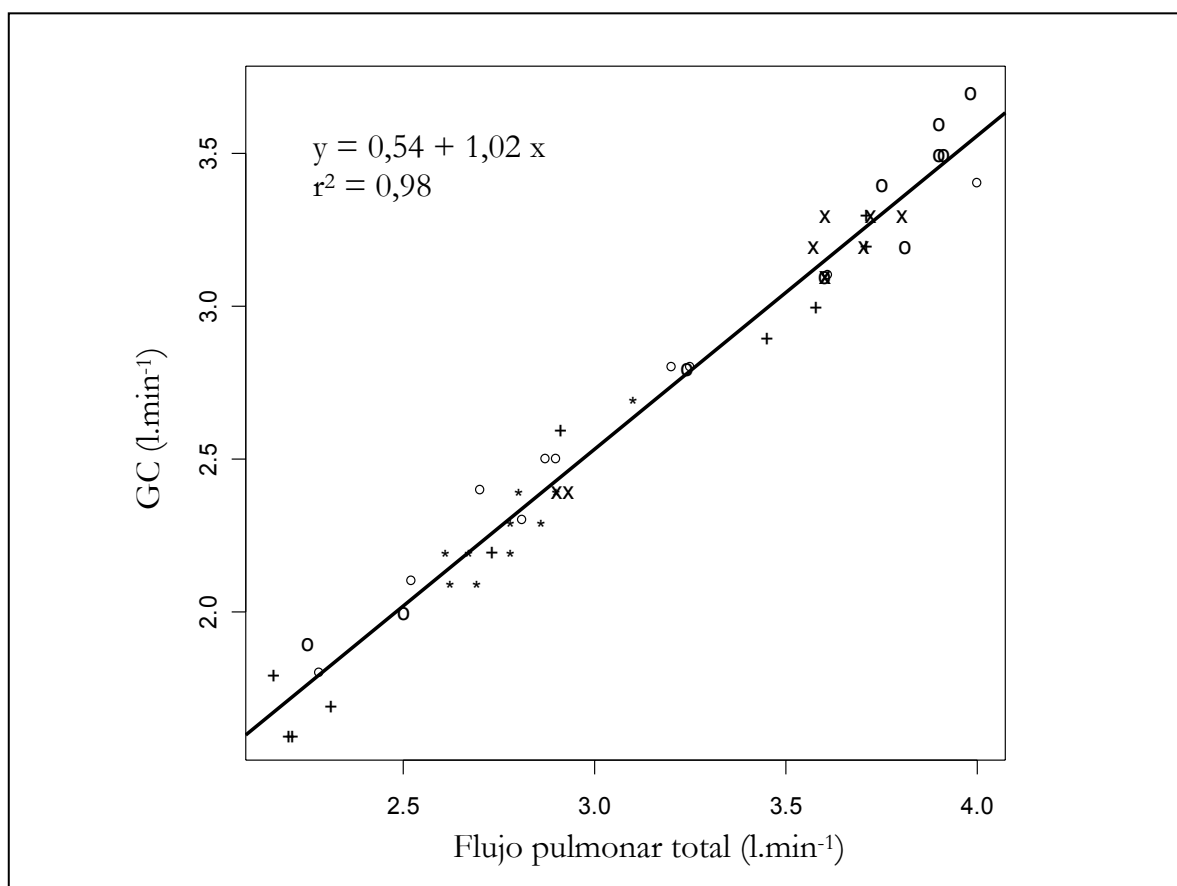
Debido a que las medidas de las variables se realizaron de forma repetida en cinco animales diferentes, los datos así obtenidos no constituyen una muestra aleatoria simple, ya que no son observaciones independientes. Para poder ajustar un modelo lineal que permita relacionar el GC y el flujo total a partir de estas mediciones, era necesario utilizar una metodología estadística par tratar datos agrupados.

La dependencia funcional entre el GC y el flujo total es claramente lineal, por lo que un modelo lineal mixto puede describir la relación entre ambas variables. Esta metodología permite abordar la modelización individual, obteniendo también el modelo poblacional subyacente.

Tabla 9. Determinaciones simultáneas de gasto cardíaco y de flujo pulmonar total medido en la arteria pulmonar izquierda ( $\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ )

	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4		Animal 5	
	GC	Flujo	GC	Flujo	GC	Flujo	GC	Flujo	GC	Flujo
1	2,20	2,67	2,40	2,93	3,20	3,71	2,80	3,20	1,90	2,25
2	2,40	2,80	2,40	2,90	3,30	3,71	3,10	3,61	2,00	2,50
3	2,10	2,62	3,20	3,57	2,90	3,45	3,40	4,00	3,40	3,75
4	2,10	2,69	3,60	3,640	3,00	3,58	2,30	2,81	3,50	3,91
5	2,30	2,78	3,10	3,60	1,80	2,16	2,80	3,25	3,10	3,60
6	2,20	2,61	3,10	3,60	1,70	2,31	2,50	2,90	3,70	3,98
7	2,20	2,78	3,30	3,60	1,60	2,20	2,50	2,87	3,50	3,90
8	2,40	2,90	3,20	3,70	1,60	2,21	2,40	2,70	3,20	3,81
9	2,30	2,86	3,30	3,80	2,20	2,73	2,10	2,52	3,60	3,90
10	2,70	3,10	3,30	3,72	2,60	2,91	1,80	2,28	2,80	3,24

Gráfica 1. Relación entre GC ( $\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ ) medido por termodilución (GC) y por sonda electromagnética (Flujo)



El modelo poblacional asociado a los factores fijos dio lugar a una ecuación matemática válida para todos los sujetos de la población y que permitía obtener el GCC a partir del flujo total:

$$\text{Flujo total} = \text{GCC} = (\text{GC} + 0,54) / 1,02$$

Del modelo mixto se infiere que existe una fuerte relación entre el GC y el flujo total, con un coeficiente de correlación de 0,98. Las componentes de la variancia en el modelo son de poca magnitud: desviación estándar residual de 0,091 y desviación estándar del efecto aleatorio asociado al individuo de 0,016, lo cual confirma la validez inferencial del modelo.

La relación lineal entre ambas técnicas es estadísticamente significativa con un nivel de confianza superior al 99% ( $p < 0,0001$ ).

Se decidió corregir el GC según la ecuación obtenida de la recta de regresión y utilizar este valor (Gasto Cardíaco Corregido) en todos los cálculos en los que interviene el GC.

### **5.1.4 EFECTOS DE LA INSTRUMENTACIÓN**

Las técnicas cruentas de preparación y monitorización de los animales (traqueotomía, toracotomía y colocación de la sonda electromagnética) causaron un deterioro en el intercambio de gases con respecto a los valores iniciales, que se puso de manifiesto antes de instaurar la ventilación selectiva. La tabla 10 refleja el efecto que tuvo la instrumentación sobre los parámetros hemodinámicos y gasométricos más relevantes en los 14 animales utilizados en la fase II.

La manipulación de los animales causó una disminución significativa del GC del 16 %. Los parámetros sistémicos no sufrieron cambios, en cambio la PAPM y las RVP aumentaron de forma significativa un 18 y un 37% respectivamente. La PaO<sub>2</sub> no se modificó, pero dado que al finalizar la instrumentación se aumentó la FiO<sub>2</sub> de 0,5 a 0,8 la relación entre ambos valores (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>) disminuyó de forma significativa en un 28%. En relación directa se apreció un aumento significativo del *shunt* que pasó de 14 a 25 %.

**Tabla 10. Repercusión de la instrumentación en los parámetros hemodinámicos y de intercambio de gases**

	Preinstrumentación	Postinstrumentación	%	p valor
<b>GC</b> (l.min <sup>-1</sup> )	4,2 ± 1,3	3,5 ± 0,9	-16	0,0093
<b>PAM</b> (mm Hg)	100,8 ± 8,2	99,4 ± 6,6	-1	0,5486
<b>RVS</b> (dinas.s <sup>-1</sup> .cm <sup>-5</sup> )	2034 ± 951	2164 ± 458	6	0,5049
<b>PAPM</b> (mm Hg)	15 ± 2	18 ± 3	18	0,0032
<b>RVP</b> (dinas.s <sup>-1</sup> .cm <sup>-5</sup> )	152 ± 66	207 ± 44	37	0,0071
<b>PaO<sub>2</sub>/Fi O<sub>2</sub></b>	418 ± 43	303 ± 72	-28	0,0006
<b>Q<sub>VA</sub>/Q<sub>T</sub></b> (%)	14 ± 3	25 ± 10	78	0,0001

Datos expresados en media ± DE. Los aumentos significativos aparecen sombreados. Datos obtenidos en los 14 animales de la Fase II

## 5.2 FASE I: CURVA DOSIS RESPUESTA

En esta fase se estudiaron los efectos de la inhalación de 4 dosis de NO administradas en orden aleatorio, sobre los valores de la PaO<sub>2</sub> y del flujo pulmonar izquierdo en siete animales. Para reducir el impacto de las variaciones del GC sobre el flujo en cada tiempo, los cambios en el flujo se calcularon como porcentaje del GC según la fórmula: (flujo/GCC) x 100.

Al comparar las distintas dosis entre sí, el análisis estadístico de los cambios absolutos respecto a los valores basales de la PaO<sub>2</sub> y del flujo no mostró diferencias significativas, debido a la gran variabilidad interindividual observada. Por ello, para comparar el efecto de las dosis, se utilizó el porcentaje de aumento con respecto al valor basal previo de estos parámetros para cada dosis de iNO según las fórmulas:

- Incremento PaO<sub>2</sub> (%) =  $[(\text{PaO}_{2\text{ NO}} - \text{PaO}_{2\text{ VUP}}) / \text{PaO}_{2\text{ VUP}}] \times 100$
- Incremento flujo (%) =  $[(\text{F/GC}_{\text{NO}} - \text{F/GCC}_{\text{VUP}}) / \text{F/GCC}_{\text{VUP}}] \times 100$

En la tabla 11 aparece los efectos sobre la PaO<sub>2</sub> y el flujo pulmonar, así como el p-valor obtenidos con cada dosis de NO.

## Resultados

En la gráfica 2 se muestra la curva dosis respuesta obtenida con los valores absolutos de PaO<sub>2</sub> y en la gráfica 3 aparece la curva obtenida con los porcentajes de flujo pulmonar respecto al GC. En ambas se observa el aumento de estos parámetros con cada dosis de NO inhalado.

Los datos individuales de los animales incluidos en esta fase para la PaO<sub>2</sub>, el flujo, el GC y la relación flujo/GCC se muestran en las tablas 12, 13, 14 y 15.

La PaO<sub>2</sub> aumentó de forma significativa respecto al valor basal correspondiente con todas las dosis de NO administradas. La dosis de NO que más aumentó la PaO<sub>2</sub> fue la de 40 ppm. Dicho aumento no fue significativamente superior al conseguido con las dosis de 10 y de 20 ppm, pero sí al obtenido con la dosis de 80 ppm ( $p=0.0027$ ). Tanto la variabilidad individual como el número de animales que no respondieron al iNO fueron menores con la dosis de 40 ppm.

El flujo pulmonar aumentó de forma estadísticamente significativa respecto a valor basal correspondiente con todas las dosis de iNO administradas. Al comparar la variación de flujo entre las distintas dosis no se hallaron diferencias significativas entre ellas. El mayor aumento de flujo pulmonar observado experimentalmente se consiguió con la dosis de 10 ppm, aunque no se encontraron diferencias significativas al compararlo con el obtenido con las otras dosis. Con la dosis de 40 ppm se observó una menor variabilidad interindividual y un mayor número de animales respondedores.

Por todo ello se decidió utilizar la dosis de iNO de 40 ppm en el estudio de la Fase II

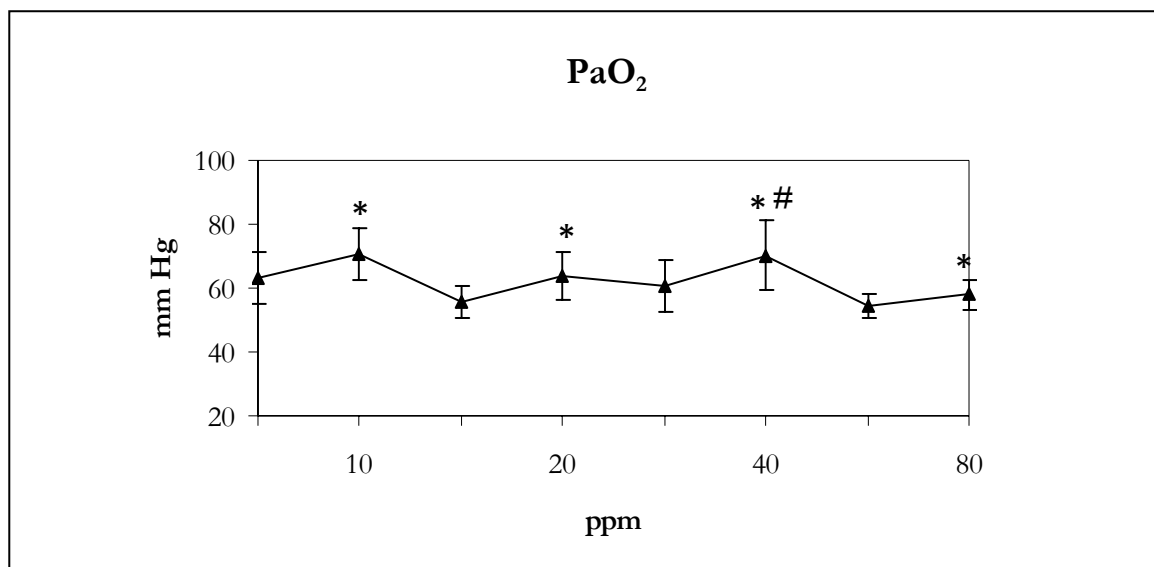
**Tabla 11. Porcentaje de aumento de la PaO<sub>2</sub> y del flujo pulmonar con las distintas dosis de NO inhalado respecto al valor basal previo.**

DOSIS NO (ppm)	$\Delta$ PO <sub>2</sub> (%)	p valor	$\Delta$ FLUJO (%)	p valor
10	13.2 ± 3.1	0.0050	13.6 ± 3.5	0.0087
20	13.5 ± 3.2	0.0059	10.2 ± 2.7	0.0090
40	14.5 ± 2.4	0.0009	12.1 ± 1.9	0.0009
80	5.7 ± 1.3	0.0051	7.2 ± 2.1	0.0135

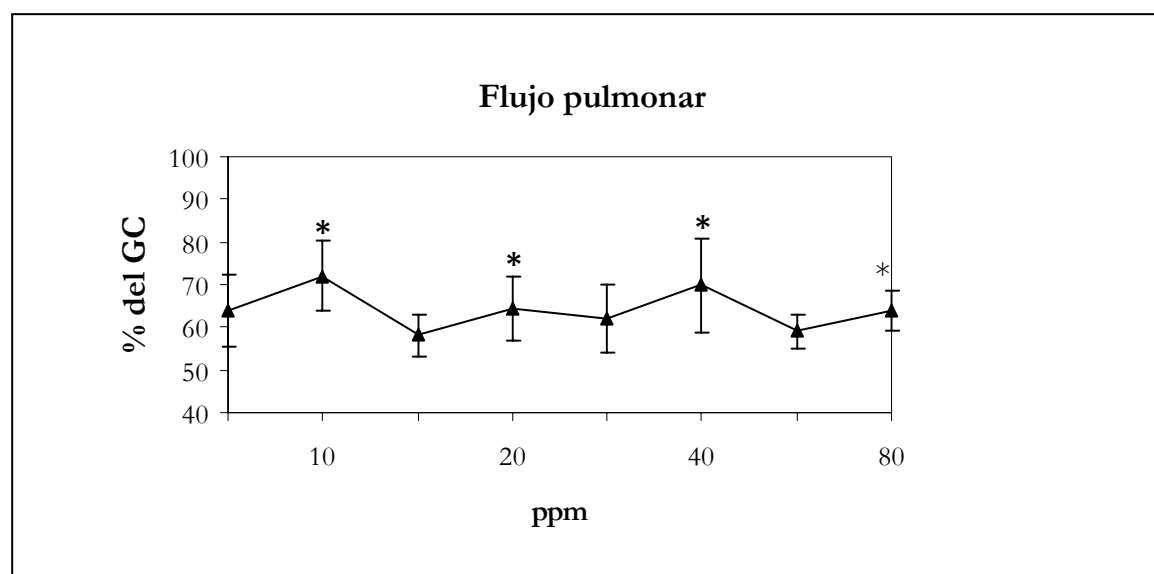
Datos expresados en media ± DE. Los aumentos significativos después de aplicar la corrección de Bonferroni aparecen sombreados.



Gráfica 2. Efectos de las distintas dosis de NO inhalado sobre la PaO<sub>2</sub>. \* P < 0,0125 con respecto al valor basal previo, # p < 0,0166 con respecto a la dosis de 80 ppm.



Gráfica 3. Efectos de las distintas dosis de NO inhalado sobre el flujo pulmonar izquierdo con relación al GCC calculado como: flujo pulmonar /GCC x 100. \* P < 0,0166 con respecto al valor basal previo



## Resultados

Tabla 12. Valores de PaO<sub>2</sub> (mmHg) obtenidos con las distintas dosis de iNO

Animal	VUP <sub>1</sub>	10 ppm	VUP <sub>2</sub>	20 ppm	VUP <sub>3</sub>	40 ppm	VUP <sub>4</sub>	80 ppm
1	46	56	51	56	50	54	49	49
2	107	111	79	103	103	130	62	68
3	61	65	51	55	58	63	57	60
4	59	74	57	59	51	60	58	60
5	48	52	43	50	44	49	41	43
6	46	51	41	46	45	51	45	48
7	74	86	66	76	73	85	70	77
<b>MEDIA</b>	<b>61,5</b>	<b>72,1</b>	<b>56,9</b>	<b>65,3</b>	<b>61,5</b>	<b>72,9</b>	<b>55,5</b>	<b>58,8</b>
D. E.	20,8	20,6	13,1	18,9	19,8	27,8	9,8	11,5

Tabla 13. Flujo pulmonar izquierdo (l.min<sup>-1</sup>) obtenidos con las distintas dosis de iNO

Animal	VUP <sub>1</sub>	10 ppm	VUP <sub>2</sub>	20 ppm	VUP <sub>3</sub>	40 ppm	VUP <sub>4</sub>	80 ppm
1	2,25	2,67	2,20	2,44	1,65	1,99	2,00	1,73
2	2,59	2,75	2,45	2,61	2,60	2,81	2,38	2,57
3	2,26	2,41	2,00	2,14	2,35	2,50	2,14	2,64
4	2,00	2,28	2,95	3,12	2,37	3,07	2,91	2,99
5	2,54	2,71	2,41	2,77	2,50	2,68	2,54	2,72
6	1,28	1,50	1,25	1,36	1,55	1,64	1,39	1,60
7	2,67	2,76	2,54	2,64	2,48	2,45	2,55	2,59
<b>MEDIA</b>	<b>2,29</b>	<b>2,52</b>	<b>2,38</b>	<b>2,57</b>	<b>2,32</b>	<b>2,54</b>	<b>2,39</b>	<b>2,49</b>
D.E.	0,48	0,47	0,6	0,62	0,49	0,51	0,56	0,55

Tabla 14. Gasto cardíaco (l.min<sup>-1</sup>) obtenido con las distintas dosis de iNO

Animal	VUP <sub>1</sub>	10 ppm	VUP <sub>2</sub>	20 ppm	VUP <sub>3</sub>	40 ppm	VUP <sub>4</sub>	80 ppm
1	3,7	3,7	3,1	3,4	2,5	2,8	3,5	2,9
2	2,9	2,9	3,0	2,9	2,9	2,9	3,2	3,1
3	3,5	3,6	4,1	3,9	4,0	3,6	3,6	3,8
4	3,4	3,0	4,4	4,0	3,5	3,8	4,2	4,2
5	3,5	3,3	4,3	4,4	3,8	3,8	4,1	4,2
6	3,0	3,0	3,3	3,0	3,8	3,4	3,3	3,5
7	4,4	4,3	3,7	3,8	3,9	3,5	4,2	4,2
<b>MEDIA</b>	<b>3,5</b>	<b>3,4</b>	<b>3,7</b>	<b>3,6</b>	<b>3,5</b>	<b>3,4</b>	<b>3,7</b>	<b>3,7</b>
D.E.	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,4	0,4	0,5

Tabla 15. Porcentaje de flujo respecto al GCC obtenido con las distintas dosis de iNO.

Animal	VUP <sub>1</sub>	10 ppm	VUP <sub>2</sub>	20 ppm	VUP <sub>3</sub>	40 ppm	VUP <sub>4</sub>	80 ppm
1	60,8	73,2	71,0	71,8	66,0	71,1	57,1	59,7
2	87,8	93,2	81,7	88,5	89,7	96,9	74,4	82,9
3	64,0	66,0	48,8	54,9	58,8	69,4	59,4	69,5
5	58,8	76,0	67,1	78,0	68,7	80,8	69,3	71,2
6	72,6	82,1	56,1	62,9	66,7	70,5	61,9	64,8
7	42,7	50,0	37,9	45,3	41,3	48,2	42,1	45,7
8	60,7	64,2	68,6	69,5	64,3	71,0	60,7	61,7
<b>MEDIA</b>	<b>63,9</b>	<b>72,1</b>	<b>61,6</b>	<b>67,3</b>	<b>65</b>	<b>72,6</b>	<b>60,7</b>	<b>65,1</b>
D.E.	13,8	13,8	14,9	14,4	14,3	14,5	10,2	11,5

Los valores de los tiempos basales (VUP) son los inmediatamente anteriores a la administración de la dosis correspondiente en cada animal.

### 5.3 FASE II: ESTUDIO EXPERIMENTAL

En esta fase se estudiaron 14 animales en los que se evaluó el efecto del iNO, de la administración de los inhibidores indometacina o L-NAME y de la combinación de éstos con iNO. A todos los animales se les administró primero 40 ppm de iNO durante 10 minutos. Después de un periodo de reposo se dividieron en dos grupos de 7 animales cada uno a los que se les administró el inhibidor asignado, seguido de una nueva dosis de iNO.

En la tabla 16 se muestran los datos iniciales de los animales que cumplieron los criterios de inclusión en el estudio.

**Tabla 16. Datos correspondientes a los parámetros de inclusión de cada animal**

ANIMAL	PESO (Kg)	T <sup>a</sup> (°C)	Hb (mg/dl)	LEUCOCITOS (cel/mm <sup>3</sup> )	PAPM (mmHg)	QS/QT (%)
1	30	39,0	11,1	4.400	13	9,7
2	26	39,2	10,0	3.580	15	11,5
3	25	40,1	10,2	4.490	14	9,6
4	20	38,1	10,9	5.380	13	9,6
5	25	39,4	11,3	8.160	14	15,8
6	29	39,6	9,0	5.440	16	16,6
7	33	39,6	11,1	4.040	16	12,1
8	27	39,2	9,9	4.450	12	8,9
9	28	39,8	9,9	3.810	17	16,4
10	32	39,1	9,8	3.470	16	16,4
11	28	37,9	9,4	9.970	14	15,6
12	29	38,7	10,9	8.830	18	14,1
13	27	38,4	11,7	6.790	17	16,8
14	28	38,5	9,7	5.520	16	17,1

Al final del capítulo aparecen las tablas con los datos individuales de los animales de ambos grupos, correspondientes a las variables hemodinámicas sistémicas y pulmonares medidos en cada tiempo: FC, PAM, PAPM, PVC, PCP y GC y los parámetros hemodinámicos calculados a partir de estos valores: RVS y RVP (tablas 24-41).

A continuación se muestran los datos correspondientes al flujo pulmonar izquierdo y los parámetros calculados a partir del mismo: GCC, PGCC (tablas 42-45).

Por último, aparecen las determinaciones gasométricas en sangre arterial: PaO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub>, PvO<sub>2</sub>, el *shunt* calculado y pH (tabla 46-53) y los valores de la presión pico de la vía aérea (tablas 56 y 57).

Los resultados del análisis del efecto de los distintos tratamientos sobre los parámetros hemodinámicos, flujo y el intercambio de gases se muestran en las tablas 17, 18 y 19. La intensidad del efecto se expresa como porcentaje de variación de cada parámetro con respecto a su valor basal previo. El efecto de las combinaciones de inhibidor + iNO se comparó con el valor basal previo a la administración del inhibidor.

### **5.3.1 EFECTOS DEL ÓXIDO NÍTRICO INHALADO**

Para valorar los efectos del óxido nítrico inhalado se incluyeron los datos de los 14 animales estudiados ya que, como se muestra más adelante, no se encontraron diferencias entre ambos grupos.

#### **5.3.1.1 Efectos sobre los parámetros hemodinámicos**

Los parámetros hemodinámicos sistémicos medidos y calculados (GCC, FC, PAM, PVC, PCP, RVS) permanecieron estables durante la inhalación de NO.

En cuanto a los parámetros hemodinámicos pulmonares, la administración de iNO causó una disminución significativa de la PAPM media de 23 a 20 mmHg ( $p=0,0002$ ) y de las RVP de 290 a 231 mmHg ( $p=0,0005$ ). Aunque se aproximaron, estos valores no llegaron a alcanzar los valores previos a la ventilación unipulmonar. Por tanto, la inhalación de 40 ppm de NO produjo una vasodilatación pulmonar selectiva sin causar ningún efecto sistémico.

#### **5.3.1.2 Efectos sobre el flujo pulmonar izquierdo**

Al igual que en los animales de la Fase I, el iNO provocó una redistribución de flujo hacia el pulmón ventilado. Se observó un aumento de perfusión de 0,35 l.min<sup>-1</sup> en valor absoluto que corresponde a un 15%, ( $p=0,0023$ ). Dado que el GCC no se

modificó significativamente con la inhalación de NO, la relación flujo/GCC también aumentó de 53 a 59% ( $p=0,0008$ ).

### **5.3.1.3 Efectos sobre el intercambio de gases**

Como ya se vio en la Fase I, la administración de iNO dio lugar a un aumento significativo de la PaO<sub>2</sub>. Se observó un incremento de 61 a 68 mmHg, ( $p=0,0001$ ). La PvO<sub>2</sub> también aumentó de 38 a 42 mmHg ( $p=0,0239$ ). Se observó además una disminución significativa de la mezcla venosa o *shunt* calculado de 55 a 47% ( $p=0,0001$ ). La disminución del PaCO<sub>2</sub> y el aumento del pH arterial no alcanzaron significación estadística.

Por tanto, la vasodilatación selectiva del pulmón ventilado producida por el iNO causó un aumento de la distribución de flujo hacia ese pulmón, disminuyendo la mezcla venosa y mejorando significativamente el intercambio de gases.

## **5.3.2 EFECTOS DE LA N<sup>G</sup> NITRO L-ARGININA METIL ÉSTER**

### **5.3.2.1 Efectos sobre los parámetros hemodinámicos**

La administración de L-NAME tuvo una repercusión altamente significativa en la hemodinámica sistémica y pulmonar caracterizada por una gran vasoconstricción. La PAM aumentó de 98 a 110 mmHg ( $p=0,0031$ ) y las RVS aumentaron de 1705 a 3026 dinas.s<sup>-1</sup>.cm<sup>-5</sup> ( $p=0,0011$ ). Se observó una marcada disminución del GCC del 30% que corresponde a una disminución de 1,5 l.min<sup>-1</sup> con respecto al periodo basal previo ( $p=0,0013$ ). La disminución de la frecuencia cardíaca no fue significativa y las presiones de llenado PCP y PVC no se modificaron durante la infusión de L-NAME.

El efecto de la L-NAME fue aún más marcado sobre los parámetros pulmonares. La PAPM aumentó de 23 a 35 mmHg ( $p=0,0024$ ) y las RVP totales aumentaron de un valor medio de 281 a 706 dinas.s<sup>-1</sup>.cm<sup>-5</sup> ( $p=0,0073$ ).

### **5.3.2.2 Efectos sobre el flujo pulmonar izquierdo**

El flujo que recibió el pulmón ventilado durante la administración de L-NAME disminuyó en valor absoluto, aunque este descenso no fue significativo. Pero debido al

mayor descenso del GCC (-30%), el resultado de la relación flujo pulmonar izquierdo/GCC fue un aumento significativo que pasó de 50 a 65% ( $p=0,0145$ ).

### **5.3.2.3 Efectos sobre el intercambio de gases**

La administración de L-NAME no aumentó la  $PaO_2$  ni disminuyó la  $PvO_2$  de forma significativa, sin embargo, la mezcla venosa o *shunt* calculado disminuyó del 54% al 43% ( $p=0,0015$ ).

## **5.3.3 EFECTOS DE LA INDOMETACINA**

### **5.3.3.1 Efectos sobre los parámetros hemodinámicos**

Al igual que la L-NAME, la administración de indometacina tuvo un efecto vasoconstrictor generalizado aunque de menor intensidad. Se observó un aumento de la PAM de 102 a 116 mmHg ( $p=0,0008$ ) y de las RVS de 1884 a 2147  $\text{dinas}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{cm}^{-5}$  ( $p=0,0220$ ). La indometacina no modificó el GCC ni la FC.

En cuanto a los parámetros pulmonares causó un aumento de la PAPM que pasó de 23 a 28 mmHg ( $p=0,0076$ ). El incremento de las RVP no alcanzó significación estadística.

### **5.3.3.2 Efectos sobre el flujo pulmonar izquierdo**

No se observaron cambios significativos en la redistribución del flujo pulmonar tras la administración de indometacina.

### **5.3.3.3 Efectos sobre el intercambio de gases**

La indometacina tampoco tuvo ningún efecto beneficioso sobre el intercambio de gases. No modificó de manera significativa la  $PaO_2$ , ni la  $PvO_2$ , en cambio produjo un ligero aumento del *shunt* calculado del 5%. Se observó una disminución significativa del pH arterial de 7,32 a 7,28 que se puede explicar por una tendencia al aumento de la  $PaCO_2$  del 10%, aunque no fue significativo.

### **5.3.4 EFECTOS DE LA COMBINACIÓN DE N<sup>o</sup> NITRO-L-ARGININA METIL ÉSTER Y ÓXIDO NÍTRICO INHALADO**

#### **5.3.4.1 Efectos sobre los parámetros hemodinámicos**

El iNO no tuvo ningún efecto sobre la modificación de los parámetros sistémicos causado por la administración de la L-NAME. La disminución del GCC (36%) y el aumento de la PAM (12,5%), comparados con el valor basal previo, fueron similares a los obtenidos con el inhibidor solo. En cambio, atenuó los cambios producidos sobre la hemodinámica pulmonar al contrarrestar la vasoconstricción en el pulmón ventilado. La PAPM disminuyó de los 35 mmHg alcanzados con la L-NAME a 27 mmHg llegando a recuperar prácticamente los valores basales previos a la administración de la misma. Las RVP también disminuyeron significativamente de 706 a 523 dinas.s<sup>-1</sup>.cm<sup>-5</sup> al añadir el iNO aunque no alcanzaron los valores previos a la administración del inhibidor (281 dinas.s<sup>-1</sup>.cm<sup>-5</sup>). Al analizar este parámetro calculado se debe tener en cuenta que es un valor calculado a partir del GCC que continuaba muy bajo, debido a que la reintroducción del iNO no tuvo ningún efecto sobre los parámetros sistémicos.

#### **5.3.4.2 Efectos sobre el flujo pulmonar izquierdo**

La inhalación de NO dio lugar a una importante redistribución del flujo pulmonar. El flujo izquierdo absoluto, que había disminuido después de la administración de L-NAME, aumentó de 2,1 a 2,5 l. min<sup>-1</sup> recuperando los valores basales previos. El GCC en cambio, no se recuperó. Como resultado de estos cambios la relación flujo pulmonar izquierdo/GCC aumentó del 65% al 81% (p=0,0007).

#### **5.3.4.3 Efectos sobre el intercambio de gases**

La administración de L-NAME junto con iNO tuvo un marcado efecto beneficioso sobre el intercambio de gases comparado con los valores previos a la administración del inhibidor. La PaO<sub>2</sub> aumentó de 57 a 98 mmHg (p= 0,0007), la PvO<sub>2</sub> también se incrementó de 38 a 43 mmHg (p=0,0125) y la mezcla venosa o *shunt* disminuyó de 54% a 30% (p= 0,0001).

### **5.3.5 EFECTOS DE LA COMBINACIÓN DE INDOMETACINA Y ÓXIDO NÍTRICO INHALADO**

#### **5.3.5.1 Efectos sobre los parámetros hemodinámicos**

El efecto sobre los parámetros sistémicos obtenido con la combinación de indometacina y NO inhalado fue similar al causado por la indometacina sola. El GCC y la FC no se modificaron y el aumento de la PAM fue del 8% ( $p=0,0026$ ). El aumento de las RVS no llegó a ser significativo comparado con el valor basal previo, a pesar de que la magnitud del mismo fue similar al obtenido con el inhibidor solo.

Sin embargo, la respuesta hemodinámica pulmonar a la indometacina fue parcialmente atenuada por la inhalación de NO. La PAMP disminuyó significativamente de 28 a 24 mmHg ( $p=0,0225$ ), aunque se mantuvieron elevadas con respecto a los valores previos a la administración del inhibidor. Las RVP no se diferenciaron de los valores basales.

#### **5.3.5.2 Efectos sobre el flujo pulmonar**

La combinación de indometacina y NO inhalado causó un aumento de la redistribución de flujo hacia el pulmón ventilado comparado con el valor basal previo a la administración del inhibidor. Se observó un aumento tanto del valor absoluto de 2,37 a 2,60 l.min<sup>-1</sup> ( $p=0,0436$ ), como del valor relativo flujo pulmonar/GCC, que pasó de 52 a 60% ( $p=0,0382$ ).

#### **5.3.5.3 Efectos sobre el intercambio de gases**

La inhalación de NO después de la administración de indometacina produjo una mejoría del intercambio de gases en comparación con los valores previos a la administración de indometacina. La PaO<sub>2</sub> aumento de 61 a 75 mmHg ( $p=0,0005$ ) y la PvO<sub>2</sub> aumentó de 40 a 46 mmHg ( $p= 0,0108$ ). La disminución de la mezcla venosa o *shunt* calculado, sin embargo, no fue significativa. Se objetivó un descenso significativo del pH de 0,4 puntos, aunque el aumento de la PaCO<sub>2</sub> no fue significativo



Tabla 17. Porcentaje de variación de los parámetros hemodinámicos con los distintos tratamientos

	NO	L-NAME	INDO	L-NAME+NO	INDO+NO
FC	-0,1 ± 3,1 <i>0,9542</i>	-7,1 ± 4,4 <i>0,1069</i>	7,9 ± 6,4 <i>0,2825</i>	-6,7 ± 6,1 <i>0,2151</i>	5,3 ± 7,4 <i>0,6036</i>
GCC	4,1 ± 4,1 <i>0,4456</i>	-30,2 ± 3,8 <i>0,0013</i>	1 ± 4,7 <i>0,9233</i>	-36,4 ± 4,6 <i>0,0011</i>	-2,8 ± 5,4 <i>0,5102</i>
PAM	0,5 ± 3 <i>0,8723</i>	12,7 ± 2,7 <i>0,0031</i>	14,1 ± 2,2 <i>0,0008</i>	12,5 ± 2,6 <i>0,0028</i>	8 ± 1,6 <i>0,0026</i>
PAPM	-11,1 ± 2,1 <i>0,0002</i>	52,5 ± 10,5 <i>0,0024</i>	21,8 ± 5,5 <i>0,0076</i>	14,9 ± 8,4 <i>0,1270</i>	6,1 ± 1,9 <i>0,0225</i>
PVC	-6 ± 4 <i>0,1575</i>	-8,9 ± 6,3 <i>0,2043</i>	9,9 ± 9,9 <i>0,3536</i>	-12,1 ± 5,3 <i>0,0632</i>	11,1 ± 10,2 <i>0,3185</i>
PCP	-1,8 ± 3,1 <i>0,5597</i>	28,3 ± 11,8 <i>0,0501</i>	18,7 ± 10,9 <i>0,1377</i>	24,9 ± 11,5 <i>0,0735</i>	7,2 ± 6,6 <i>0,3171</i>
RVS	-1,4 ± 4,7 <i>0,7622</i>	79 ± 13,5 <i>0,0011</i>	14,6 ± 4,7 <i>0,0220</i>	103,2 ± 17,5 <i>0,0011</i>	13,7 ± 5,9 <i>0,0583</i>
RVP	-19,3 ± 4,2 <i>0,0005</i>	178,2 ± 44,9 <i>0,0073</i>	30,2 ± 13,9 <i>0,0732</i>	109,6 ± 40,9 <i>0,0367</i>	15,1 ± 9,6 <i>0,1672</i>

Tabla 18. Porcentaje de variación del flujo y de los parámetros derivados

	NO	L-NAME	INDO	L-NAME+NO	INDO+NO
Flujo	15 ± 4 <i>0,0023</i>	-9,6 ± 6,9 <i>0,2187</i>	0,3 ± 5,4 <i>0,9532</i>	4,9 ± 10,7 <i>0,6598</i>	11,7 ± 4,6 <i>0,0436</i>
Flujo/GCC	11,3 ± 2,8 <i>0,0008</i>	30,7 ± 9,9 <i>0,0145</i>	-0,8 ± 2,7 <i>0,7527</i>	65,1 ± 12,6 <i>0,0007</i>	16,3 ± 6 <i>0,0382</i>

Tabla 19. Porcentaje de variación de los parámetros respiratorios

	NO	L-NAME	INDO	L-NAME+NO	INDO+NO
PaO <sub>2</sub>	13,4 ± 1,9 <i>0,0001</i>	10,2 ± 6,8 <i>0,1861</i>	-3,3 ± 2,5 <i>0,2341</i>	76,8 ± 12,2 <i>0,0007</i>	19,5 ± 2,9 <i>0,0005</i>
PaCO <sub>2</sub>	-3,3 ± 2,6 <i>0,2380</i>	4,2 ± 2,4 <i>0,1298</i>	9,9 ± 4 <i>0,0642</i>	-9,6 ± 7,1 <i>0,2279</i>	6,5 ± 3,3 <i>0,0976</i>
PvO <sub>2</sub>	8,9 ± 3,3 <i>0,0239</i>	-7,2 ± 4,8 <i>0,1586</i>	-1 ± 3,8 <i>0,6927</i>	14,1 ± 7,8 <i>0,0125</i>	15,8 ± 4,9 <i>0,0108</i>
pH	0,1 ± 0,1 <i>0,1772</i>	-0,3 ± 0,1 <i>0,0744</i>	-0,6 ± 0,1 <i>0,0015</i>	0,4 ± 0,3 <i>0,2518</i>	-0,4 ± 0,1 <i>0,0139</i>
Q <sub>s</sub> /Q <sub>T</sub>	-12,3 ± 2,1 <i>0,0001</i>	-20,2 ± 3,7 <i>0,0015</i>	5,1 ± 1,6 <i>0,0197</i>	-44,3 ± 3,4 <i>0,0001</i>	-3,9 ± 2,7 <i>0,1885</i>
P <sub>via aérea</sub>	1,4 ± 4,7 <i>0,9423</i>	0,4 ± 2,9 <i>0,8049</i>	6,3 ± 3,3 <i>0,054</i>	10,3 ± 6,1 <i>0,1180</i>	8,2 ± 3,1 <i>0,0311</i>

Valores expresados en media ± error estándar. En cursiva: *p* valor del test de significación. Los espacios sombreados corresponden a un *p* valor < 0,05 respecto al periodo basal previo.

**5.3.6 COMPARACIONES INTRAGRUPOS Y ENTRE GRUPOS**

Inicialmente se analizaron conjuntamente los resultados mediante un modelo ANOVA de medidas repetidas, considerando el factor “grupo” (L-NAME *vs* indometacina) como factor entre sujetos y el factor “nivel experimental” (NO, inhibidor, inhibidor+NO) como factor dentro de sujetos. La tabla 20 muestra el resultado de las comparaciones de los parámetros más relevantes del “grupo”, del “nivel experimental” y la interacción de ambos “grupo \* nivel” sobre los parámetros más relevantes.

Para todas las variables excepto la PAM resultaron significativos ambos factores y la interacción entre ellos, lo que indica que hay diferencias significativas entre grupos y entre nivel experimental dentro del mismo grupo. El que aparezca significativa la interacción entre ambos factores es debido a que el primer nivel experimental (NO) es el mismo para ambos grupos y por tanto no hay diferencias significativas entre ellos.

**Tabla 20. Análisis de la varianza para medidas repetidas (p valor)**

	FUENTE DE VARIACIÓN		
	GRUPO (G)	NIVEL EXPERIMENTAL (NE)	(G * NE)
	L-NAME <i>vs</i> Indometacina	NO <i>vs</i> Inhibidor <i>vs</i> Inhibidor+NO	
<b>GCC</b>	<0,0001	0,0039	0,0439
<b>PAM</b>	0,1812	0,0056	0,4919
<b>PAPM</b>	0,0410	<0,0001	0,0524
<b>Flujo/GCC</b>	0.0028	0,0008	0,0130
<b>PaO<sub>2</sub></b>	0,0038	<0,0001	<0,0001
<b>Q<sub>VA</sub>/Q<sub>T</sub></b>	<0,0001	<0,0001	<0,0001

En sombreado aparecen las diferencias significativas. Se utilizó la corrección de Huynh–Feldt de los p valores para el factor de medidas repetidas.

Para ver dónde se hallaban las diferencias significativas se procedió a las comparaciones múltiples oportunas para cada una de las variables. Dentro de cada grupo, se comparó el efecto del iNO, del inhibidor y de la combinación de ambos sobre

los principales parámetros hemodinámicos (PAM, PAPM y GCC), de redistribución de flujo (flujo/GCC) y de intercambio de gases ( $\text{PaO}_2$  y  $Q_{\text{VA}}/Q_{\text{T}}$ ). En la tabla 21 se muestran los resultados del análisis comparativo para el grupo L-NAME y en la Tabla 22 los resultados obtenidos para el grupo Indometacina.

También se realizaron las comparaciones entre ambos grupos del efecto sobre dichos parámetros del NO, de los inhibidores entre sí y de las combinaciones inhibidor + iNO entre sí (tabla 23). Como era predecible, no se encontraron diferencias significativas en ningún parámetro para el NO entre los animales de ambos grupos.

#### **5.3.6.1 L-NAME vs NO**

La comparación de las variables hemodinámicas mostró una diferencia claramente significativa en el efecto sobre la PAPM ya que el NO la disminuyó mientras que la L-NAME la aumentó. La diferencia en el efecto sobre GCC no llegó a ser significativa después de aplicar el test de corrección (que requería una  $p < 0,0166$ ) para un nivel de significación  $\alpha = 5\%$ ) aunque la  $p$  obtenida fue inferior a 0,05. Tampoco se encontraron diferencias en la relación flujo/GCC ni en las variables de intercambio de gases.

#### **5.3.6.2 L-NAME+NO vs NO**

El GCC fue significativamente inferior con la combinación de L-NAME+iNO, pero la PAM y la PAPM no se diferenciaron. La redistribución de flujo obtenida con la combinación del L-NAME+iNO fue significativamente superior a la obtenida con el iNO solo ( $p=0,0119$ ), así como la mejoría de los parámetros del intercambio de gases  $\text{PaO}_2$  ( $p=0,0016$ ) y  $Q_{\text{VA}}/Q_{\text{T}}$  ( $p=0,0001$ ).

#### **5.3.6.3 L-NAME+NO vs L-NAME**

Los parámetros hemodinámicos solo se diferenciaron significativamente en el efecto sobre la PAPM que aumentó menos con la combinación de L-NAME + iNO. El efecto sobre la relación el flujo/GCC también fue significativamente más intenso ( $p=0,0012$ ) y en consecuencia, los parámetros relativos al intercambio de gases  $\text{PaO}_2$

## **Resultados**

---

( $p=0,0005$ ) y  $Q_{VA}/Q_T$  ( $p=0,0016$ ) presentaron cambios significativamente más favorables con esta combinación comparados con la L-NAME sola.

Estos resultados demuestran que la combinación de L-NAME + iNO tuvo un efecto sinérgico sobre la redistribución de flujo y el intercambio de gases ya que fue significativamente mayor que el obtenido con la L-NAME y el iNO por separado.

### **5.3.6.4 Indometacina vs NO**

Los efectos hemodinámicos de la indometacina se diferenciaron del NO en la evolución de la PAPM ya que tuvieron una repercusión opuesta. La diferencia en la distribución de flujo no alcanzó significación estadística. Sin embargo, El iNO fue significativamente más eficaz que la Indometacina en la mejora de los parámetros del intercambio de gases  $PaO_2$  ( $p=0,0021$ ) y  $Q_{VA}/Q_T$  ( $p=0,0004$ ).

### **5.3.6.5 Indometacina+NO vs NO**

Como en el caso anterior, la combinación de indometacina+NO tuvo un efecto significativamente mayor sobre la PAPM que el iNO. Sin embargo, no fue superior al iNO solo en la redistribución de flujo ni en la mejoría de los parámetros de intercambio de gases.

### **5.3.6.6 Indometacina+NO vs indometacina**

No se encontraron diferencias significativas respecto al efecto sobre los parámetros hemodinámicos sistémicos, en cambio, la PAPM fue menor con la combinación de indometacina+iNO. También se observó una mejor redistribución de flujo ( $p=0,0118$ ) y una mejoría de los parámetros del intercambio de gases  $PaO_2$  ( $p<0,0001$ ) y  $Q_{VA}/Q_T$  ( $p=0,0145$ ) con la combinación de indometacina+NO con respecto a la indometacina sola.

Estos datos revelan que la indometacina no tuvo efectos relevantes sobre la distribución de flujo ni el intercambio de gases y que la combinación de indometacina más iNO no tuvo un efecto sinérgico sobre dichos parámetros ya que no se diferenció del obtenido con iNO solo.

### **5.3.6.7 NO vs NO**

Como ya se ha citado, no se encontraron diferencias significativas entre los animales de ambos grupos, por lo que los datos de los efectos del iNO con respecto al valor basal previo se analizaron conjuntamente. Sin embargo, para realizar las comparaciones entre los distintos niveles experimentales con el NO dentro de cada grupo se utilizaron los siete animales correspondientes a ese grupo.

### **5.3.6.8 L-NAME vs indometacina**

La principal diferencia entre los dos tratamientos sobre los parámetros hemodinámicos fue la disminución del GCC, que fue más marcada con la L-NAME ( $p=0,0002$ ). La relación flujo/GCC obtenido con la L-NAME fue más favorable ( $p=0,0096$ ) que con la indometacina y esta diferencia repercutió en el  $Q_{VA}/Q_T$  ( $p<0,0001$ ) que fue significativamente menor. Sin embargo, esta mejoría no se observó en el efecto sobre la  $PaO_2$ .

### **5.3.6.9 L-NAME+NO vs indometacina+NO**

La repercusión hemodinámica fue más marcada con la combinación de L-NAME+NO que causó un mayor descenso del GCC ( $p=0,0005$ ) aunque el efecto de ambas combinaciones doble la PAM y la PAPM fue similar. La combinación de L-NAME+NO fue significativamente más eficaz en la redistribución del flujo ( $p=0,0044$ ) y en la mejoría de los parámetros del intercambio de gases  $PaO_2$  ( $p=0,0006$ ) y  $Q_{VA}/Q_T$  ( $p<0,0001$ ).

Por tanto, el inhibidor de la síntesis de NO endógeno L-NAME tuvo unos efectos hemodinámicos, de distribución de flujo y de intercambio de gases más intensos que los observados con el inhibidor de la síntesis de PG indometacina.

## Resultados

Tabla 21. Comparación del efecto de los tratamientos dentro del grupo L-NAME

		GCC	PAM	PAPM	Flujo/GCC	PaO <sub>2</sub>	Q <sub>VA</sub> /Q <sub>T</sub>
L-NAME vs NO	M	-32,34	9,34	63,47	17,50	0,25	-8,47
	EE	±10,35	±4,09	±13,21	±11,88	±7,47	±6,53
	<i>p</i>	0,0205	0,0626	0,0030	0,1913	0,9745	0,2423
L-NAME+NO vs NO	M	-38,57	9,11	25,84	51,91	66,81	-32,52
	EE	±11,57	±4,14	±10,82	±14,58	±12,21	±3,78
	<i>p</i>	0,0157	0,0702	0,0542	0,0119	0,0016	0,0001
L-NAME+NO vs L-NAME	M	-6,23	-0,23	-37,62	34,41	66,57	-24,05
	EE	±2,63	±2,49	±6,30	±5,97	±9,86	±4,43
	<i>p</i>	0,0557	0,9299	0,0010	0,0012	0,0005	0,0016

Tabla 22. Comparación del efecto de los tratamientos dentro del grupo indometacina

		GCC	PAM	PAPM	Flujo/GCC	PaO <sub>2</sub>	Q <sub>s</sub> /Q <sub>T</sub>
INDO vs NO	M	-4,88	16,45	32,93	-10,15	-20,18	17,83
	EE	±6,77	±6,85	±6,47	±5,08	±3,90	±2,57
	<i>p</i>	0,4985	0,0531	0,0023	0,0926	0,0021	0,0004
INDO+NO vs NO	M	-8,80	10,41	17,23	6,91	2,59	8,79
	EE	±8,04	±6,46	±3,39	±7,36	±4,58	±4,07
	<i>p</i>	0,3154	0,1584	0,0023	0,3841	0,5927	0,0742
INDO+NO vs INDO	M	-3,92	-6,04	-15,70	17,05	22,77	-9,04
	EE	±3,55	±2,20	±4,04	±4,77	±2,50	±2,65
	<i>p</i>	0,3121	0,0336	0,0082	0,0118	<0,0001	0,0145

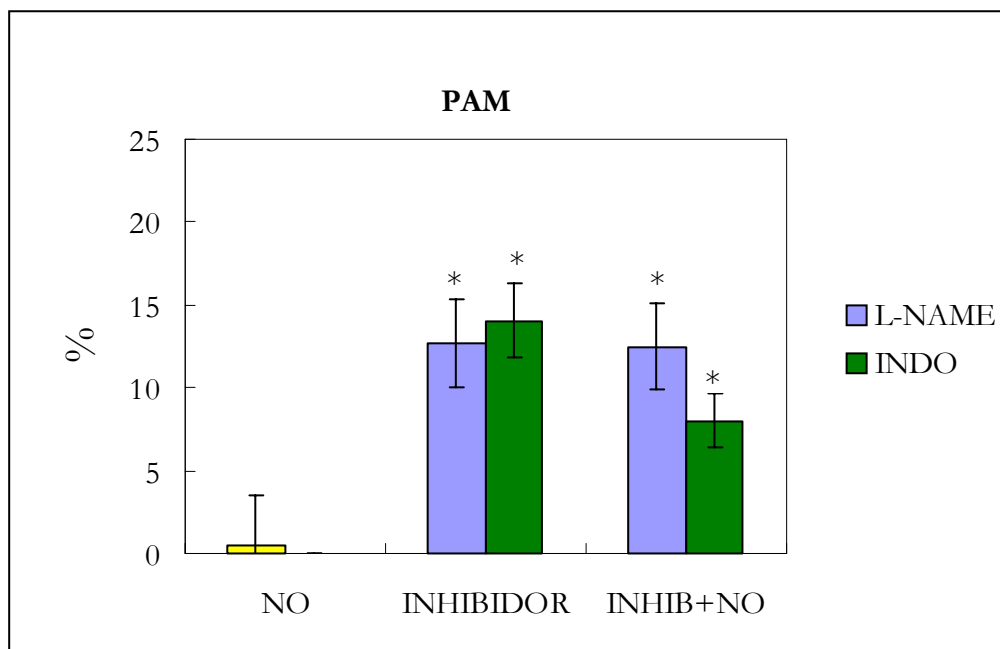
Tabla 23. Comparación del efecto de los tratamientos entre grupos

		GCC	PAM	PAPM	Flujo/GCC	PaO <sub>2</sub>	Q <sub>s</sub> /Q <sub>T</sub>
NO vs NO	M	0,22	0,49	0,14	1,54	3,71	0,62
	EE	0,39	6,01	1,04	2,73	1,85	2,71
	<i>p</i>	0,6596	0,3564	0,9593	0,5162	0,0676	0,8344
L-NAME vs INDO	M	-1,45	9,43	6,56	7,91	7,86	13,55
	EE	0,33	5,91	2,38	4,83	4,16	2,16
	<i>p</i>	0,0002	0,7102	0,0235	0,0096	0,0882	<0,0001
L-NAME+NO vs INDO+NO	M	-1,61	3,86	1,86	23,52	31,86	21,69
	EE	0,38	2,61	1,86	5,75	7,81	2,29
	<i>p</i>	0,0005	0,1655	0,3264	0,0044	0,0006	<0,0001

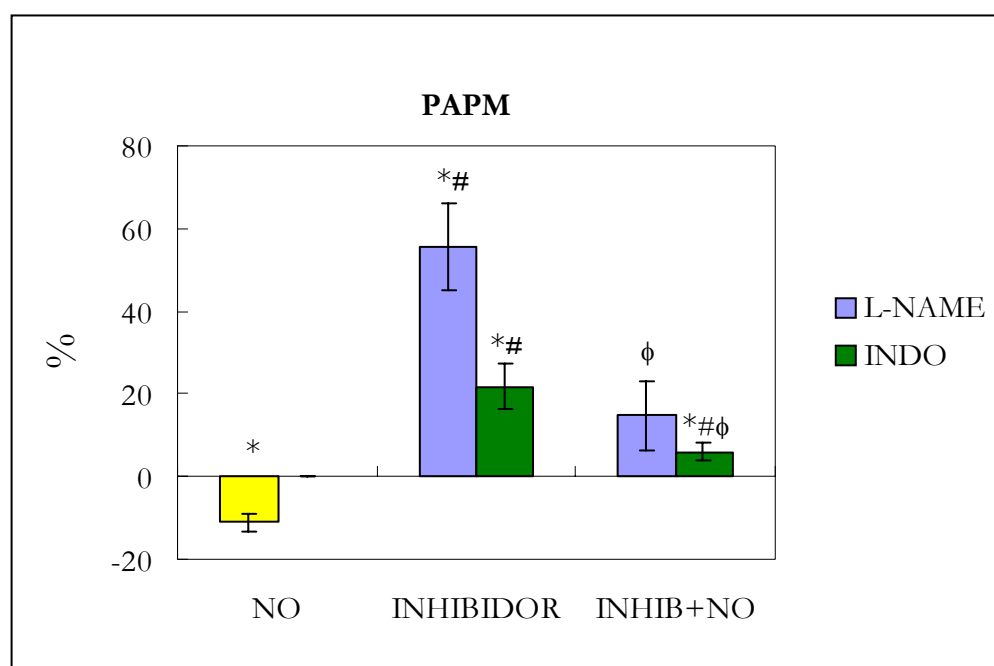
Valores expresados en M=media, ± EE= error estándar, *p*=p valor. Las diferencias significativas según la corrección de Bonferroni aparecen destacadas en sombreado oscuro. Para un nivel de significación  $\alpha=5\%$ , el p valor sería:  $p=0,05/3=0,0166$ . Los parámetros cuya diferencia no alcanza significación según esta corrección, pero con un p valor  $< 0,05$  aparecen en sombreado claro.

A continuación se muestra la representación gráfica de los cambios de los parámetros más relevantes observados con los distintos tratamientos.

**Gráfica 4. Porcentaje de variación de la presión arterial media obtenido con el NO inhalado, los inhibidores L-NAME e indometacina y la combinación de inhibidor + NO inhalado con respecto al valor basal previo. \* p< 0,05 con respecto al valor basal.**

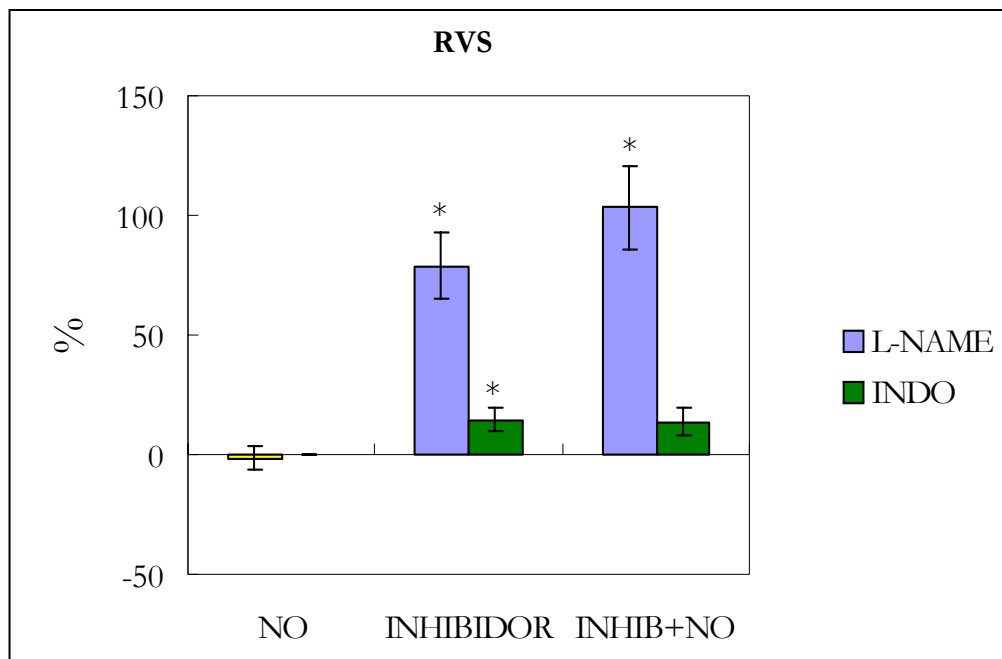


**Gráfica 5. Porcentaje de variación de la presión arterial pulmonar media obtenido con el NO inhalado, los inhibidores L-NAME e Indometacina y la combinación de inhibidor + NO inhalado con respecto al valor basal previo. \* p< 0,05 con respecto al valor basal, # p< 0,0166 con respecto a NO, φ p< 0,0166 con respecto a inhibidor solo.**

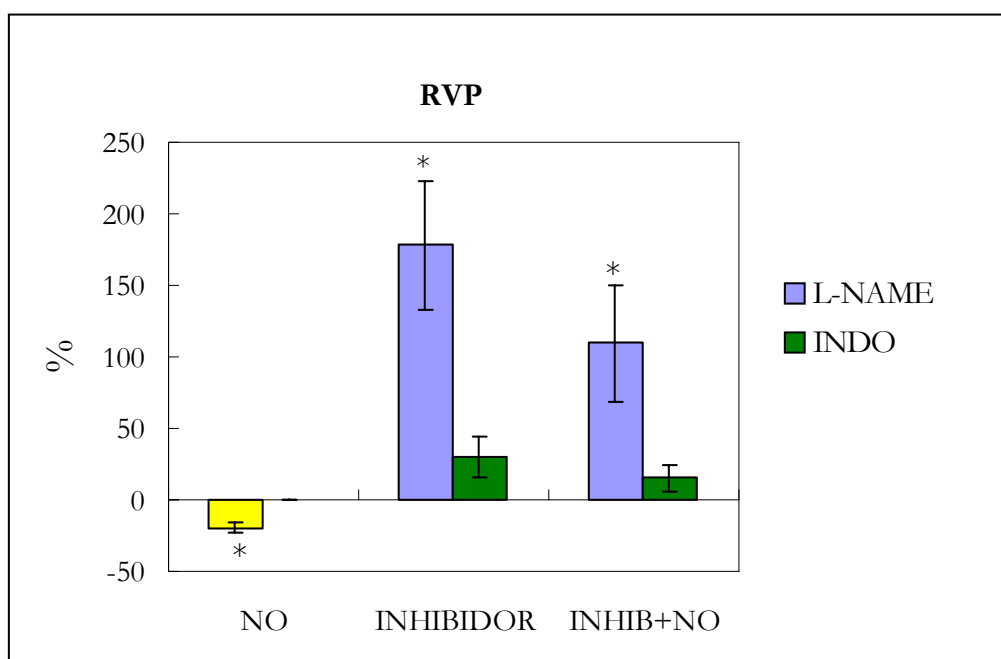


## Resultados

Gráfica 6. Porcentaje de variación de las resistencias vasculares sistémicas obtenido con el NO inhalado, los inhibidores L-NAME e Indometacina y la combinación de inhibidor + NO inhalado con respecto al valor basal previo. \*  $p < 0,05$  con respecto al valor basal.

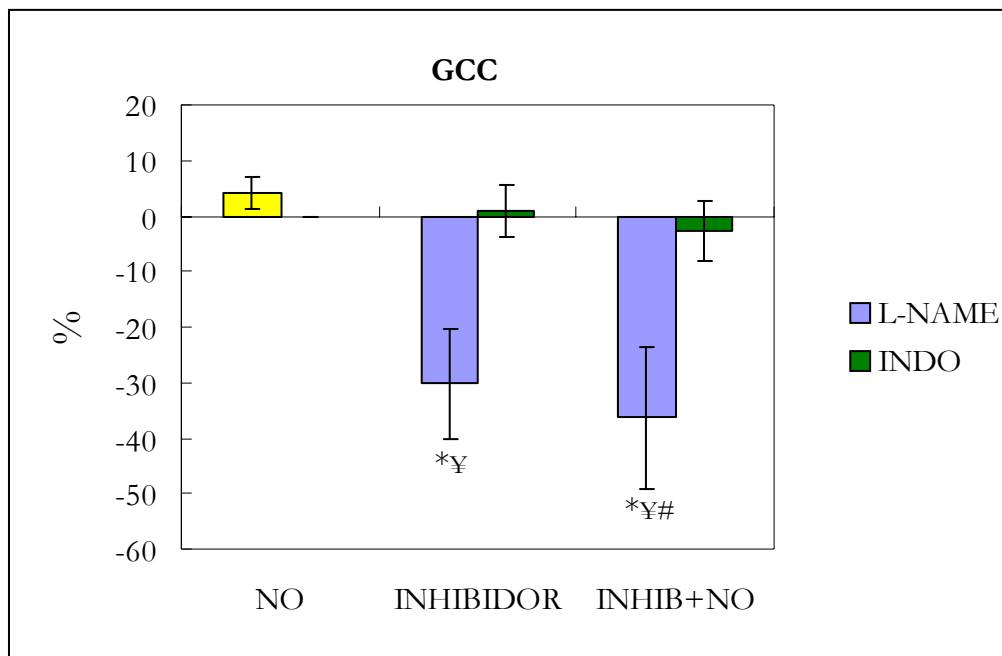


Gráfica 7. Porcentaje de variación de las resistencias vasculares pulmonares obtenido con el NO inhalado, los inhibidores L-NAME e Indometacina y la combinación de inhibidor + NO inhalado con respecto al valor basal previo. \*  $p < 0,05$  con respecto al valor basal.

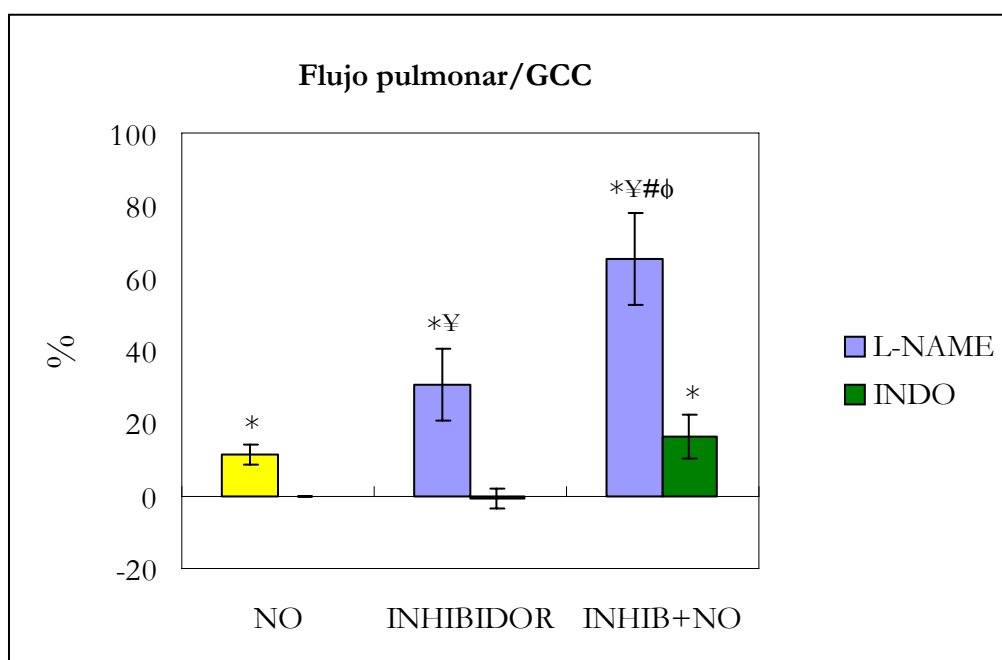




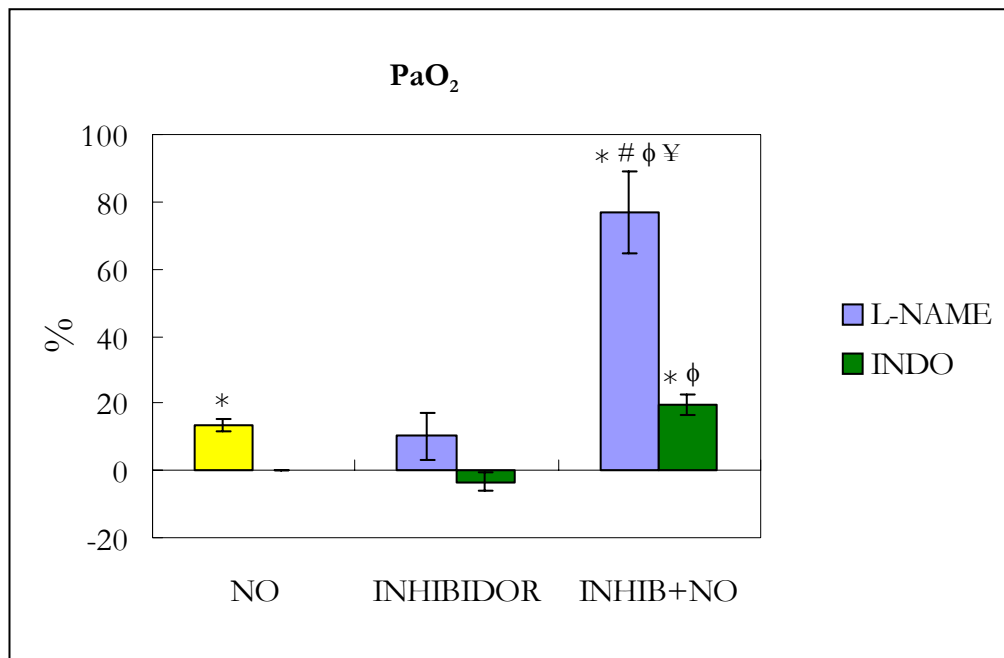
Gráfica 8. Porcentaje de variación del gasto cardíaco corregido obtenido con el NO inhalado, los inhibidores L-NAME e Indometacina y la combinación de inhibidor + NO inhalado con respecto al valor basal previo. \*  $p < 0,05$  con respecto al valor basal, ¥  $p < 0,0166$  con respecto al mismo tratamiento entre grupos, #  $p < 0,0166$  con respecto a NO.



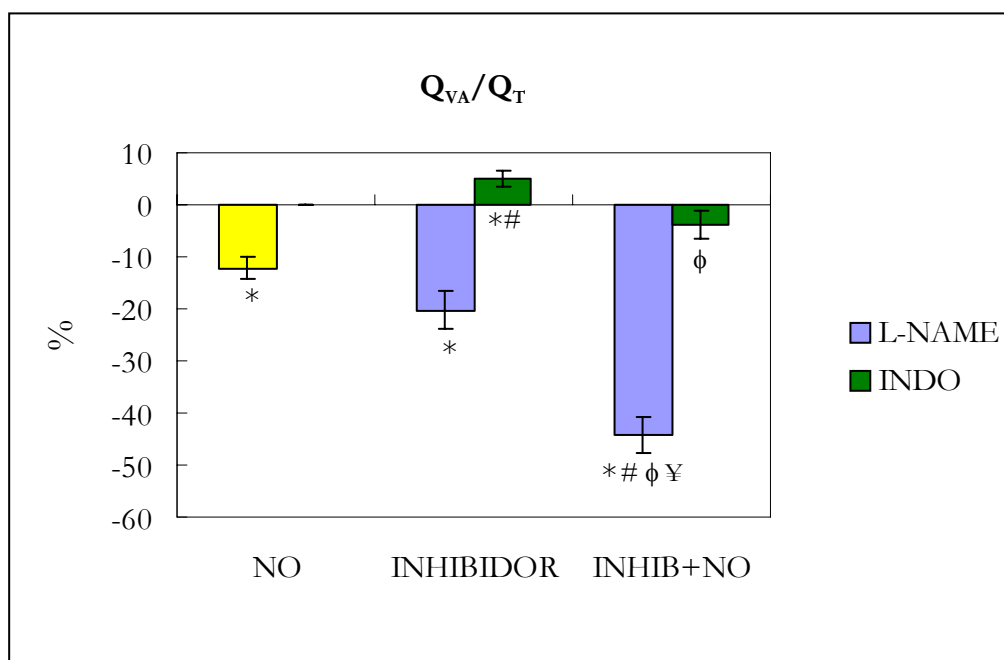
Gráfica 9. Porcentaje de variación de la relación flujo pulmonar izquierdo/gasto cardíaco corregido obtenido con el NO inhalado, los inhibidores L-NAME e Indometacina y la combinación de inhibidor + NO inhalado con respecto al valor basal previo. \*  $p < 0,05$  con respecto al valor basal, #  $p < 0,0166$  con respecto a NO,  $\phi$   $p < 0,0166$  con respecto a inhibidor solo.



Gráfica 10. Porcentaje de variación de la presión arterial de oxígeno obtenido con el NO inhalado, los inhibidores L-NAME e Indometacina y la combinación de inhibidor + NO inhalado con respecto al valor basal previo. \* p< 0,05 con respecto al valor basal, # p< 0,0166 con respecto a NO, φ p< 0,0166 con respecto a inhibidor solo, ¥ p< 0,0166 con respecto al mismo tratamiento entre grupos.



Gráfica 11. Porcentaje de variación del  $Q_{VA}/Q_T$  obtenido con el NO inhalado, los inhibidores L-NAME e Indometacina y la combinación de inhibidor + NO inhalado con respecto al valor basal previo. \* p< 0,05 con respecto al valor basal, # p< 0,0166 con respecto a NO, φ p< 0,0166 con respecto a inhibidor solo, ¥ p< 0,0166 con respecto al mismo tratamiento entre grupos.



---

### 5.3.7 CÁLCULO DE LAS RESISTENCIAS VASCULARES DE CADA PULMÓN

Por último, la colocación de la sonda de flujo en la arteria pulmonar izquierda y el registro del flujo pulmonar permitieron calcular la RVP en este pulmón como se ha descrito en otros estudios <sup>197 258 259</sup> según la fórmula:

$$RVPi = (PAP - PCP) / \text{Flujo}$$

Dónde RVPi corresponde a las resistencias pulmonares izquierdas y el Flujo es el medido en la AP izquierda.

Si aceptamos que el flujo del pulmón derecho es igual a la diferencia del GCC menos el flujo pulmonar izquierdo podemos calcular de forma indirecta las RVP del lado derecho según la fórmula:

$$RVPd = (PAPM - PCP) / (GCC - \text{Flujo}).$$

Los resultados individualizados de estos cálculos para cada grupo se muestran al final del capítulo (tabla 58-61).

La representación gráfica de los cambios en estos parámetros calculados causados por los distintos tratamientos en el grupo L-NAME e indometacina aparecen en las gráficas 12 y 13 respectivamente.

La interpretación de estos valores debe hacerse con cautela, teniendo en cuenta que no son más que un reflejo de los valores de flujo pulmonar y que proceden de variables calculadas previamente a partir de datos obtenidos mediante técnicas de medición distintas. Por otro lado, si las variaciones de perfusión en el pulmón no ventilado convierten un área pulmonar de zona 3 a zona 2 o 1, los cálculos de las RVP pierden validez, como refieren Fredén y cols <sup>197</sup> en su trabajo. Sin embargo, a pesar de estas limitaciones, las variaciones de estos parámetros en cada pulmón contribuyen a diferenciar mejor el efecto de los distintos tratamientos aplicados.

La instauración de la ventilación unipulmonar causó un aumento de las RVP a expensas del aumento de las RVPd (93%) como consecuencia de la vasoconstricción

## **Resultados**

---

pulmonar hipóxica. En cambio en el pulmón ventilado no solo no disminuyeron como cabría esperar si no que tendieron a aumentar ligeramente impidiendo una mayor redistribución del flujo hacia este pulmón.

La inhalación del NO disminuyó claramente las RVP totales como consecuencia de la vasodilatación selectiva, que se reflejó en una disminución significativa de las RVPi, ya que las RVPd no se modificaron.

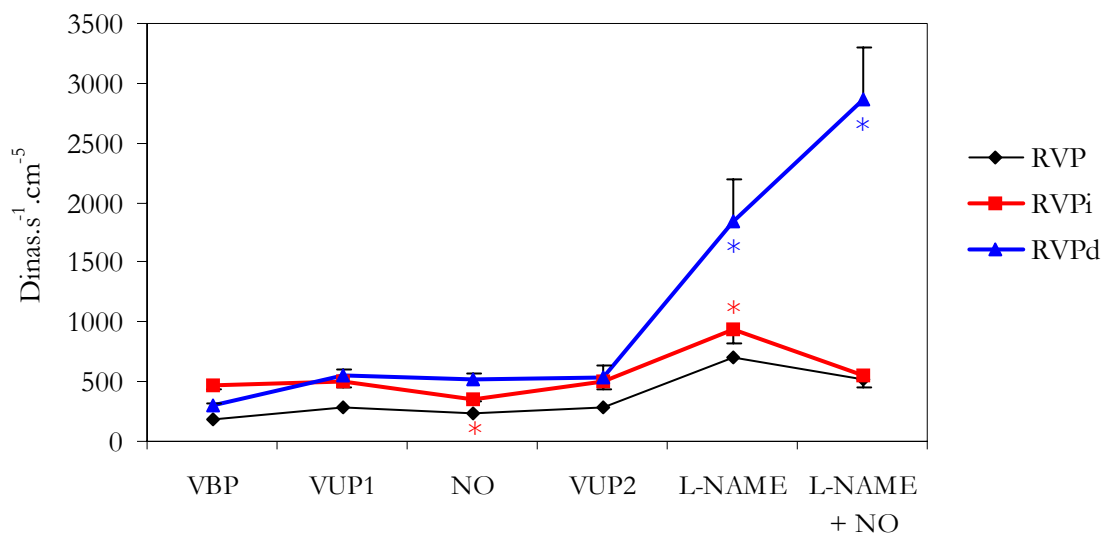
La administración de L-NAME aumentó intensamente las RVP totales debido a su efecto vasoconstrictor, sin embargo al comparar ambos pulmones se observó un aumento más marcado de las resistencias en el pulmón no ventilado (RVPd), que en el ventilado (RVPi).

Al añadir iNO a este grupo, se constató que mientras en el pulmón ventilado, las RVPi disminuyeron de forma significativa y se equipararon prácticamente a las RVP totales, en el pulmón colapsado las RVPd aumentaron todavía más.

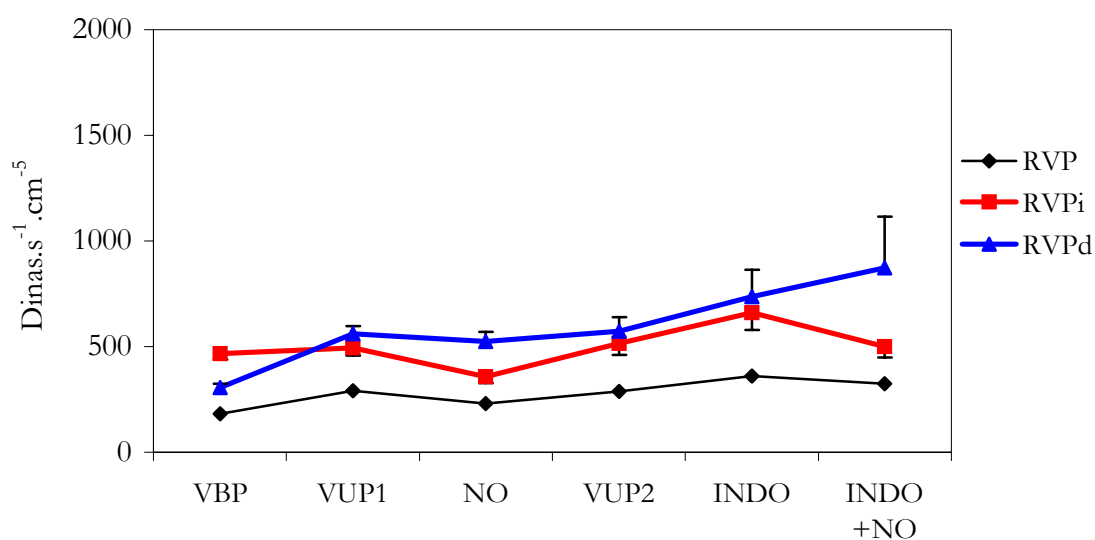
La administración de indometacina, aunque también causó vasoconstricción pulmonar, no tuvo un efecto diferencial sobre las resistencias de ambos pulmones. La variación de las RVP totales tampoco alcanzó significación estadística.

La vasodilatación causada por el iNO después de la indometacina disminuyó las RVPi de forma selectiva hasta recuperar el valor basal previo, sin modificar las RVPd. Este efecto, sin embargo, fue superponible al obtenido con iNO solo.

Gráfica 12. Evolución de las resistencias vasculares pulmonares derechas e izquierdas en el grupo L-NAME. \*  $p < 0,05$  con respecto al valor basal previo.



Gráfica 13. Evolución de las resistencias vasculares pulmonares derechas e izquierdas en el grupo indometacina. \*  $p < 0,05$  con respecto al valor basal previo.



## Resultados

Tabla 24. Frecuencia cardiaca (latidos.min<sup>-1</sup>) en el grupo L-NAME

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME+NO
1	123	174	165	168	136	120
3	165	143	130	142	131	136
7	160	161	156	150	147	153
10	131	151	141	157	138	141
11	143	120	115	109	123	130
12	143	187	168	187	149	143
14	125	202	230	149	147	147
<b>MEDIA</b>	<b>141</b>	<b>163</b>	<b>158</b>	<b>152</b>	<b>139</b>	<b>139</b>
D. E.	16	28	37	24	10	11

Tabla 25. Frecuencia cardiaca (latidos.min<sup>-1</sup>) en el grupo Indometacina

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	166	158	201	209	197	189
4	98	165	112	134	118	111
5	100	115	110	95	133	133
6	99	133	110	128	130	123
8	116	154	149	151	157	151
9	165	144	144	138	157	149
13	202	178	191	169	193	203
<b>MEDIA</b>	<b>135</b>	<b>150</b>	<b>145</b>	<b>146</b>	<b>155</b>	<b>151</b>
D. E.	42	21	38	36	31	34

Tabla 26. Gasto cardíaco (l.min<sup>-1</sup>) en el grupo L-NAME

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME+NO
1	3,9	4,7	5,0	4,7	3,1	2,3
3	2,4	2,6	2,9	2,7	1,7	1,5
7	4,7	4,2	3,2	3,8	3,2	3,2
10	3,8	4,6	4,0	4,5	3,1	2,9
11	4,0	4,5	5,9	5,5	2,6	2,5
12	3,2	4,7	3,7	4,4	2,8	2,8
14	3,2	4,1	5,1	5,1	3,5	2,6
<b>MEDIA</b>	<b>3,6</b>	<b>4,2</b>	<b>4,3</b>	<b>4,4</b>	<b>2,9</b>	<b>2,5</b>
D. E.	0,7	0,8	1,1	0,9	0,6	0,5

Tabla 27. Gasto cardíaco en (l.min<sup>-1</sup>) el grupo Indometacina

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	5,2	4,3	4,8	4,5	4,5	5,0
4	2,5	2,5	2,7	3,3	3,1	2,8
5	2,7	2,5	2,4	3,1	3,9	3,9
6	3,1	4,4	4,1	4,7	4,6	4,5
8	2,8	4,3	4,1	4,5	4,4	4,1
9	3,5	2,6	3,3	3,3	3,7	2,9
13	4,4	4,7	5,5	5,4	4,4	4,3
<b>MEDIA</b>	<b>3,4</b>	<b>3,6</b>	<b>3,8</b>	<b>4,1</b>	<b>4,1</b>	<b>3,9</b>
D. E.	1,0	1,0	1,1	0,9	0,5	0,8

Tabla 28. Gasto cardíaco corregido ( $\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ ) según la fórmula:  $\text{GCC} = (\text{GC} + 0.54) / 1.02$  en el grupo L-NAME

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME+NO
1	4,35	5,09	5,43	5,14	3,60	2,78
3	2,88	3,04	3,37	3,18	2,20	2,00
7	5,14	4,65	3,67	4,25	3,67	3,67
10	4,25	5,04	4,45	4,94	3,57	3,37
11	4,45	4,94	6,31	5,92	3,08	2,98
12	3,67	5,14	4,16	4,84	3,27	3,27
14	3,67	4,55	5,53	5,53	3,96	3,08
<b>MEDIA</b>	<b>4,06</b>	<b>4,63</b>	<b>4,70</b>	<b>4,83</b>	<b>3,33</b>	<b>3,02</b>
D. E.	0,72	0,74	1,08	0,90	0,58	0,53

Tabla 29. Gasto cardíaco corregido ( $\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ ) según la fórmula:  $\text{GCC} = (\text{GC} + 0.54) / 1.02$  en el grupo Indometacina

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	5,63	4,75	5,24	4,89	4,94	5,43
4	2,94	2,98	3,18	3,76	3,57	3,27
5	3,18	2,98	2,88	3,57	4,35	4,35
6	3,57	4,84	4,55	5,14	5,04	4,94
8	3,23	4,75	4,55	4,94	4,79	4,55
9	3,96	3,08	3,76	3,72	4,16	3,37
13	4,84	5,09	5,92	5,82	4,84	4,75
<b>MEDIA</b>	<b>3,91</b>	<b>4,07</b>	<b>4,30</b>	<b>4,55</b>	<b>4,53</b>	<b>4,38</b>
D. E.	0,99	0,99	1,09	0,87	0,53	0,80

Tabla 30. Presión arterial media (mm Hg) en el grupo L-NAME

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME+NO
1	90	90	90	87	100	107
3	98	95	98	94	117	104
7	109	106	100	105	116	116
10	95	94	101	107	113	113
11	101	95	111	99	111	112
12	96	89	88	91	107	109
14	93	99	102	103	107	108
<b>MEDIA</b>	<b>97</b>	<b>95</b>	<b>99</b>	<b>98</b>	<b>110</b>	<b>110</b>
D. E.	6,2	5,7	7,7	7,5	6,0	4,1

Tabla 31. Presión arterial media (mm Hg) en el grupo Indometacina

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	111	108	106	105	117	117
4	94	88	100	93	111	96
5	99	103	70	90	111	100
6	106	107	110	118	126	121
8	95	103	104	106	117	113
9	96	97	93	94	110	107
13	108	105	109	109	120	117
<b>MEDIA</b>	<b>101</b>	<b>102</b>	<b>99</b>	<b>102</b>	<b>116</b>	<b>110</b>
D. E.	6,9	7,0	14,0	10,2	5,8	9,4

**Tabla 32. Presión arterial pulmonar media (mm Hg) en el grupo L-NAME**

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME+NO
1	16	18	19	19	26	19
3	14	21	20	26	36	25
7	25	26	22	27	40	26
10	19	28	25	27	34	32
11	22	24	22	28	44	37
12	18	21	17	18	27	19
14	19	25	19	18	38	28
<b>MEDIA</b>	<b>19</b>	<b>23</b>	<b>21</b>	<b>23</b>	<b>35</b>	<b>27</b>
D. E.	3,7	3,5	2,6	4,7	6,6	6,6

**Tabla 33. Presión arterial pulmonar media (mm Hg) en el grupo Indometacina**

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	16	22	22	22	24	23
4	14	17	14	18	21	19
5	16	24	20	24	28	26
6	15	18	17	19	24	20
8	15	24	21	25	26	24
9	20	27	23	26	38	29
13	20	27	24	27	36	30
<b>MEDIA</b>	<b>17</b>	<b>23</b>	<b>20</b>	<b>23</b>	<b>28</b>	<b>24</b>
D. E.	2,4	4,0	3,5	3,5	6,4	4,2

**Tabla 34. Presión venosa central (cmH<sub>2</sub>O) en el grupo L-NAME**

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME+NO
1	8	8	8	11	7	7
3	9	7	7	8	8	8
7	9	7	8	8	7	7
10	8	7	8	8	6	6
11	8	8	9	8	8	8
12	8	8	8	9	9	8
14	9	9	8	9	10	9
<b>MEDIA</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>8</b>	<b>8</b>
D. E.	0,5	0,8	0,6	1,1	1,3	1,0

**Tabla 35. Presión venosa central (cmH<sub>2</sub>O) en el grupo Indometacina**

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	9	7	6	6	8	7
4	9	9	9	9	7	8
5	8	12	9	9	8	8
6	7	8	6	6	7	7
8	8	7	7	7	8	7
9	7	10	8	9	8	9
13	9	10	7	6	9	10
<b>MEDIA</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>8</b>
D. E.	0,9	1,8	1,3	1,5	0,7	1,2



Tabla 36. Presión capilar pulmonar (cmH<sub>2</sub>O) en el grupo L-NAME

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME+NO
1	7	7	8	8	8	8
3	8	9	9	11	13	10
7	14	10	10	6	10	9
10	9	9	9	9	13	14
11	9	9	10	11	9	10
12	10	9	9	7	11	11
14	10	12	12	10	13	13
<b>MEDIA</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>11</b>	<b>11</b>
D. E.	2,2	1,5	1,3	2,0	2,1	2,1

Tabla 37. Presión capilar pulmonar en (cmH<sub>2</sub>O) el grupo Indometacina

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	9	8	8	7	8	8
4	6	9	7	7	9	8
5	9	10	10	10	10	9
6	7	7	8	8	8	8
8	7	8	7	5	9	7
9	8	13	12	12	12	12
13	12	13	10	12	13	11
<b>MEDIA</b>	<b>8</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>9</b>
D. E.	2,0	2,4	1,9	2,7	2,0	1,8

Tabla 38. Resistencias vasculares sistémicas (dinas.s<sup>-1</sup>.cm<sup>-5</sup>) en el grupo L-NAME

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME+NO
1	1682	1411	1312	1294	2377	3478
3	2967	2750	2510	2548	5129	5120
7	1702	1886	2300	2042	2725	2725
10	1832	1513	1860	1760	2761	2952
11	1860	1547	1383	1324	3169	3328
12	2200	1379	1730	1491	2800	2886
14	2100	1756	1475	1475	2217	3046
<b>MEDIA</b>	<b>2049</b>	<b>1749</b>	<b>1796</b>	<b>1705</b>	<b>3026</b>	<b>3362</b>
D. E.	448,2	477,6	462,0	454,8	977,4	817,1

Tabla 39. Resistencias vasculares sistémicas (dinas.s<sup>-1</sup>.cm<sup>-5</sup>) en el grupo Indometacina

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	1569	1879	1667	1780	1938	1760
4	2764	2528	2696	2036	2684	2514
5	2696	2912	2033	2090	2113	1887
6	2555	1800	2029	1906	2070	2027
8	2531	1786	1893	1760	2005	2068
9	2034	2677	2061	2092	2205	2703
13	1800	1634	1484	1526	2018	1991
<b>MEDIA</b>	<b>2279</b>	<b>2174</b>	<b>1980</b>	<b>1884</b>	<b>2147</b>	<b>2136</b>
D. E.	473,0	515,0	382,3	209,8	251,5	343,0

## Resultados

Tabla 40. Resistencias vasculares pulmonares ( $\text{dinas.s}^{-1}.\text{cm}^{-5}$ ) en el grupo L-NAME

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME+NO
1	185	189	176	187	460	383
3	200	375	303	444	1082	800
7	187	305	300	442	750	425
10	211	330	320	320	542	497
11	260	267	163	247	1077	864
12	200	204	173	200	457	229
14	225	254	110	125	571	462
<b>MEDIA</b>	<b>210</b>	<b>275</b>	<b>221</b>	<b>281</b>	<b>706</b>	<b>523</b>
D. E.	26,1	66,9	84,6	125,7	273,4	228,6

Tabla 41. Resistencias vasculares pulmonares ( $\text{dinas.s}^{-1}.\text{cm}^{-5}$ ) en el grupo Indometacina

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	108	260	233	270	284	240
4	260	256	207	267	310	314
5	207	448	333	361	369	349
6	206	200	176	187	278	213
8	233	298	273	356	313	332
9	274	431	267	345	562	469
13	145	241	204	222	418	353
<b>MEDIA</b>	<b>205</b>	<b>305</b>	<b>242</b>	<b>287</b>	<b>362</b>	<b>324</b>
D. E.	60,0	96,5	53,3	68,8	101,2	83,6

Tabla 42. Flujo absoluto ( $\text{l.min}^{-1}$ ) en el grupo L-NAME

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME+NO
1	2,13	2,65	3,06	2,59	2,40	2,50
3	1,04	1,59	1,96	1,82	1,44	1,60
7	1,90	2,16	2,40	2,30	2,12	2,63
10	1,70	2,57	2,50	2,10	2,42	2,89
11	1,83	2,86	3,86	3,22	2,30	2,33
12	1,31	2,51	2,30	2,13	2,40	3,11
14	1,37	2,55	3,20	2,62	1,83	2,10
<b>MEDIA</b>	<b>1,61</b>	<b>2,41</b>	<b>2,75</b>	<b>2,40</b>	<b>2,13</b>	<b>2,45</b>
D. E.	0,4	0,4	0,7	0,5	0,4	0,5

Tabla 43. Flujo absoluto ( $\text{l.min}^{-1}$ ) en el grupo Indometacina

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	2,01	2,85	3,20	2,69	2,93	3,28
4	1,15	1,40	1,44	1,32	1,30	1,54
5	1,10	1,50	1,55	1,84	2,10	2,26
6	1,79	3,34	3,50	3,55	3,35	3,54
8	1,12	2,28	2,63	2,70	2,32	2,51
9	1,59	1,69	2,43	2,26	2,69	2,76
13	1,92	2,17	2,80	2,21	1,80	2,34
<b>MEDIA</b>	<b>1,53</b>	<b>2,18</b>	<b>2,51</b>	<b>2,37</b>	<b>2,36</b>	<b>2,60</b>
D. E.	0,4	0,7	0,8	0,7	0,7	0,7

Tabla 44. Porcentaje de flujo respecto al gasto cardíaco corregido en el grupo L-NAME

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME+NO
1	48,93	52,08	56,34	50,42	66,70	89,79
3	36,08	52,32	58,12	57,30	65,57	80,00
7	36,98	46,48	65,45	54,06	57,82	71,73
10	39,95	51,00	56,17	42,50	67,81	85,69
11	41,11	57,88	61,14	54,38	74,71	78,18
12	35,73	48,86	55,33	43,98	73,29	94,98
14	37,36	56,06	57,87	47,38	46,20	68,22
<b>MEDIA</b>	<b>39,45</b>	<b>52,10</b>	<b>58,63</b>	<b>50,00</b>	<b>64,59</b>	<b>81,23</b>
D. E.	4,63	3,92	3,56	5,60	9,81	9,60

Tabla 45. Porcentaje de flujo respecto al gasto cardíaco corregido en el grupo Indometacina

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	35,72	60,06	61,12	54,99	59,30	60,39
4	39,10	46,97	45,33	35,06	36,43	47,03
5	34,63	50,33	53,78	51,56	48,24	51,92
6	50,16	68,96	76,94	69,10	66,48	71,64
8	34,72	48,05	57,81	54,64	48,39	55,18
9	40,14	54,90	64,55	60,82	64,71	81,84
13	39,64	42,65	47,28	37,95	37,17	49,31
<b>MEDIA</b>	<b>39,16</b>	<b>53,13</b>	<b>58,12</b>	<b>52,02</b>	<b>51,53</b>	<b>59,62</b>
D. E.	5,39	8,98	10,83	12,05	12,33	12,80

Tabla 46. Presión parcial arterial de O<sub>2</sub> (mmHg) en el grupo L-NAME

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME+NO
1	93	59	70	61	62	128
3	406	62	65	55	49	74
7	312	67	76	71	70	120
10	261	56	58	51	62	99
11	275	57	66	57	70	85
12	262	66	70	58	81	128
14	87	55	59	50	49	80
<b>MEDIA</b>	<b>267</b>	<b>61</b>	<b>66</b>	<b>57</b>	<b>64</b>	<b>98</b>
D. E.	95	5	6	7	12	20

Tabla 47. Presión parcial arterial de O<sub>2</sub> (mmHg) en el grupo Indometacina

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	366	72	78	76	77	101
4	286	52	65	61	58	69
5	305	55	66	55	53	62
6	317	58	63	55	51	62
8	413	75	85	71	66	85
9	92	57	71	66	59	79
13	85	49	58	55	60	69
<b>MEDIA</b>	<b>266</b>	<b>60</b>	<b>69</b>	<b>63</b>	<b>61</b>	<b>75</b>
D. E.	119	9	9	8	8	13

## Resultados

Tabla 48. Presión parcial arterial de CO<sub>2</sub> (mm Hg) en el grupo L-NAME

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME+NO
1	38	49	47	49	48	31
3	28	36	43	50	55	49
7	40	60	56	58	58	50
10	43	57	48	55	61	51
11	34	47	46	49	53	62
12	26	51	42	44	42	38
14	36	44	46	52	57	43
<b>MEDIA</b>	<b>35</b>	<b>49</b>	<b>47</b>	<b>51</b>	<b>53</b>	<b>46</b>
D. E.	6,1	7,9	4,5	4,6	6,6	10,1

Tabla 49. Presión parcial arterial de CO<sub>2</sub> (mm Hg) en el grupo Indometacina

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	33	34	35	33	35	36
4	24	39	38	46	49	46
5	35	44	39	48	59	55
6	30	49	44	45	52	45
8	34	47	43	49	57	55
9	36	58	54	56	63	64
13	40	55	60	64	58	60
<b>MEDIA</b>	<b>33</b>	<b>46</b>	<b>45</b>	<b>49</b>	<b>53</b>	<b>52</b>
D. E.	5,0	8,4	9,0	9,8	9,5	9,7

Tabla 50. Presión venosa mixta de O<sub>2</sub> (mm Hg) en el grupo L-NAME

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME+NO
1	38	40	45	43	37	34
3	48	40	42	36	30	42
7	50	45	47	48	44	51
10	57	43	40	32	36	46
11	56	32	40	36	33	40
12	47	44	42	42	45	46
14	42	36	35	31	24	41
<b>MEDIA</b>	<b>48</b>	<b>40</b>	<b>42</b>	<b>38</b>	<b>36</b>	<b>43</b>
D. E.	6,9	4,7	3,9	6,2	7,5	5,4

Tabla 51. Presión venosa mixta de O<sub>2</sub> (mm Hg) en el grupo Indometacina

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	56	43	42	43	44	46
4	51	33	42	40	40	47
5	39	33	38	42	38	45
6	46	37	39	38	33	38
8	51	47	47	43	43	50
9	45	35	46	39	37	48
13	52	28	32	33	39	46
<b>MEDIA</b>	<b>49</b>	<b>37</b>	<b>41</b>	<b>40</b>	<b>39</b>	<b>46</b>
D. E.	5,6	6,5	5,1	3,5	3,7	3,8

Tabla 52. pH en sangre arterial en el grupo L-NAME

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME+NO
1	7,40	7,29	7,31	7,32	7,32	7,46
3	7,50	7,39	7,37	7,31	7,24	7,27
7	7,40	7,26	7,27	7,27	7,27	7,31
10	7,36	7,25	7,26	7,22	7,19	7,23
11	7,36	7,25	7,24	7,23	7,22	7,19
12	7,50	7,33	7,37	7,37	7,37	7,41
14	7,45	7,35	7,32	7,28	7,23	7,34
<b>MEDIA</b>	<b>7,42</b>	<b>7,30</b>	<b>7,31</b>	<b>7,29</b>	<b>7,26</b>	<b>7,32</b>
D. E.	0,06	0,05	0,05	0,05	0,06	0,10

Tabla 53. pH en sangre arterial en el grupo Indometacina

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	7,49	7,36	7,38	7,36	7,32	7,34
4	7,49	7,33	7,34	7,31	7,27	7,28
5	7,50	7,39	7,42	7,36	7,28	7,31
6	7,50	7,39	7,39	7,39	7,34	7,37
8	7,50	7,39	7,44	7,39	7,32	7,33
9	7,40	7,25	7,25	7,23	7,19	7,19
13	7,37	7,24	7,23	7,23	7,22	7,24
<b>MEDIA</b>	<b>7,46</b>	<b>7,34</b>	<b>7,35</b>	<b>7,32</b>	<b>7,28</b>	<b>7,29</b>
D. E.	0,06	0,07	0,08	0,07	0,06	0,06

Tabla 54. Mezcla venosa o *shunt* (%) en el grupo L-NAME

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME+NO
1	26	69	52	52	41	20
3	14	49	48	50	44	31
7	21	53	44	50	46	33
10	28	68	58	58	48	29
11	30	45	48	55	35	32
12	25	52	45	55	39	32
14	38	58	48	56	46	32
<b>MEDIA</b>	<b>26</b>	<b>56</b>	<b>49</b>	<b>54</b>	<b>43</b>	<b>30</b>
D. E.	7,4	9,2	4,8	2,9	4,7	4,6

Tabla 55. Mezcla venosa o *shunt* (%) en el grupo Indometacina

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	17	47	43	46	47	40
4	29	57	52	55	58	52
5	16	50	39	56	58	58
6	18	56	48	57	58	50
8	14	54	45	48	53	50
9	35	53	48	48	53	45
13	46	64	58	60	60	60
<b>MEDIA</b>	<b>25</b>	<b>54</b>	<b>48</b>	<b>53</b>	<b>55</b>	<b>51</b>
D. E.	12,1	5,3	6,3	5,5	4,7	6,9

## Resultados

Tabla 56. Presión pico de la vía aérea (cm H<sub>2</sub>O) en el grupo L-NAME

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME+NO
1	38	45	50	50	50	48
3	30	40	42	45	50	50
7	35	45	45	45	45	45
10	35	42	42	42	48	50
11	30	38	40	50	50	55
12	32	32	45	45	45	45
14	35	45	45	50	50	50
<b>MEDIA</b>	<b>34</b>	<b>41</b>	<b>44</b>	<b>47</b>	<b>48</b>	<b>49</b>
D. E.	2,99	4,83	3,24	3,25	2,36	3,46

Tabla 57. Presión pico de la vía aérea (cm H<sub>2</sub>O) en el grupo Indometacina

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	30	48	42	48	45	44
4	34	42	44	44	50	50
5	30	45	45	55	55	55
6	22	40	45	45	50	50
8	30	40	40	40	45	45
9	38	49	50	50	50	50
13	38	45	54	55	55	55
<b>MEDIA</b>	<b>32</b>	<b>44</b>	<b>46</b>	<b>48</b>	<b>50</b>	<b>50</b>
D. E.	5,59	3,63	4,79	5,64	4,08	4,30

Tabla 58. Resistencias vasculares pulmonares izquierdas (dinas.s<sup>-1</sup>.cm<sup>-5</sup>) en el grupo L-NAME

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME +NO
1	338	332	288	340	600	352
3	462	604	449	659	1278	750
7	463	593	400	730	1132	517
10	471	591	512	686	694	498
11	568	420	249	422	1217	927
12	489	382	278	413	533	206
14	526	408	175	244	1092	572
<b>MEDIA</b>	<b>474</b>	<b>476</b>	<b>336</b>	<b>499</b>	<b>935</b>	<b>546</b>
D. E.	71	115	120	190	314	239

Tabla 59. Resistencias vasculares pulmonares derechas (dinas.s<sup>-1</sup>.cm<sup>-5</sup>) en el grupo L-NAME

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	L-NAME	L-NAME +NO
1	331	370	382	354	1234	3269
3	263	672	635	900	2446	3000
7	277	525	778	879	1585	1354
10	319	631	672	517	1502	3157
11	404	593	405	518	3695	3420
12	275	374	353	331	1506	4571
14	318	533	248	225	956	1253
<b>MEDIA</b>	<b>312</b>	<b>528</b>	<b>496</b>	<b>532</b>	<b>1846</b>	<b>2861</b>
D. E.	40	118	197	265	935	1181

Tabla 60. Resistencias vasculares pulmonares izquierdas ( $\text{dinas.s}^{-1}.\text{cm}^{-5}$ ) en el grupo Indometacina

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	279	393	350	446	437	366
4	557	457	389	667	738	571
5	509	747	516	609	686	602
6	358	263	206	248	382	271
8	571	561	426	593	586	542
9	604	663	362	496	773	493
13	333	516	400	543	1022	650
<b>MEDIA</b>	<b>459</b>	<b>514</b>	<b>378</b>	<b>514</b>	<b>661</b>	<b>499</b>
D. E.	132	163	94	138	217	135

Tabla 61. Resistencias vasculares pulmonares derechas ( $\text{dinas.s}^{-1}.\text{cm}^{-5}$ ) en el grupo Indometacina

Animal	VBP	VUP <sub>1</sub>	NO	VUP <sub>2</sub>	INDO	INDO+NO
2	158	608	568	559	655	575
4	361	410	327	365	429	515
5	273	766	608	659	652	664
6	366	608	720	576	785	714
8	307	531	599	732	562	683
9	411	819	677	787	1459	2320
13	223	392	368	339	616	646
<b>MEDIA</b>	<b>300</b>	<b>590</b>	<b>552</b>	<b>574</b>	<b>737</b>	<b>874</b>
D. E.	89	163	149	172	336	641





## *6 DISCUSIÓN*



En el presente trabajo se han estudiado los efectos de la administración de iNO, de un inhibidor de la síntesis endógena de NO, de un inhibidor de la síntesis de las PG, así como la combinación de iNO con cada uno de ellos, sobre los cambios hemodinámicos, la distribución de flujo pulmonar y el intercambio de gases producidos durante la ventilación unipulmonar en la oveja adulta anestesiada.

Hemos escogido el modelo ovino por tener determinadas características como los parámetros hemodinámicos pulmonares, la ventilación colateral y el grado de VPH <sup>260</sup>, comparables a las observadas en humanos, lo que representa una ventaja con respecto a otros modelos animales. El cerdo, por ejemplo, presenta una respuesta vasoconstrictora a la hipoxia más intensa y no tiene prácticamente ventilación colateral <sup>261</sup>. El perro, en cambio, presenta una extensa ventilación colateral <sup>262</sup> y difiere en la liberación de NO basal en las arterias pulmonares <sup>263</sup>.

Para poder interpretar los resultados obtenidos es necesario que el modelo experimental sea fiable y estable en el tiempo. En este estudio se ventiló únicamente un pulmón permitiendo el colapso del otro, con el fin de reproducir la técnica de ventilación unipulmonar utilizado en la práctica clínica. Además, se incluyó un grupo control en el que se demostró la estabilidad de todos los parámetros valorados durante el periodo de duración del estudio.

Sin embargo, el presente modelo no está exento de limitaciones. Las técnicas de instrumentación de los animales, toracotomía y colocación de la sonda electromagnética en la arteria pulmonar izquierda, causaron una alteración pulmonar que se reflejó en la diferencia de los parámetros hemodinámicos y gasométricos antes y después de la instrumentación, durante la ventilación bipulmonar. Se constató un aumento significativo de la PAPM y de las RVP. El *shunt* calculado también aumentó de forma significativa del 14% inicial al 25% después de la monitorización y la PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> pasó de 408 a 303, a pesar de una cuidadosa reexpansión del pulmón, de la realización periódica de maniobras de reclutamiento y de establecer un periodo de estabilización mínimo de 30 minutos. Estos cambios probablemente fueron debidos a la suma de varios factores, como un cierto grado de vasoconstricción de la arteria pulmonar izquierda principal después de la manipulación y a la aparición de zonas con distintos grados de alteración

de la ventilación/perfusión en el pulmón ventilado, incluyendo las correspondientes a pequeñas atelectasias secundarias a la anestesia general. Debido a que el pulmón izquierdo se mantuvo colapsado durante la instrumentación, no se puede descartar la presencia de zonas de lesión pulmonar por isquemia-reperfusión y de edema posreexpansión del pulmón ventilado secundarios a mediadores inflamatorios.

Estas alteraciones previas al inicio del estudio implican un cambio en las condiciones experimentales de partida, que interfirieron en los cambios fisiológicos derivados de la ventilación unipulmonar, como se discute más adelante. También pudieron condicionar la gran variabilidad interindividual observada en la intensidad de los cambios producidos por los tratamientos en las variables estudiadas. Sin embargo, dado que las condiciones experimentales fueron las mismas para todos los animales y que se mantuvieron estables a lo largo del estudio, se consideró válido el análisis de los resultados obtenidos y de las comparaciones entre los distintos tratamientos.

En el presente trabajo se decidió colocar la sonda electromagnética en la arteria del pulmón ventilado para mantener la integridad de los mecanismos que regulan la vasoconstricción hipóxica del pulmón no ventilado. Sin embargo, la presencia de la sonda perivascular, debido a su forma y peso, pudo distorsionar parcialmente la trayectoria de la arteria, impidiendo que ésta alcanzara su dilatación máxima. Esto implicaría una alteración de los parámetros hemodinámicos pulmonares <sup>264</sup> y obviamente una limitación en la redistribución del flujo hacia el pulmón ventilado, que pudo enmascarar el efecto de los tratamientos utilizados. Además, al ser un anillo con un diámetro fijo, el grado de acoplamiento a la arteria y por tanto la sensibilidad de medida pudo variar en función del calibre del vaso. No hemos encontrado alteraciones similares en la literatura ya que los trabajos en los que se midió el flujo pulmonar mediante esta técnica para estudiar la VPH, la sonda se colocó en la arteria del lóbulo o pulmón no ventilados <sup>265-267</sup> y se calculó el flujo que recibía el área ventilada.

La posición del catéter de Swan-Ganz se comprobó por palpación directa durante la colocación de la sonda electromagnética, encontrándose en la mayoría de los casos en la arteria pulmonar izquierda. La situación de la punta del catéter en una u otra arteria no

interfiere en el valor de los parámetros medidos, incluido el GC, durante la ventilación a un solo pulmón <sup>268,269</sup>.

La utilización de dos técnicas distintas para medir el GC (termodilución) y el flujo pulmonar izquierdo (sonda electromagnética) pudo suponer un sesgo en los cálculos de comparación de ambas variables. Por otro lado, en algunos tiempos de la fase II se observó que el valor de flujo pulmonar izquierdo superaba el valor de gasto cardíaco, hecho explicable únicamente por la diferencia de sensibilidad de la técnica de medición. La comparación de ambas técnicas en el presente modelo mostró una excelente correlación entre ellas y permitió calcular el GCC a partir de la ecuación obtenida del modelo lineal. Esta metodología fue utilizada por otros autores que también demostraron una buena correlación entre ambas técnicas de medición <sup>197</sup>.

El **primer objetivo** que se planteó en el presente trabajo fue estudiar la **repercusión de la ventilación unipulmonar** en este modelo animal.

Los cambios observados en los parámetros hemodinámicos sistémicos al instaurar la ventilación unipulmonar fueron un aumento significativo del GC y de la FC, como era de esperar. La reducción del volumen de pulmón disponible para el intercambio de gases, da lugar a una disminución brusca del contenido arterial de oxígeno, que pone en marcha una serie de mecanismos reflejos para mantener el transporte de O<sub>2</sub> a los tejidos. La PAM no se modificó y las RVS disminuyeron como consecuencia del aumento del GC. Los parámetros pulmonares sufrieron cambios más intensos, así la PAPM se incrementó un 28% y las RVP aumentaron un 38%. Este aumento de las RVP fue a expensas de las RVP derechas, ya que las izquierdas se mantuvieron en los valores previos a la ventilación unipulmonar.

Durante la ventilación bipulmonar el reparto del flujo entre ambos pulmones fue del 1,6 l para el izquierdo, que corresponde al 41% del GCC y por tanto el restante 59% para el pulmón derecho. Esta proporción coincide con el descrito en otros modelos animales <sup>265,270</sup>. Al iniciar la ventilación unipulmonar, el flujo pulmonar izquierdo aumentó en más de 700 ml.min<sup>-1</sup> en valor absoluto lo que corresponde a un 54% del GCC. La VPH en el pulmón no ventilado redistribuyó el flujo hacia el pulmón contralateral de forma que el flujo que recibió el pulmón ventilado aumentó

significativamente, pero esta respuesta no alcanzó sus valores máximos. La proporción de GCC que seguía perfundiendo el pulmón no ventilado fue del 46% cuando debería haber sido del 30% si se tiene en cuenta que la VPH durante la ventilación unipulmonar puede llegar a disminuir a la mitad el flujo inicial que recibía el pulmón colapsado <sup>271</sup>.

Esta redistribución subóptima del flujo se reflejó en la evolución del intercambio de gases. El inicio de la ventilación unipulmonar en este modelo causó un aumento de la mezcla venosa o *shunt* que pasó del 25% inicial a un 54% y se acompañó de una caída de la PaO<sub>2</sub> media de 276 a 59 mmHg (casi un 79%). Otros cambios en el intercambio de gases fueron un descenso significativo de la PvO<sub>2</sub> que pasó de 48 a 39 mmHg debido a la disminución brusca de la PaO<sub>2</sub> y del contenido arterial de O<sub>2</sub> (asumiendo que el consumo de O<sub>2</sub> se mantuvo estable en este modelo). También se observó un aumento medio de la PaCO<sub>2</sub> de 11 mmHg, destacando cifras superiores a 50 mmHg en 9 casos, que coincidieron con las cifras de PaO<sub>2</sub> más bajas. En relación directa, se produjo una disminución significativa del pH de 0,1 punto. En más del 50% de los animales la PaO<sub>2</sub> fue ligeramente inferior a 60 mmHg en ventilación unipulmonar a diferencia de los resultados obtenidos en otros trabajos experimentales <sup>196,267</sup> o los observados habitualmente en la práctica clínica <sup>2,3,272</sup>.

Varios factores pudieron contribuir a limitar la eficacia de la VPH en el presente modelo, tanto por disminuir la vasoconstricción en el pulmón no ventilado, como impedir la vasodilatación en el pulmón ventilado.

El factor que consideramos más importante es la elevada proporción de pulmón hipóxico con relación al pulmón ventilado en este modelo. Esta proporción corresponde a la suma de todo el pulmón colapsado más las áreas con alteración de la ventilación/perfusión dentro del pulmón ventilado. El colapso del pulmón derecho, de mayor volumen que el izquierdo, sin duda influyó en la intensa alteración de la oxigenación durante la ventilación unipulmonar. En estudios clínicos la disminución de la PaO<sub>2</sub> es más probable y más acusada durante la ventilación pulmonar izquierda <sup>273</sup>. A esto hay que añadir la aportación de las áreas hipóxicas dentro del pulmón ventilado, que corresponden a pequeñas atelectasias y zonas con edema o lesión pulmonar secundarias a la instrumentación, como se ha comentado anteriormente. Aunque no podemos

calcular con exactitud la proporción de estas últimas, se puede obtener una aproximación a partir de la distribución del flujo.

El *shunt* total durante la ventilación unipulmonar es la suma del flujo que pasa por el pulmón no ventilado más el que irriga estas zonas de baja relación V/Q dentro del pulmón ventilado. En el presente caso, el flujo que perfundía el pulmón no ventilado (obtenido como: GCC – flujo pulmonar izquierdo) fue del 46%, la mezcla venosa o *shunt* calculado total fue del 54%, por tanto se puede aceptar que la diferencia entre ambos (8%) corresponde al flujo de *shunt* dentro del pulmón ventilado. Esto demuestra la existencia de un territorio no despreciable que no participó en el intercambio de gases en el pulmón ventilado, que junto con el territorio pulmonar colapsado podrían haber superado en algunos casos un 70% del total. El territorio ventilado de menor tamaño, al tener una capacidad limitada para acoger el flujo redistribuido procedente de estas áreas, impidió una mayor redistribución y favoreció el aumento de la PAP.

El elevado *shunt* presente durante la ventilación bipulmonar después de la instrumentación, también influye en la eficacia de la VPH durante la ventilación unipulmonar. A medida que aumenta el *shunt* previo, la proporción de flujo capaz de participar en la respuesta VPH en el pulmón no ventilado disminuye y por tanto la redistribución es menor <sup>271</sup>.

La limitada capacidad del pulmón ventilado para asumir el incremento de flujo procedente del pulmón no ventilado en nuestro modelo pudo verse agravada por otros factores. Uno de ellos es la posible constricción de la arteria pulmonar izquierda secundaria a la colocación de la sonda electromagnética como ya se ha comentado.

El aumento de la presión de la vía aérea que pasó de 33 a 43 cm de H<sub>2</sub>O durante la ventilación unipulmonar, incluyendo la PEEP de 5 cm de H<sub>2</sub>O, condicionó un aumento de la presión alveolar y por tanto de la proporción de zona 1 pulmonar (PA>Pa) que pudo contribuir incluso a revertir el flujo hacia el pulmón no ventilado.

El descenso de la PaO<sub>2</sub> y de la PvO<sub>2</sub> pudo atenuar la vasodilatación del pulmón ventilado al causar cierto grado de VPH, sin embargo la FiO<sub>2</sub> utilizada (0,8) mantiene la PAO<sub>2</sub> suficientemente alta como para contrarrestar este efecto.

La hipercapnia observada en este modelo también pudo disminuir la proporción de flujo redistribuido, ya que durante la ventilación unipulmonar parece actuar como un vasoconstrictor selectivo de los vasos del pulmón ventilado<sup>5</sup>, lo que revertiría el flujo de nuevo hacia el pulmón no ventilado.

En este modelo no se administraron anestésicos inhalatorios debido a su potencial capacidad de inhibir la VPH. Los fármacos utilizados (tiopental, fentanilo y pancuronio) no inhiben la VPH en animales de experimentación<sup>39</sup>, ni en pacientes bajo ventilación unipulmonar y causaron un *shunt* significativamente menor que el observado con la inhalación de halotano y dietil éter<sup>274</sup>.

Por tanto, las alteraciones hemodinámicas y gasométricas secundarias a la ventilación unipulmonar en este modelo animal son similares a las alteraciones observadas durante la ventilación unipulmonar en la práctica clínica, aunque en la mayoría de los pacientes la intensidad de las mismas es inferior. Dichas alteraciones, una vez establecidas, se mantuvieron estables durante el periodo de estudio, como demuestra el hecho de que la comparación de los distintos tiempos en el grupo control no mostró diferencias significativas para ninguno de los parámetros estudiados. Así pues, consideramos el modelo útil para desarrollar nuestros objetivos y admitimos que las modificaciones observadas en los parámetros obtenidos en el grupo de estudio fueron debidas a los tratamientos aplicados.

El **segundo objetivo** de este trabajo fue establecer una **curva dosis-respuesta a la inhalación de NO** en este modelo de ventilación unipulmonar para lo cual se utilizaron 4 dosis de iNO de 10, 20, 40 y 80 ppm administradas en orden aleatorio.

Los resultados obtenidos no permiten confirmar la existencia de una relación dosis-respuesta, en cuanto al efecto sobre la PaO<sub>2</sub> y el flujo pulmonar, en el rango de las concentraciones de iNO estudiadas. El efecto sobre la PaO<sub>2</sub> en este modelo fue similar con las dosis de 10, 20 y 40 ppm, aunque se obtuvo una respuesta máxima y un mayor número de animales “respondedores” con la dosis de 40 ppm. En cuanto a la redistribución del flujo pulmonar, el efecto obtenido también fue similar con las distintas dosis y también se observó una menor variabilidad en la respuesta con la dosis de 40 ppm. La dosis de 80 ppm fue la que causó menor efecto en estos dos parámetros,



aunque fue significativo en ambos casos. Probablemente la gran variabilidad interindividual en el patrón de respuesta ha sido un factor clave en la ausencia de diferencias significativas entre las dosis. No se puede descartar que con un mayor número de animales se consiguiera establecer una curva dosis respuesta.

Durante la ventilación unipulmonar, los vasos del pulmón ventilado se dilatan para acoger el flujo procedente del pulmón no ventilado. En este modelo, al ser la proporción de pulmón ventilado menor en comparación con el no ventilado, el iNO accede a un lecho vascular ya muy dilatado por el aumento de flujo y con poca capacidad de vasodilatarse más a pesar de recibir una dosis mayor de iNO. Por otro lado, la redistribución de flujo implica un aumento de las fuerzas de rozamiento (*shear stress*) en los vasos del pulmón ventilado y de la síntesis y liberación de NO endógeno, por lo que la vía intracelular del NO puede llegar a saturarse y dejar de responder a un aumento de la concentración de iNO.

Con la dosis más alta de iNO se obtuvo un menor efecto sobre los dos parámetros estudiados. Este hecho podría explicarse por la difusión de NO, a medida que aumenta la concentración, hacia vasos que perfunden zonas adyacentes peor ventiladas, lo que implicaría la pérdida de la selectividad de vasodilatación de las áreas bien ventiladas. Tampoco se pueden descartar los efectos indirectos mediados por peroxinitrito y por NO<sub>2</sub>, que como se ha descrito, aumentan cuando las concentraciones de NO y de O<sub>2</sub> se incrementan de forma equimolar. Sin embargo, es poco probable debido al corto periodo de exposición a cada dosis de NO. Las concentraciones de NO<sub>2</sub> fueron monitorizadas de forma continua y no excedieron en ningún momento la concentración de 4 ppm.

Los estudios experimentales y clínicos demuestran que la curva dosis-respuesta no es la misma para las diferentes acciones farmacodinámicas del iNO. En este estudio no se valoró la curva dosis-respuesta para la reducción de la PAP o de las RVP ya que el objetivo principal era encontrar la dosis más efectiva en cuanto al aumento de la oxigenación y redistribución de flujo pulmonar. Al tratarse de un modelo de ventilación unipulmonar, la alteración más importante es una redistribución insuficiente del flujo

pulmonar con la consiguiente hipoxemia, a diferencia de lo que ocurre en los modelos de lesión pulmonar o en el SDRA.

Los primeros trabajos experimentales realizados con iNO se centraron en la hipertensión pulmonar y en muchos de ellos el efecto vasodilatador fue dosis dependiente. Frostell y cols<sup>71</sup> en un estudio realizado en ovejas con vasoconstricción pulmonar a las que les administraron mezclas de 5, 10, 20, 40 y 80 ppm de iNO obtuvieron un efecto vasodilatador dosis dependiente y una vasodilatación casi completa con las dosis de 40 y 80 ppm. Fréden y cols<sup>197</sup> administraron dosis progresivas de iNO desde 5 a 160 ppm en un modelo de hipoxia lobar en cerdos y también obtuvieron una respuesta vasodilatadora máxima a 40 ppm. En otro modelo ovino con hipertensión pulmonar por hipoxia y por endotoxina<sup>275</sup> se observó una vasodilatación dosis dependiente con dosis de iNO de 4 a 512 ppm, con un efecto máximo a 64 ppm. Resultados similares se observaron en un modelo porcino de hipoxia e hipertensión pulmonar en el que la administración de concentraciones de iNO crecientes de 5 a 80 ppm causó una vasodilatación dosis dependiente, aunque la respuesta alcanzó una meseta a partir de 40 ppm<sup>276</sup>. En un estudio realizado en pulmones aislados de conejo para valorar la eficacia del iNO en la prevención de la hipertensión y el edema pulmonar después de ser sometidos a isquemia-reperfusión, se obtuvo un efecto máximo con dosis de 10 y 50 ppm y un efecto significativamente menor con las concentraciones de 1 y 250 ppm<sup>277</sup>. Otros estudios experimentales<sup>112</sup> confirman el patrón dosis-dependiente de la respuesta del iNO a la hipertensión pulmonar en diferentes modelos animales y situaciones patológicas.

La relación entre la dosis y el efecto del iNO sobre la oxigenación también ha sido estudiada, aunque los resultados no son tan concluyentes. En un modelo experimental realizado con ovejas recién nacidas a las que se les había ligado el ductus intraútero Zayek y cols<sup>278</sup> observaron una respuesta dosis-dependiente tanto para la disminución de las RVP como para el aumento de la oxigenación.

En cuanto a los estudios realizados en pacientes, algunos de ellos sugieren que la respuesta al iNO es dosis-dependiente respecto a la reducción de la PAP y/o mejoría de la oxigenación, tanto en adultos como neonatos y en un amplio rango de dosis

administradas<sup>116,279,280</sup>. Puybasset y cols<sup>281</sup> probaron ocho dosis de iNO en el rango de 100 a 5000 ppb en 6 pacientes con SDRA y encontraron una relación dosis-dependiente respecto a la PAP, las RVP y la oxigenación con una meseta a partir de 1900 ppb.

Sin embargo, Gerlach y cols<sup>282</sup> demostraron que a pesar de que dosis progresivas de iNO producían mayor vasodilatación en pacientes con SDRA, la mejoría de la oxigenación no aumentaba por encima de 10 ppm e incluso empeoraba a dosis más altas. Este mismo grupo demostró la eficacia de concentraciones tan pequeñas como 60-250 partes por billón (ppb) en tres pacientes con SDRA<sup>283</sup>. Bigatello y cols<sup>74</sup> administraron concentraciones de NO entre 0 y 40 ppm a 13 pacientes con SDRA y vieron que disminuía la PAPM y mejoraba la oxigenación significativamente, aunque el efecto sobre la PAPM fue dosis-dependiente mientras que el efecto sobre la oxigenación no lo fue. En otro estudio realizado en este tipo de pacientes a los que se les administró dosis de 1 a 40 ppm a un grupo y 0.1 a 10 ppm a otro grupo, se observó una disminución de las RVP y un aumento de la PaO<sub>2</sub> en ambos grupos, pero no se obtuvo curva dosis-respuesta<sup>284</sup>. En neonatos con hipertensión pulmonar persistente e insuficiencia respiratoria la administración de dosis más altas de iNO no mejoró el efecto sobre la oxigenación. En un estudio en el que se comparaban dosis de iNO entre 5 y 80 ppm en este tipo de pacientes, no se encontraron diferencias entre ellas en el efecto producido sobre la PaO<sub>2</sub><sup>285</sup>.

En un estudio reciente, Gerlach y cols<sup>286</sup> observaron que la curva dosis-respuesta al iNO variaba con el tiempo en pacientes con SDRA y que se necesitaba menos dosis después de unos días de administración.

Las diferencias observadas entre el presente estudio y los datos de la literatura pueden deberse en parte a aspectos metodológicos, como la concentración real que alcanza el iNO en la tráquea y los alvéolos. Ésta puede diferir de la concentración establecida según el sistema de administración utilizado y el lugar del circuito en el que se introduce y monitoriza el iNO. El diseño del estudio, en cuanto a la secuencia de administración de las distintas dosis y la existencia o no de período basal entre ellas, es otro factor que difiere considerablemente entre los trabajos.

Por tanto, la elección de la dosis óptima de NO inhalado sigue siendo controvertida ya que en los diferentes estudios experimentales y clínicos, las dosis utilizadas se han elegido en función de la intensidad del efecto agudo sobre la PAP o sobre el intercambio de gases y los resultados son muy variables. Además de su potencial toxicidad, el iNO tiene efectos extrapulmonares cuya relevancia clínica está aún por determinar. Para reducir el impacto de los mismos, es imprescindible ajustar la dosis mínima terapéutica para cada indicación en particular.

En el presente estudio no se encontraron diferencias significativas entre las dosis de 10, 20 y 40 ppm en cuanto a la oxigenación y a la distribución de flujo. Se optó por utilizar la dosis de 40 ppm en la segunda fase debido a que la variabilidad interindividual para estos parámetros y el número de animales que no respondieron al iNO fue menor con esta dosis.

**El tercer objetivo** y motivo del estudio experimental planteado fue estudiar los efectos de la administración de **iNO**, **L-NAME** e **indometacina** sobre los parámetros hemodinámicos sistémicos y pulmonares, la redistribución de flujo y el intercambio de gases.

La administración de 40 ppm de **iNO** al pulmón ventilado tuvo como efecto hemodinámico más destacado, una vasodilatación pulmonar selectiva, es decir, una disminución significativa del la PAP y de las RVP totales sin modificación de los parámetros sistémicos ni del GC. La vasodilatación pulmonar selectiva por iNO ha sido reiteradamente demostrada en diferentes modelos experimentales de hipertensión pulmonar inducida por hipoxia <sup>71</sup>, por lavados pulmonares <sup>79</sup>, por tromboxano <sup>111</sup>, entre otros. En pacientes, la vasodilatación pulmonar selectiva producida por el iNO se ha demostrado en estudios multicéntricos realizados en recién nacidos con hipertensión pulmonar persistente <sup>109</sup> y en adultos con SDRA <sup>118</sup>.

Además el iNO causó una vasodilatación selectiva del pulmón ventilado. Las RVP totales alcanzaron niveles similares a los calculados durante la ventilación bipulmonar. Al analizar las RVP por separado, observamos que este efecto fue debido exclusivamente a la disminución de las RVP del pulmón ventilado.

En el presente modelo, el efecto vasodilatador del iNO se debe probablemente que la PAMP y las RVP estaban aumentados como consecuencia de la ventilación unipulmonar. Curiosamente, en pacientes bajo intubación selectiva los que se les administró 50 ppm de iNO al pulmón hiperóxico, las resistencias de éste no se modificaron, pero las resistencias del pulmón contralateral hipóxico aumentaron significativamente <sup>140</sup>. Estos pacientes no tenían las RVP del pulmón hiperóxico previamente aumentadas a diferencia de lo que ocurría en el presente estudio, lo que puede explicar esta discrepancia de resultados. De hecho los primeros estudios experimentales revelaron que el iNO no actuaba en los vasos con tono normal <sup>287</sup>. En pacientes, el iNO solo disminuyó las RVP en aquellos que las tenían previamente aumentadas <sup>74,284,288,289</sup>, como ocurrió en pacientes sometidos a circulación extracorpórea en los que el iNO redujo las RVP en aquellos que las tenían aumentadas debido a patología mitral y no obtuvo ningún efecto en los pacientes coronarios con PVR normales <sup>290</sup>.

La ausencia de efecto vasodilatador sistémico por el iNO a las dosis utilizadas en este modelo coincide con los resultados de la mayoría de trabajos experimentales y clínicos, aunque también se ha descrito la disminución de la presión arterial media con dosis de 80 ppm de iNO <sup>80</sup>. Este efecto se ha atribuido a la unión del NO a grupos tiol de algunas proteínas como la hemoglobina y la albúmina formando compuestos S-nitrosotioles relativamente estables que liberan NO en la circulación sistémica.

En cuanto al efecto sobre la distribución del flujo pulmonar, el iNO causó un aumento significativo del flujo hacia el pulmón ventilado de 350 ml.min<sup>-1</sup> en valor absoluto y dado que el GC no se modificó, la relación flujo/GCC también aumentó de forma significativa. Este aumento se atribuyó a la vasodilatación y a la disminución de las RVP en este territorio ya que las RVP del pulmón contralateral no aumentaron. La intensidad de la redistribución de flujo fue similar a la observada en el grupo dosis-respuesta para la concentración de 40 ppm.

Los factores implicados en la limitación del efecto del iNO en el presente modelo ya han sido discutidos anteriormente. El tamaño del territorio no ventilado sin duda influye en la eficacia del NO en cuanto a la distribución de flujo. Cuando el área no

ventilada es extensa, la redistribución del flujo es menor y se produce un aumento importante de la PAP y de las RVP durante la ventilación unipulmonar, como ocurrió en este estudio. La administración de iNO en este escenario mejoró el flujo y la hemodinámica pulmonar hasta un límite marcado por la capacidad de vasodilatación y por el tamaño del área ventilada a la que accedía. En el caso contrario, cuando el tamaño del compartimento hipóxico es muy pequeño, la repercusión hemodinámica es mínima y la inhalación de iNO prácticamente no modifica el flujo del área hipóxica. En un estudio realizado en cerdos en el que el tamaño del compartimento hipóxico se limitaba a un lóbulo pulmonar, la administración de 40 ppm de iNO al pulmón ventilado, a pesar de que se produjo una vasodilatación en este territorio, no disminuyó más el flujo del lóbulo hipóxico, probablemente porque la VPH en este territorio era máxima<sup>197</sup>. En un modelo similar, este mismo grupo observó una pequeña pero significativa disminución del flujo hacia el lóbulo hipóxico al administrar la misma concentración de iNO al pulmón ventilado<sup>136</sup>.

No existen estudios clínicos en los que se mida el flujo pulmonar mediante sondas arteriales debido a la invasividad de la técnica. La distribución de la perfusión pulmonar en pacientes se ha valorado por la técnica de eliminación de gases inertes. En un estudio realizado en pacientes sometidos a ventilación hipóxica de un pulmón se observó una disminución de la perfusión del pulmón hipóxico durante la inhalación de 50 ppm de NO al pulmón hiperóxico y el consiguiente aumento de perfusión hacia este pulmón<sup>140</sup>.

El efecto de la inhalación de NO sobre la vasculatura y la redistribución de flujo pulmonar se acompañó de una mejoría significativa aunque moderada del intercambio de gases que se reflejó tanto en el aumento de la PaO<sub>2</sub> y la PvO<sub>2</sub>, como en la disminución del *shunt* intrapulmonar o Q<sub>VA</sub>/Q<sub>T</sub>. El aumento de la PaO<sub>2</sub> también fue similar al obtenido en la primera fase del estudio para la dosis de 40 ppm, y aunque un aumento del 13% respecto a la PaO<sub>2</sub> basal media de 60 mmHg es discreto, en el contexto clínico de hipoxia puede ser relevante. Las condiciones previas a la inhalación de NO en este estudio, hipertensión pulmonar e hipoxemia severa en la mayoría de los casos, probablemente tuvieron un papel decisivo en la efectividad del iNO. Por otro lado, los

factores que limitaron la eficacia del iNO sobre la vasodilatación y la redistribución de flujo explican que el aumento de la oxigenación no fuera más marcado.

La mejoría del intercambio de gases causado por el iNO también ha sido descrita por otros autores en estudios experimentales de hipoxia selectiva. Hopkins y cols<sup>80</sup> en un modelo canino de *shunt* por obstrucción bronquial observaron que la inhalación de 80 ppm de NO disminuía el *shunt* y aumentaba la PaO<sub>2</sub>. En otro estudio realizado en 12 cerdos bajo ventilación unipulmonar la administración de 4 ppm de iNO consiguió reducir el *shunt* intrapulmonar y aumentar de la PaO<sub>2</sub>, siendo además esta dosis significativamente más efectiva que dosis superiores de 8, 16 y 32 ppm<sup>291</sup>.

Sin embargo, si el intercambio de gases no está alterado como consecuencia de la ventilación hipóxica, el efecto del iNO puede ser insignificante. Hambræus-Jonzon y colaboradores<sup>136</sup> en un modelo de hipoxia lobar en cerdos, en el que la PaO<sub>2</sub> se mantuvo dentro de la normalidad durante todo el estudio, la inhalación de 39 ppm de NO en el pulmón hiperóxico no mejoró la oxigenación, a pesar de la redistribución de flujo.

El efecto del iNO durante la ventilación unipulmonar en pacientes ha sido también estudiado por diferentes investigadores con resultados contradictorios. En la mayoría de estudios se concluye que en ausencia de hipoxemia o hipertensión pulmonar, el iNO no tiene efecto significativo sobre la hemodinámica pulmonar o el intercambio de gases.

Rich y cols<sup>1</sup> publicaron el primer trabajo realizado en pacientes bajo ventilación unipulmonar a los que se les administró iNO a una concentración de 20 ppm y observaron que la PAP y las RVP disminuyeron sólo en aquellos pacientes que las tenían previamente aumentadas, pero no encontraron cambios en la oxigenación. Moutafis y cols<sup>2</sup> tampoco obtuvieron efecto alguno con la inhalación de 20 ppm de iNO en la evolución de la oxigenación en pacientes bajo ventilación unipulmonar, comparados con un grupo control.

La ausencia de respuesta al iNO en la práctica clínica durante la ventilación unipulmonar también fue descrita por otros autores independientemente de la dosis de iNO utilizada. En 6 pacientes sometidos a toracotomía que no presentaron hipoxemia ni

aumento de las RVP como consecuencia de la ventilación unipulmonar, la administración de 40 ppm de iNO no tuvo ningún efecto en la hemodinámica pulmonar ni el intercambio de gases<sup>137</sup>. Del mismo modo, en un estudio realizado en 12 pacientes en decúbito lateral la administración de dosis bajas de NO (3-5 ppm) tampoco produjo diferencias en el *shunt*, la oxigenación, la PAPM ni las RVP<sup>138</sup>.

En contraposición, se han publicado trabajos realizados en pacientes bajo ventilación unipulmonar en los que el iNO causaba una mejoría significativa del intercambio de gases aún cuando no presentaran hipoxemia ni hipertensión pulmonar. En 22 pacientes con pulmones sanos a los que se ventilaba un pulmón con mezcla hipóxica la administración de 50 ppm de iNO al pulmón hiperóxico causó un aumento significativo de la PaO<sub>2</sub><sup>140</sup>. También Del Barrio y cols<sup>139</sup> obtuvieron buenos resultados con la administración de 20 ppm de iNO a 16 pacientes sometidos a toracotomía, en los que los valores de PaO<sub>2</sub> aumentaron significativamente de 118,9 ± 53,6 a 155,4 ± 78,5 mmHg, casi hasta alcanzar el nivel previo a la ventilación unipulmonar.

La eficacia del iNO para prevenir o tratar la caída de la oxigenación durante la ventilación unipulmonar, parece depender de la intensidad de la hipoxemia observada. Si la hipoxemia es ligera, el efecto del iNO no es significativo. Fradj y cols<sup>272</sup> publicaron un trabajo en el que la administración de 20 ppm de iNO no fue superior a la administración de nitrógeno en el tratamiento de la hipoxemia durante la ventilación unipulmonar en 16 pacientes sometidos a toracotomía. En otro estudio realizado en 152 pacientes Schwarzkopf y cols<sup>141</sup> compararon el efecto de 20 ppm de iNO asociado a diferentes FiO<sub>2</sub> (0.3, 0.5 y 1) y vieron que el iNO no mejoraba la oxigenación ni disminuía la incidencia de desaturación con ninguna de las FiO<sub>2</sub> estudiadas. En estos estudios no se monitorizó la hemodinámica pulmonar ni la distribución de flujo por lo que se desconoce si el iNO tuvo algún efecto sobre ellos.

Por el contrario, si la hipoxemia es severa el efecto del iNO es más evidente. Della Rocca y cols<sup>292</sup>, en pacientes con hipoxemia severa, *shunt* elevado e hipertensión pulmonar durante la ventilación selectiva, observaron que la administración de 40 ppm de iNO mejoraba significativamente todos estos parámetros.



Las diferencias reflejadas en la literatura sobre los efectos del iNO en cuanto a la distribución del flujo, las presiones pulmonares y el intercambio de gases en la ventilación unipulmonar son comunes a otros modelos experimentales y a otras situaciones clínicas en las que se ha utilizado el iNO como tratamiento de la hipertensión pulmonar y la hipoxemia. La mayoría de estudios clínicos publicados se han realizado en pacientes con SDRA en los cuales la respuesta al iNO no es uniforme ni predecible y además, en un porcentaje variable de sujetos no tiene ningún efecto en absoluto <sup>293,294</sup>. Los mecanismos implicados en la variabilidad de la respuesta al iNO son complejos y todavía se desconocen, a pesar de que han sido objeto de múltiples trabajos de investigación.

Además de la concentración de iNO utilizada, como se ha discutido en el apartado dosis-respuesta, también se han implicado factores que influyen en la intensidad de la VPH como posibles determinantes de las diferencias observadas en la respuesta. En este sentido se ha investigado la relación entre el valor de determinados parámetros hemodinámicos (GC, RVP, PAPM) y los relacionados con el intercambio de gases ( $PaO_2$ ,  $PvO_2$ ,  $PaCO_2$ , *shunt*) antes de iniciar la inhalación del NO y la intensidad del efecto obtenido. Sin embargo, los resultados no son concluyentes

El valor de las RVP basales fue uno de los primeros factores en relacionarse con los cambios hemodinámicos y gasométricos producidos por el iNO. En nuestro estudio no se halló una correlación significativa entre el valor inicial de las RVP ni la PAPM y el efecto del iNO sobre las mismas o sobre la oxigenación, probablemente debido a la elevada variabilidad interindividual. Sin embargo, varios estudios encontraron una correlación significativa entre el valor de las RVP previas y el grado de descenso de las mismas <sup>74,295</sup>. También se ha descrito esta relación positiva entre las RVP de partida y el aumento de la  $PaO_2$  causado por el iNO en pacientes con lesión pulmonar aguda y en pacientes con insuficiencia respiratoria aguda grave <sup>295,296</sup>. Aunque en pacientes con SDRA no se observó ninguna correlación entre el aumento de la oxigenación y las RVP iniciales <sup>117,297</sup>.

El GC previo ha sido otro de los factores clave implicados en la intensidad de la respuesta a la inhalación de NO puesto que las variaciones del GC se asocian a cambios

en la misma dirección del *shunt*. En el presente trabajo, el GC aumentó significativamente con la instauración de la ventilación selectiva, aunque se mantuvo dentro de los límites fisiológicos y por tanto no se observó ninguna relación entre el GC previo y el efecto del NO en los parámetros hemodinámicos, de distribución de flujo o intercambio de gases. En un estudio realizado en pacientes con SDRA a los que se les administró 40 ppm de iNO se observó una correlación directa entre el GC previo y el descenso de la  $Q_{VA}/Q_T$  obtenido<sup>298</sup>. En estos pacientes se constató que un GC previo muy elevado se asociaba a una ausencia de respuesta al iNO o incluso a un aumento de la  $Q_{VA}/Q_T$  con el consiguiente empeoramiento de la oxigenación. Sin embargo, esta relación no siempre se cumple. En un estudio realizado en ovejas sometidas a lavados pulmonares la inhalación de NO disminuyó significativamente la presión transpulmonar en los tres niveles de GC estudiados<sup>79</sup>. En otro estudio realizado en cerdos sometidos a hipoxia lobar a los que se modificaba el GC, no se encontraron diferencias en la respuesta a la inhalación de NO en cuanto al intercambio de gases y la perfusión del lóbulo hipóxico, aunque se observó una tendencia a la mejoría en condiciones de GC bajo<sup>299</sup>. Rossaint y cols<sup>300</sup> tampoco encontraron relación entre el GC previo y la intensidad de la vasodilatación causado por el iNO.

El grado y la duración de la hipoxemia previa al tratamiento con iNO también se han relacionado con la intensidad del efecto del iNO<sup>301,302</sup>. En el presente trabajo, aunque algunos animales con hipoxemia moderada presentaron un mayor aumento de la  $PaO_2$  que otros con hipoxemia leve, no se pudo demostrar una correlación significativa entre el grado de hipoxemia previa y el aumento de la oxigenación obtenida con el iNO. En un modelo porcino de hipertensión pulmonar hipóxica, el grado de hipoxia previo a la inhalación de NO condicionaba la curva dosis-respuesta al mismo, obteniendo una respuesta menor con hipoxia severa ( $PaO_2$  de 25 a 40 mmHg) que con hipoxia moderada ( $PaO_2$  de 41 a 60 mmHg)<sup>276</sup>. En niños con distrés respiratorio neonatal, la relación  $PaO_2/FiO_2$  previa se correlacionó positivamente con el aumento de la misma causado por la inhalación de NO<sup>303</sup>. Sin embargo esta relación no ha podido ser demostrada en otros estudios. El grado de hipoxemia previa no predijo la extensión de la vasodilatación observada con el iNO en pacientes con SDRA<sup>74</sup> y tampoco en pacientes con lesión pulmonar aguda<sup>304</sup>.

La  $PvO_2$  es el principal estímulo causante de la VPH en los alvéolos no ventilados, de forma que a mayor  $PvO_2$  menor VPH. Por tanto, es otro de los factores que influyen en la respuesta hemodinámica y respiratoria al iNO. En nuestro estudio, no encontramos ninguna relación entre el valor de la  $PvO_2$  previa y el efecto del iNO. En pacientes con SDRA la variación de la  $PvO_2$  (47, 54, 64 y 84 mmHg) se correlacionó inversamente con el grado de disminución de la presión de perfusión pulmonar y de las RVP y con el aumento del contenido arterial de  $O_2$  obtenidos con el iNO<sup>305</sup>.

La mezcla venosa previa y la reducción de la misma conseguida con la inhalación de iNO también pueden estar relacionadas. El valor medio del *shunt* durante la ventilación unipulmonar en nuestro estudio fue superior al 50%, más elevado que en otros estudios experimentales y clínicos en los que el iNO no tuvo ningún efecto por lo que no podemos descartar que este parámetro haya contribuido a la efectividad del iNO obtenida. Sin embargo, no encontramos correlación entre el nivel de *shunt* previo y el efecto del iNO. En pacientes con SDRA severo, la intensidad de la reducción del *shunt* obtenida con el iNO dependía del nivel de *shunt* previo<sup>74</sup>. Sin embargo, la ausencia de correlación entre el grado de  $Q_{VA}/Q_T$  previo y el efecto vasodilatador del iNO también ha sido descrita en paciente con la misma patología<sup>117</sup>.

La hipercapnia es otro factor implicado en la intensidad de la respuesta al iNO. La presencia de hipercapnia en muchos de los animales durante la ventilación unipulmonar, puede explicar la diferencia entre nuestros resultados y los de otros autores que han utilizado el iNO en clínica sin resultado. La hipercapnia aguda causa vasoconstricción e hipertensión pulmonar que son revertidas por la inhalación de NO. Estos resultados concuerdan con el hecho de que el NO actúa preferentemente en los vasos previamente constreñidos. En pacientes con SDRA sometidos a hipercapnia permisiva, la inhalación de concentraciones tan pequeñas como 2 ppm de NO consiguieron disminuir las RVP y la PAP además de mejorar el intercambio de gases. La reducción obtenida en las RVP fue mayor en condiciones de hipercapnia que de normocapnia<sup>306</sup>.

Las diferencias entre los resultados del presente estudio y los de algunos trabajos clínicos en los que el iNO no es efectivo durante la ventilación unipulmonar podrían

deberse en parte a la presencia de zonas de *shunt* (atelectasias) en el pulmón ventilado. Muchos de los pacientes que precisan someterse a cirugía torácica bajo ventilación unipulmonar presentan EPOC, alteración en la que predominan las áreas con baja relación V/Q sobre las áreas de *shunt* y por tanto el efecto neto del iNO en estos pacientes dependerá de la distribución del NO y del tono vascular previo en dichas áreas<sup>307</sup>. Hopkins y cols<sup>80</sup> estudiaron el efecto del iNO en un modelo canino de alteración conocida de la relación ventilación/perfusión. En los animales con predominio del *shunt*, el iNO causó una disminución significativa del mismo y una ligera mejoría el intercambio de gases. En los que predomina la desigualdad V/Q, el iNO no tuvo efecto en la distribución del flujo, el *shunt* ni en la PaO<sub>2</sub> pudiendo mejorar, no afectar o empeorar dichos parámetros.

El tipo de anestesia utilizada en los diferentes trabajos y el efecto que ésta tiene en los parámetros hemodinámicos podrían haber influido también en la variabilidad de los resultados obtenidos. Los anestésicos inhalatorios pueden reducir la VPH y alterar la respuesta al iNO. Así, el isoflurano produce vasodilatación pulmonar y sistémica probablemente mediada por el NO<sup>308</sup> y la vasodilatación mediada por cGMP está abolida en perros anestesiados con halotano<sup>309</sup>. En algunos estudios además se utilizó anestesia epidural combinada con anestesia inhalatoria<sup>137</sup>. La utilización de anestesia epidural con anestésicos locales puede reducir aún más las RVP y enmascarar el efecto del iNO. La anestesia intravenosa en cambio no interfiere en la VPH ni en la vasodilatación mediada por NO. Por este motivo en el presente estudio se utilizó anestesia endovenosa. Algunos autores emplearon también esta técnica anestésica para estudiar el efecto del iNO durante la ventilación unipulmonar<sup>1,3,140</sup>, aunque con resultados dispares.

Aunque nuestro modelo experimental no está relacionado con el *shock* séptico, la relación entre éste y la respuesta al iNO en pacientes SDRA ha sido uno de los factores más estudiados. Se ha sugerido que la presencia de shock séptico en los pacientes tratados con iNO puede atenuar o impedir la respuesta al mismo<sup>295,310</sup>. Este hecho se ha atribuido en parte al tratamiento concomitante con catecolaminas exógenas en estos pacientes que pueden causar vasoconstricción pulmonar. Aunque también se ha apuntado como responsable la liberación masiva de vasodilatadores como PG y NO

endógeno durante el shock séptico que puede condicionar una respuesta anómala al iNO<sup>311</sup>. Otros estudios, sin embargo, no confirman la relación entre shock séptico y respuesta al iNO. En pacientes con SDRA no se encontraron diferencias en la curva dosis-respuesta al iNO y de hecho la oxigenación mejoró más en los pacientes con shock séptico<sup>304,312</sup>.

De lo expuesto se concluye que son muchos los factores que influyen en la intensidad de la respuesta al iNO durante la ventilación unipulmonar. La diferencia de resultados entre el presente estudio y otros trabajos clínicos puede deberse en parte a las diferencias en las condiciones de partida previas al inicio del tratamiento. Sin embargo, no hay datos suficientes que permitan predecir el efecto del iNO en este contexto y además los casos en los que se obtiene una respuesta al iNO su eficacia es limitada. Esto plantea la necesidad de utilizar otras estrategias como utilizar agentes que potencien la intensidad de la VPH o combinarlos con la administración de iNO.

En el presente trabajo se han estudiado los efectos de un **inhibidor de la síntesis de NO endógeno, la L-NAME**, sobre los parámetros hemodinámicos, de distribución de flujo e intercambio de gases.

La administración de 30 mg.kg<sup>-1</sup> de L-NAME en este modelo de ventilación unipulmonar causó intensos cambios hemodinámicos secundarios a una potente vasoconstricción generalizada. Se constató un aumento de las presiones y las resistencias vasculares tanto en el territorio sistémico como en el pulmonar, además de un descenso considerable del GCC y una tendencia a la disminución de la frecuencia cardíaca que no llegó a ser significativa. El potente efecto vasoconstrictor de la L-NAME y de los inhibidores de la NOS en general se debe a la inhibición de la producción de NO endógeno, ya que la inhibición de la ciclooxigenasa, de los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos y del sistema nervioso autónomo no modificaron los efectos de la misma<sup>313,314</sup> ni tampoco se asoció al aumento de otros vasopresores endógenos<sup>315</sup>.

El aumento de la PAM y de las RVS observado en el presente estudio ha sido descrito en otros modelos experimentales, aunque la respuesta de los diferentes lechos

vasculares no es homogénea y difiere de unos estudios a otros en función del modelo animal utilizado<sup>316-318</sup>.

En la circulación pulmonar, la vasoconstricción causada por la L-NAME fue mucho más intensa, ya que el aumento de la PAP y las RVP duplicó el de la PAM y las RVS respectivamente. El análisis de las RVP individuales mostró que las RVP del pulmón no ventilado aumentaron de forma espectacular en comparación con las del pulmón ventilado. Estos datos apoyan la hipótesis de la producción de NO endógeno en la circulación pulmonar que impide una vasoconstricción máxima durante la hipoxia y además sugieren un efecto más intenso de la inhibición del NO en los vasos con un entorno hipóxico. Las primeras evidencias de que la inhibición de la síntesis de NO potenciaba la VPH provienen de estudios realizados en pulmones aislados de diferentes especies animales en los que la inhibición de la síntesis de NO provocaba un aumento adicional de las presiones y las RVP en un entorno hipóxico<sup>181,188,189</sup>. *In vivo* también se observó que la vasoconstricción producida por la L-NAME en conejos<sup>319</sup> y en perros<sup>320</sup> era más intensa en presencia de hipoxia que en condiciones de normoxia.

El territorio pulmonar, aun en ausencia de hipoxia, es más sensible que otros territorios al efecto de la L-NAME<sup>202,318,321</sup>. Licker y cols<sup>316</sup> también obtuvieron un efecto más intenso en la circulación pulmonar y renal comparado con otros territorios sistémicos en cerdos a los que les administraron dosis crecientes (1, 3, 10 y 30 mg.kg<sup>-1</sup>) de L-NAME. Aunque no se conoce la causa de esta heterogeneidad en la respuesta en los diferentes territorios, se ha especulado con la diferencia en el patrón de flujo, la producción local de NO, la reactividad del músculo liso y la distribución farmacocinética de los inhibidores. Sin embargo, esta respuesta no es común a todas las especies animales estudiadas. En un estudio realizado en perros, la administración de 20 mg.kg<sup>-1</sup> de L-NAME no modificó la presión pulmonar y en cambio provocó un importante aumento de la PA sistémica<sup>320</sup>.

La marcada disminución del GC causada por la L-NAME en el presente estudio ha sido descrita en diferentes modelos animales como el perro<sup>202</sup>, la rata<sup>322</sup>, el caballo<sup>323</sup> y el conejo<sup>319</sup>. También ha sido demostrado este efecto en humanos<sup>201</sup>. La reducción del GC responde a un mecanismo multifactorial ya que ninguna causa explica por sí sola un

efecto tan intenso. Uno de las más importantes es el aumento de la postcarga secundaria a la vasoconstricción y la consiguiente disminución del volumen sistólico<sup>202</sup>, aunque la disminución del GC es evidente a dosis en las que la PAM aún no se ha modificado<sup>318</sup>. Por otro lado, aumentos de presión de igual magnitud causados por la administración de fenilefrina tuvieron menos efecto en la disminución del volumen sistólico<sup>324</sup>. También contribuyen el efecto baroreceptor secundario al aumento de la presión arterial, así como la disminución de la precarga secundaria a la disminución del volumen plasmático. Este efecto es debido probablemente al aumento de permeabilidad vascular causado por la inhibición de la síntesis de NO, que se ha observado tanto en animales intactos<sup>316</sup> como en modelos de shock endotóxico<sup>203</sup>. Es posible también que el mayor aumento de la postcarga del ventrículo derecho que del izquierdo de lugar a la desviación del septo interventricular disminuyendo aún más el volumen sistólico. Por otro lado, se ha atribuido a la L-NAME un efecto inotrópico negativo<sup>202</sup> y vasoconstrictor coronario en modelos animales<sup>204,205</sup> y en humanos<sup>206</sup>. Se ha sugerido la posibilidad de que la liberación basal de NO en el miocardio sea necesaria para preservar la función cardíaca *in vivo*.

En nuestro estudio, la disminución del GCC probablemente fue secundaria a la disminución del volumen sistólico por incremento de la poscarga. La disminución del volumen plasmático fue improbable por la continua reposición de líquidos y la estabilidad de las presiones de llenado a lo largo del estudio. No podemos descartar que la isquemia miocárdica contribuyera en parte al descenso del GCC. A pesar de que no se observaron cambios en el ECG, se pudo producir un cierto grado de disfunción miocárdica por hipoxemia, ya que la media de la PaO<sub>2</sub> antes del inicio de la infusión de L-NAME era de 57 mmHg. En ratas con shock endotóxico se encontraron áreas de isquemia después de administrarles NNLA, otro inhibidor de la NOS<sup>201</sup>.

En cuanto al flujo que recibió el pulmón ventilado con la administración de L-NAME, no se modificó significativamente en valor absoluto. Sin embargo, debido a la disminución del GCC en esta fase, se produjo un incremento significativo de la relación flujo/GCC. Esta disminución del GCC provocado por la L-NAME no afectó por igual a la perfusión de ambos pulmones, sino que disminuyó la proporción de flujo hacia el pulmón colapsado, es decir que causó un aumento de la VPH. Dado que en nuestro

estudio el tamaño del área pulmonar hipóxica no se modificó durante la administración de L-NAME, se puede aceptar que la redistribución de flujo obedeció a la disminución del GCC y al aumento de la VPH. Estos datos respecto a la distribución de flujo corroboran los resultados obtenidos por otros autores <sup>196,197</sup>.

La mayor intensidad del efecto vasoconstrictor de los inhibidores del NO en entorno hipóxico, favorece la redistribución de flujo hacia las áreas pulmonares ventiladas y por tanto menos vasoconstrañidas. Sprague y cols <sup>196</sup> en un modelo de hipoxia unilateral en conejos a los que administró dos dosis (0,03 mg.kg<sup>-1</sup> y 1 mg.kg<sup>-1</sup>) de L-NAME observó una disminución del flujo dosis-dependiente hacia el pulmón hipóxico, incluso con la dosis más pequeña que no llegó a aumentar la presión pulmonar. En otro estudio de hipoxia lobar en cerdos, Fredén y cols <sup>197</sup> también observaron una reducción del flujo hacia el lóbulo hipóxico con la administración de 30 mg.kg<sup>-1</sup> de L-NAME. En ambos trabajos se produjo una disminución del GC y de la proporción de éste que perfundía las áreas hipóxicas.

El efecto de la L-NAME sobre el intercambio pulmonar de gases en este modelo fue inferior al esperado. De hecho se observó un efecto disociado, ya que por un lado disminuyó de forma significativa la  $Q_{VA}/Q_T$  en un 20%, pero no aumentó en la misma proporción la PaO<sub>2</sub>, que se incrementó un 10%. Tanto la PvO<sub>2</sub>, como la saturación venosa mixta tendieron a bajar, aunque no de forma significativa. Este descenso se explicaría por una disminución del transporte de O<sub>2</sub> ya que la extracción por los tejidos no parece modificarse por la L-NAME <sup>316</sup>.

A pesar del cambio en la redistribución del flujo pulmonar y la consiguiente disminución significativa de mezcla venosa o *shunt*, la L-NAME no causó una mejoría significativa de la oxigenación. Esta discordancia puede ser debida en parte a la gran variabilidad interindividual observada en los valores de PaO<sub>2</sub>. Por otro lado, los valores absolutos del flujo que recibió el pulmón ventilado, es decir el flujo disponible para el intercambio de gases, tendieron a disminuir en todos los animales, aunque no se alcanzaron diferencias estadísticamente significativas.

Los efectos sobre el intercambio de gases de la administración de L-NAME son difíciles de interpretar por el marcado descenso del GC asociado. Esta disminución



comporta una reducción de la perfusión en zonas no ventiladas, y por tanto pudo ser la responsable principal de la disminución de la mezcla venosa o *shunt* observada en nuestro estudio, tal y como han apuntado otros autores en modelos de lesión pulmonar difusa<sup>79,325</sup>.

El impacto del GC en la oxigenación ha sido investigado tanto en modelos experimentales como en clínica. Es ampliamente aceptado que en pulmones sanos o con lesión difusa las variaciones del GC conllevan cambios en el mismo sentido del *shunt* y de la PvO<sub>2</sub>. Así, una disminución del GC comporta por un lado la disminución de la PvO<sub>2</sub>, lo que da lugar a un descenso de la PaO<sub>2</sub> y por otro, causa una reducción proporcional de la perfusión de las áreas hipóxicas, es decir del *shunt*, dando lugar a una mejoría de la PaO<sub>2</sub>. La reducción del GC ha sido empleada como estrategia terapéutica para disminuir el *shunt* en la alteración difusa del parénquima pulmonar tanto en modelos animales<sup>326,327</sup>, como en clínica<sup>328</sup>.

Sin embargo, en estudios realizados en modelos experimentales de colapso unipulmonar, esta relación directa entre el GC y el *shunt* no siempre se cumple<sup>259</sup>. De hecho, se ha sugerido una relación inversa entre estos parámetros en distintos trabajos en los que las variaciones de la perfusión del pulmón hipóxico dependen de la técnica utilizada para manipular el GC. Así, la disminución del GC causó un aumento del *shunt* en estudios experimentales de hipoxia unipulmonar y shock hemorrágico<sup>252,329,330</sup>. La hemorragia, disminuye el GC y produce además una disminución de la PAP. En estas condiciones el *shunt* aumenta debido a un efecto mecánico de desequilibrio de la presión transmural, ya que la presión alveolar superaría la presión arterial en el pulmón ventilado, favoreciendo la perfusión del pulmón colapsado.

Esta relación inversa entre GC y *shunt* también ha sido descrita cuando el GC aumenta. En un estudio clínico realizado en 10 pacientes bajo ventilación unipulmonar en los que se aumentó el GC mediante la infusión de dobutamina se observó una disminución del *shunt* y un aumento de PaO<sub>2</sub><sup>331</sup>. En este caso la PAP no aumentó y por tanto tampoco lo hizo la perfusión de las zonas hipóxicas.

En nuestro trabajo, la disminución del GC secundario a L-NAME se acompañó de un incremento importante de la PAP y de las RVP de predominio en el pulmón

colapsado, donde se sumaba la acción de la VPH y la inhibición de la síntesis del NO. De esta forma, aunque el flujo pulmonar total disminuyó, la presión de perfusión se mantuvo elevada y el flujo se distribuyó preferentemente hacia el pulmón ventilado que ofrecía menor resistencia. Por tanto, la acción directa de la L-NAME sin duda contribuyó al efecto sobre la redistribución del flujo pulmonar. El resultado fue un descenso del GC del 30% acompañado de una reducción de la mezcla venosa o *shunt* del 20%, pero también de una tendencia a la disminución de la PvO<sub>2</sub> (7%) que, aunque no alcanzó significación estadística, pudo limitar el aumento de la PaO<sub>2</sub> (10%) en este contexto.

Un factor que puede explicar este discreto efecto de la L-NAME en el intercambio de gases, es el grado de hipoxemia previa a la administración del inhibidor como consecuencia de la elevada proporción de área pulmonar hipóxica. El valor medio de la PaO<sub>2</sub> antes de la administración de la L-NAME era de 57 mmHg y debido a la forma de la curva de disociación de la Hb, un aumento dado en el contenido arterial de O<sub>2</sub> tiene una menor repercusión en el incremento de la PaO<sub>2</sub> partiendo de una PaO<sub>2</sub> baja, ya que se sitúa en la zona de mayor pendiente de la curva. En los estudios de Sprague <sup>196</sup> y Fredén <sup>197</sup> citados anteriormente, el efecto de la L-NAME en el intercambio de gases fue más intenso, pero la proporción de pulmón hipóxico y por tanto el grado de hipoxemia previas de los animales fueron menores.

La dosis de L-NAME utilizada en el presente estudio (30 mg.kg<sup>-1</sup>), es otro factor posiblemente implicado en la diferencia de resultados con otros trabajos. No se realizó una curva dosis respuesta en cuanto al efecto sobre la distribución del flujo y el intercambio de gases, sino que se eligió una dosis efectiva en cuanto a la acción vasoconstrictora pulmonar y sistémica, previamente testada en el mismo animal<sup>79</sup>. La eficacia de esta dosis fue demostrada también en un estudio realizado en cerdos en los que la curva dosis-respuesta a la L-NAME mostró efectos hemodinámicos máximos a dosis de 30 mg.kg<sup>-1</sup> <sup>316</sup>.

No podemos descartar que la administración de una dosis inferior, con menor repercusión hemodinámica, tuviera una respuesta más favorable sobre la distribución de flujo y el intercambio de gases. En el estudio de Sprague y cols <sup>196</sup> realizado en conejos

con hipoxia unilateral, dosis de 0,03 y de 1 mg.kg<sup>-1</sup> consecutivas obtuvieron un efecto dosis dependiente tanto en la distribución de flujo como en la mejoría de la oxigenación. Sin embargo, la primera no tuvo efecto hemodinámicos significativos y la segunda solo produjo cambios moderados en las presiones pulmonar y sistémica y en el GC. También en los estudios clínicos realizados en pacientes con shock, con una dosis más pequeña se obtuvieron buenos resultados en cuanto al intercambio de gases con una repercusión hemodinámica menor <sup>332</sup>.

La administración de inhibidores de la síntesis de NO ha sido utilizada también en modelos experimentales de lesión pulmonar difusa para estudiar su efecto sobre la VPH y en el intercambio de gases. En un modelo canino de lesión aguda pulmonar, la administración de L-NAME previno el aumento del *shunt* y el empeoramiento de la oxigenación <sup>333</sup>. En ovejas con sepsis hiperdinámica por endotoxina, la L-NAME dio lugar a una mejoría del intercambio de gases que los autores atribuyeron a la disminución del GC<sup>325</sup>. Sin embargo, en otros estudios la administración de L-NAME no tuvo ningún efecto en estos parámetros. En ovejas anestesiadas a las que se les había inducido una lesión pulmonar por lavados alveolares <sup>79</sup>, este inhibidor no tuvo ningún efecto sobre el *shunt* ni la oxigenación. Tampoco mejoró el intercambio de gases en un modelo canino de lesión pulmonar por ácido oleico <sup>334</sup>.

En el presente trabajo se decidió utilizar la L-NAME porque es más lipofílico y potente que otros inhibidores de la NOS <sup>335</sup>, que también han sido utilizados en diferentes modelos animales para potenciar la VPH. Leeman y cols<sup>187</sup> en un estudio en perros observaron que la administración de L-NNA aumentaba la VPH o la restauraba en los animales que no habían respondido a la hipoxia. Otro inhibidor la L-NMMA <sup>258</sup> consiguió una mejoría de la VPH en un modelo de sepsis crónica en ovejas sometidas a estímulos hipóxicos unipulmonares. A pesar de que disminuyó significativamente el *shunt* (probablemente debido a la disminución del GC), no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la oxigenación. Sin embargo, en un estudio realizado en perros con lesión pulmonar por ácido oleico a los que se les administró L-NMMA no se observó ningún cambio en el *shunt* medido por la técnica de gases inertes ni en el intercambio de gases<sup>78</sup>.

Las diferencias en la especie animal utilizada en los diferentes estudios, condiciona también una diferencia en los resultados obtenidos con los inhibidores del NO, ya que existen importantes diferencias en la síntesis basal de NO endógeno en el pulmón. Mientras que en la oveja y en el cerdo la liberación de NO juega un papel importante en el mantenimiento del bajo tono muscular de la vasculatura pulmonar <sup>263</sup>, en la rata <sup>336</sup> y en el perro <sup>337</sup> la liberación de NO en condiciones de normoxia es menos evidente. Cremona y cols<sup>263</sup> compararon el efecto de la L-NAME en pulmones aislados de perros, cerdos, ovejas y humanos. En condiciones basales aumentó la PVR en todos menos en los pulmones de perro. Bajo estímulo hipóxico aumentó también las PVR en el pulmón de éste. En el pulmón humano aumentó las PVR también en presencia de hipertensión.

En cuanto a la utilización clínica de la L-NAME, los primeros estudios se realizaron en pacientes con hipotensión severa secundaria a la liberación masiva de NO endógeno durante la endotoxemia. En muchos de estos casos se utilizaron dosis bajas con buenos resultados. La administración de 0,3 mg.kg<sup>-1</sup> de L-NAME a 10 pacientes leucopénicos con shock séptico severo causó un aumento de la PAS y de las RVS sin cambios en el GC, permitiendo disminuir la dosis de vasopresores <sup>332</sup>. Posteriormente se vio que además de aumentar la presión mejoraba el intercambio de gases. En 11 pacientes con shock séptico refractario, a los que se les administró durante 12 horas una perfusión de 1 mg.kg<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> de L-NAME, se observó un aumento de la PAM con aumento discreto de la PAP, que se acompañó de una disminución del Q<sub>S</sub>/Q<sub>T</sub> y una mejoría de la oxigenación <sup>201</sup>. También se ha utilizado en pacientes con hipotensión severa de otras etiologías. En un estudio aleatorizado se utilizó 1 mg.kg<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> de L-NAME en pacientes con shock cardiogénico refractario que respondieron favorablemente <sup>338</sup>. Sin embargo, en un metaanálisis<sup>339</sup> se analizaron todos los estudios experimentales y clínicos relevantes respecto a la eficacia del tratamiento con inhibidores de la NOS sobre la mortalidad en el shock y no se hallaron resultados concluyentes.

No hemos encontrado estudios publicados sobre la utilización de inhibidores de la NOS durante la ventilación unipulmonar. A la vista de los resultados obtenidos en nuestro estudio, la administración de L-NAME sola en un modelo de ventilación unipulmonar con alteración severa de la oxigenación, produce un intenso efecto

hemodinámico y de redistribución de flujo que no se acompaña de mejoría significativa del intercambio de gases. Por tanto, a las dosis utilizadas no es efectiva, aunque desconocemos si dosis inferiores podrían haber mejorado estos resultados.

En el presente estudio se investigaron también los efectos de la **indometacina, inhibidor de la síntesis de las prostaglandinas** sobre la hemodinámica, el flujo pulmonar y el intercambio de gases.

La administración de 5 mg.kg<sup>-1</sup> de indometacina en este modelo también causó una vasoconstricción generalizada, aunque de menor intensidad que la observada con la L-NAME. En la circulación sistémica, aumentaron la PAM y las RVS sin producir cambios significativos en el GCC. En la circulación pulmonar, la PAP aumentó de forma más intensa que la PAM pero el aumento de las RVP no alcanzó significación estadística. La vasoconstricción pulmonar en este modelo no fue selectiva. Al analizar las RVP derechas e izquierdas por separado, comprobamos que ambas aumentaron de forma similar. En general, se observó una importante variabilidad interindividual en la respuesta a este inhibidor para todos los parámetros.

El efecto presor de la indometacina sobre los vasos pulmonares previamente constreñidos por un estímulo hipóxico, no tuvo ningún efecto sobre la distribución del flujo, evidenciando una ausencia de potenciación de la VPH en el pulmón no ventilado. Tampoco mejoró la relación ventilación/perfusión, ni el intercambio de gases en este modelo.

Estos datos indican que los efectos potencialmente beneficiosos de la vasoconstricción del pulmón no ventilado quedaron enmascarados o contrarrestados por la vasoconstricción simultánea del pulmón ventilado, que impidieron la redistribución de flujo. La ausencia de selectividad en el efecto de la indometacina en este modelo pudo deberse en parte a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas vasodilatadoras en estas zonas hipóxicas en el pulmón ventilado que impidieron el aumento de flujo hacia dicho pulmón. Al igual que en los casos anteriores, el menor tamaño del área pulmonar ventilada con relación a la no ventilada, condicionó una limitación a la redistribución de flujo y por tanto de la eficacia de la VPH durante la ventilación unipulmonar. La

vasoconstricción no selectiva causada por la indometacina lógicamente no potenció la VPH.

Las prostaglandinas participan en el mantenimiento del tono vascular y en la modulación de la vasoconstricción pulmonar, como lo demuestran multitud de trabajos en los que la inhibición de la ciclooxigenasa aumenta el tono basal de la vasculatura pulmonar<sup>340,341</sup> y su respuesta a diferentes vasoconstrictores<sup>342</sup>.

La prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) es una prostaglandina con potente efecto vasodilatador que se produce y libera en respuesta al aumento de la presión pulmonar y/o hipoxia secundarias a múltiples alteraciones como la lesión pulmonar aguda o la neumonía. El aumento de síntesis de PGI<sub>2</sub> en el territorio pulmonar vasoconstruido tiene un papel protector contra una vasoconstricción excesiva<sup>342</sup>. Sin embargo, al atenuar la vasoconstricción pulmonar mantiene el flujo pulmonar en las zonas no ventiladas empeorando la oxigenación<sup>196</sup>. Una elevada liberación de esta PG durante un estímulo hipóxico puede ser la causa de una respuesta vasoconstrictora débil y de la variabilidad de la respuesta VPH incluso en animales de la misma especie<sup>343,344</sup>.

La administración de inhibidores de la síntesis de prostaglandinas por tanto, ha sido ampliamente utilizada para potenciar la VPH en diferentes modelos experimentales caracterizados por la presencia de *shunt* pulmonar de diversas etiologías.

En modelos de hipoxia regional se han probado distintos inhibidores con buenos resultados. Uno de ellos, el meclofenamato disminuyó el *shunt* y mejoró la oxigenación en un modelo canino de atelectasia lobar sin afectar la amplia variabilidad en la intensidad de la respuesta vasoconstrictora a la hipoxia<sup>213</sup>. En otro estudio realizado en perros con hipoxia unilateral, Sprague y cols<sup>265</sup> observaron que tanto la indometacina como el meclofenamato disminuían el flujo hacia el pulmón hipóxico mejorando significativamente la oxigenación. La administración de PGI<sub>2</sub> en estas condiciones restauró el flujo hacia el pulmón hipóxico al nivel previo al bloqueo de la COX. Estos mismos autores<sup>196</sup>, en un modelo similar en conejos, obtuvieron un aumento del flujo al pulmón oxigenado y de la PaO<sub>2</sub> significativos tras la administración de indometacina. En todos estos estudios los valores basales de la PaO<sub>2</sub> previos a la administración del inhibidor eran normales a diferencia de lo que ocurrió en nuestro estudio.

La utilización de los inhibidores de las PG también ha sido efectiva en modelos experimentales de lesión pulmonar local o difusa. En un modelo canino de edema pulmonar lobar por ácido oleico la administración de indometacina disminuyó la perfusión a dicho lóbulo y por consiguiente el *shunt*<sup>215</sup>. En otro estudio en perros con lesión pulmonar por aspiración ácida, la administración de indometacina redujo el *shunt* pulmonar y el índice cardíaco aunque no hubo diferencias en cuanto a la acumulación de líquido pulmonar<sup>216</sup>. En estudios realizados en perros con lesión pulmonar por ácido oleico, la administración de indometacina y ácido acetilsalicílico (AAS) potenció la VPH disminuyendo el *shunt* y mejorando el intercambio de gases<sup>217,345</sup>. En un modelo canino con diferentes grados de hipoxia, la administración de indometacina o AAS permitió la recuperación de la VPH, la disminución del *shunt* y la mejoría de la PaO<sub>2</sub><sup>346</sup>. La inhibición de la COX tuvo además un papel protector, ya que en los animales tratados antes de la lesión se preservó la VPH y el deterioro de los gases fue menor.

En otros trabajos sin embargo, la administración de los inhibidores de la COX en la lesión pulmonar no tiene ningún efecto o tiene efectos negativos sobre los parámetros pulmonares y del intercambio de gases. En un modelo canino de lesión pulmonar por ácido oleico la administración previa de indometacina (3 mg.kg<sup>-1</sup>) no previno la alteración gasométrica inducida por la lesión<sup>222</sup>. En ratas, la administración de indometacina no tuvo ningún efecto beneficioso en la lesión pulmonar por ácido oleico<sup>221</sup>. Tampoco tuvo efecto protector el ibuprofeno en la evolución de la lesión pulmonar por ácido oleico en ovejas<sup>223</sup>. En otro estudio realizado en perros con embolismo pulmonar agudo, tanto la administración de indometacina como de AAS empeoraron la hemodinámica pulmonar, la distribución de la Q<sub>VA</sub>/Q<sub>T</sub> valorada con la técnica de la eliminación de gases inertes y el intercambio de gases<sup>224</sup>.

Otro modelo experimental muy utilizado es el de neumonía. Estos animales también respondieron favorablemente a los inhibidores de las PG. En perros con neumonía lobar, tanto la administración de indometacina (2mg.kg<sup>-1</sup>) como de AAS (100 mg.kg<sup>-1</sup>) causaron una mejoría de la oxigenación debido a una disminución de la perfusión del lóbulo pulmonar consolidado<sup>347</sup>. En otro estudio en el que se comparó el efecto de la indometacina con placebo en perros con neumonía bilateral por pseudomonas<sup>214</sup>, la indometacina causó una disminución de los niveles de los

metabolitos de la PGI<sub>2</sub> y una disminución significativa de la perfusión de las regiones consolidadas con la consiguiente reducción del *shunt* y mejora de la oxigenación. La administración de PGI<sub>2</sub> no contrarrestó completamente el efecto beneficioso de la indometacina.

En cuanto a la utilización clínica de los inhibidores de las PG, los estudios realizados en distintas patologías pulmonares han obtenido resultados variables. En pacientes con SDRA la infusión de un bolus de 50 mg de indometacina mejoró la oxigenación y disminuyó el *shunt* de forma significativa una hora después de la administración<sup>225</sup>. En pacientes con neumonía a los que se les administró 1 mg.kg<sup>-1</sup> de indometacina también se observó una mejoría significativa de la oxigenación, aunque la intensidad de la respuesta fue variable entre los pacientes, dos de los cuales no respondieron al tratamiento<sup>348</sup>. En contraposición, en pacientes con neumonía unilateral severa la administración de 2 g de AAS disminuyó ligeramente el *shunt*, pero no mejoró la oxigenación pulmonar<sup>226</sup>.

Son varios los factores implicados en la heterogeneidad de la respuesta a la indometacina en los distintos estudios referidos y la diferencia con respecto a nuestro estudio.

La dosis utilizada en los distintos estudios es uno de ellos, ya que varía considerablemente desde 1mg.kg<sup>-1</sup> utilizado en los estudios clínicos hasta 10 mg.kg<sup>-1</sup> administrados en algunos estudios experimentales<sup>215</sup>. En el presente estudio tampoco se realizó una curva dosis-respuesta en cuanto a la vasoconstricción pulmonar de la indometacina, sino que se utilizó una dosis con probado efecto en otras especies animales como conejos<sup>196</sup>, perros<sup>265</sup> y cerdos<sup>349</sup>. La administración de una solución endovenosa de indometacina no tamponada puede resultar en precipitación de ácido libre insoluble de la indometacina. Sin embargo, aunque no se midieron los niveles plasmáticos, la vasoconstricción generalizada observada indica la efectividad del fármaco.

La ineficacia de la indometacina en nuestro modelo podría deberse a una sobredosificación de la misma de forma que no se limitara la inhibición de la síntesis y liberación de PG vasodilatadoras en el pulmón no ventilado sino también en el resto del



territorio pulmonar donde contribuyen a mantener el tono basal arterial. No podemos predecir los resultados de dosis inferiores.

Otro de los factores implicados en las diferencias de los resultados es la especie animal utilizada. En varios estudios se ha puesto de manifiesto la variabilidad interespecie no solo de la intensidad del efecto de los mediadores que regulan el flujo pulmonar<sup>350</sup>, sino también de la localización predominante de su acción. Barnard y cols<sup>351</sup> observaron que las PG vasodilatadoras mantenían el bajo tono vascular en pulmones aislados de perro, pero no en pulmones de rata. Kadovitz y cols<sup>352</sup> compararon el efecto vasoconstrictor pulmonar de la PGE<sub>2</sub> en perros, ovejas y cabras y concluyeron que en las tres especies esta sustancia aumentaba las RVP pero que la localización del efecto en el árbol vascular difería entre ellos.

Diferencias en el tipo de insulto pulmonar, condicionan diferentes grados de alteración de los mecanismos que regulan el flujo y por tanto del *shunt* resultante, incluso en el mismo modelo animal. En un estudio realizado en perros en el que se comparaba el efecto de la hipoxia y de la lesión por ácido oleico limitados a un lóbulo pulmonar, se vio que la disminución de flujo pulmonar al territorio afecto en respuesta a la lesión pulmonar fue significativamente mayor que la reducción en respuesta a la hipoxia y que estos cambios se correlacionaron con la alteración gasométrica<sup>353</sup>.

La pérdida de la VPH que se produce en circunstancias patológicas (neumonía, endotoxina, lesión pulmonar) es la responsable en parte del deterioro gasométrico y puede estar causada por la liberación de PGI<sub>2</sub> en el territorio vascular afectado. La intensidad del efecto obtenido con los inhibidores de las PG dependerá, por tanto, del grado de protagonismo que tengan las prostaglandinas vasodilatadoras en el mantenimiento del *shunt* dentro del contexto de una alteración pulmonar determinada. La liberación y persistencia de otras sustancias vasodilatadoras en respuesta a la hipoxia en la zona afectada, independientes de la COX, impediría la redistribución de flujo hacia las áreas ventiladas a pesar de la administración de estos inhibidores. Otra posibilidad como se ha apuntado en estudios en que coexisten la hipoxia y la lesión pulmonar<sup>346</sup>, sería la pérdida de la respuesta presora a la hipoxia en condiciones de hipoxia extrema. De este modo, la vasoconstricción presente en zonas de hipoxia moderada donde la

respuesta presora estaría intacta derivaría flujo hacia aquellos territorios que han dejado de contraerse por extinción de la respuesta.

En nuestro estudio, la VPH estaba intacta durante la ventilación unipulmonar y su limitación no se puede atribuir exclusivamente a una liberación excesiva de PGI<sub>2</sub> en el pulmón no ventilado. La causa más probable fue la incapacidad de los vasos del pulmón ventilado de acoger más flujo. Aun así, el estímulo hipóxico en el pulmón colapsado dio lugar a la liberación de PG vasodilatadoras como lo demuestra la vasoconstricción secundaria a la inhibición de la síntesis de las mismas. Probablemente la distribución de las PG entre ambos pulmones fue similar (puesto que la indometacina causó vasoconstricción pulmonar generalizada). Aunque no podemos corroborar esta hipótesis puesto que no se analizaron las concentraciones de sus metabolitos. En un estudio en perros<sup>354</sup> no se encontraron diferencias en los niveles de metabolitos de prostaciclina antes y después de inducir una atelectasia lobar, ni hubo correlación entre los niveles de 6-Keto- PGF<sub>1</sub> alfa y el grado de *shunt*.

La regulación del flujo pulmonar depende de una compleja interacción de mecanismos que aumentan o disminuyen el tono vascular. Factores como la hipercapnia o las alteraciones del pH que actúan a nivel local e interfieren en la relación ventilación perfusión y en el intercambio de gases<sup>355</sup>, determinarán también el grado de respuesta a los inhibidores de la COX y la variabilidad de los resultados. En el presente estudio la administración de indometacina causó una disminución significativa del pH y un aumento de la PaCO<sub>2</sub> que pudo haber contribuido al aumento de la PAM generalizada y por tanto, a la disminución de la eficacia de la VPH.

La hipoxia y la hipercapnia además, aumentan el flujo de las arterias bronquiales<sup>356</sup> y este aumento es bloqueado por la administración de indometacina. En un estudio en perros con hipoxia alveolar la administración de ibuprofeno o indometacina causó la abolición del aumento de flujo bronquial y la vasodilatación sistémica<sup>357</sup>. Wagner y cols<sup>358</sup> en un estudio en ovejas observaron una vasodilatación bronquial en condiciones de hipoxemia moderada que revirtió con la administración de indometacina o ibuprofeno. Estos trabajos sugieren una relación recíproca entre la intensidad de la VPH y la respuesta vasodilatadora de la circulación bronquial. Dado que

las arterias bronquiales aportan la irrigación de las arterias pulmonares a través de los vasa vasorum es lógico que la vasoconstricción de las arterias bronquiales causada por inhibición de la COX de lugar a un aumento de la vasoconstricción de las arterias pulmonares irrigadas por ellas. Hyman y cols <sup>359</sup> demostraron que las sustancias vasoactivas en la circulación bronquial actúan también en la circulación pulmonar. Esto podría explicar el aumento de la vasoconstricción tanto en el pulmón ventilado como en el colapsado observado en este estudio con la inhibición de la COX.

Por último, la anestesia podría haber interferido con la vasodilatación producida por las PG. El pentobarbital puede abolir la vasodilatación producida por los productos de la COX <sup>24</sup>. Sin embargo, el tiopental utilizado en este modelo tuvo escasa repercusión, ya que la inhibición de la COX con indometacina causó vasoconstricción pulmonar y sistémica.

No hemos encontrado trabajos clínicos que utilicen los inhibidores de las PG durante la ventilación unipulmonar.

Por tanto la indometacina en este modelo de ventilación unipulmonar, no potenció la VPH como ocurre en otros modelos y no mejoró el intercambio gases.

El **último objetivo** de este estudio fue determinar si la combinación de los inhibidores de la síntesis endógena de NO, **N<sup>G</sup> Nitro-L-Arginina** y de la síntesis de PG **indometacina** potenciaban el efecto **del iNO**.

La administración de **iNO** al pulmón ventilado después de la inhibición de la síntesis endógena mediante **L-NAME** no modificó el descenso del GCC ni el aumento de la PAM y las RVS causados por ésta, corroborándose el efecto selectivo del iNO sobre la circulación pulmonar. Aunque no hubo diferencias significativas en estos parámetros en comparación con los obtenidos con L-NAME sola, los valores de GCC fueron ligeramente menores y los de las RVS mayores después de la inhalación de NO, lo que demuestra la continuidad del efecto de la L-NAME durante esta fase del estudio.

La inhalación de NO atenuó el efecto vasoconstrictor pulmonar de la L-NAME causando un rápido descenso de la PAP hasta los niveles previos a la administración de

L-NAME. También disminuyeron significativamente las RVP, aunque no alcanzaron las cifras previas. El iNO solo alcanzó y dilató los vasos perialveolares de las zonas ventiladas mientras que la L-NAME, al acceder a todo el árbol vascular pulmonar, las arteriolas y venas de mayor calibre mantuvieron la vasoconstricción. En un estudio realizado en pulmones aislados de cerdos la inhibición de la síntesis endógena de NO mediante L-NNA aumentó la resistencia vascular en el segmento arterial, precapilar y venoso<sup>360</sup>. La hipoxia aumentó las resistencias en el segmento precapilar y muy poco en el venoso. La administración de 80 ppm de iNO revirtió los efectos del L-NNA en el segmento arterial pero no en el venoso probablemente por la mayor distancia de difusión o por el bajo tono preexistente en las venas. Resultados similares se observaron en un estudio realizado en pulmones aislados de cerdos recién nacidos<sup>361</sup>.

Además, desde el punto de vista matemático, a pesar de que disminuyeron los valores de la presión de perfusión, los valores de GCC fueron ligeramente menores y por tanto la disminución de las RVP no fue tan acusada.

Entre los factores que influyen en la intensidad del efecto del NO discutidos anteriormente se incluye el grado de vasoconstricción previo a la inhalación de NO. En este modelo, la administración de L-NAME causó un importante incremento de las RVP en ambos pulmones, por lo que la vasodilatación producida por la inhalación de NO y la consiguiente disminución de las RVP fue mayor que la producida por el iNO solo. Pero debido a la disminución del GC provocado por la L-NAME, el efecto vasodilatador del iNO no se reflejó en una mayor disminución de las RVP. Probablemente no se alcanzó significación estadística por la gran variabilidad individual observada en la respuesta.

El análisis individual de la RVP mostró una disminución de las RVP izquierdas de la misma magnitud que las RVP totales y un aumento importante de las RVP derechas con respecto a las obtenidas con la L-NAME sola. Si se considera la vasculatura pulmonar en ventilación unipulmonar como dos circuitos en paralelo con diferente resistencia, suponiendo un GC constante, cuánto más alta sea la resistencia en el pulmón no ventilado, más dependerán la presión de perfusión pulmonar y las RVP totales de la resistencia en el pulmón ventilado. La disminución de las resistencias provocada por la inhalación de NO en el pulmón ventilado repercutió mucho más en la PVR total<sup>305</sup>.

En cuanto a los efectos sobre el flujo pulmonar, la asociación de la L-NAME con iNO produjo un claro efecto sinérgico en la distribución de flujo pulmonar hacia el pulmón ventilado. A pesar de que hubo una tendencia al aumento de flujo en valor absoluto hacia el pulmón ventilado con la inhalación de NO, éste no fue significativo. Sin embargo, este ligero aumento (5%), junto con la disminución del GC (36%) ya establecida por la L-NAME, dio lugar a un importante aumento de la relación flujo/GCC significativamente más intenso que el obtenido con la L-NAME y al NO por separado. La relación flujo/GCC aumentó un 65% con respecto al periodo basal previo y un 34% con respecto a la L-NAME sola.

Fredén y cols<sup>197</sup> en un modelo de hipoxia lobar en cerdos, observaron que la inhalación de 40 ppm de iNO combinado con la administración de L-NAME prácticamente abolió el flujo hacia el lóbulo hipóxico y aumentó espectacularmente la PaO<sub>2</sub>. Sin embargo, a diferencia de nuestro trabajo el área hipóxica se limitaba a un lóbulo pulmonar.

También se observó un efecto sinérgico en el intercambio de gases comparado con el obtenido con ambos agentes por separado. La disminución del Q<sub>VA</sub>/Q<sub>T</sub> (44%) y el aumento de la PaO<sub>2</sub> (76%) fueron muy superiores a los obtenidos con iNO y L-NAME solos. Paralelamente la PvO<sub>2</sub> que había disminuido con la administración de L-NAME, aumentó de forma significativa.

Estos resultados demuestran que la L-NAME potencia el efecto del iNO sobre la reducción de la mezcla venosa o *shunt* calculado y la mejoría del intercambio de gases. La causa podría ser tanto a la disminución del *shunt* a través del pulmón colapsado, como a la disminución de la perfusión de áreas con alteración de la relación V/Q dentro del pulmón ventilado o a la suma de ambos.

Dado que la mezcla venosa calculada (Q<sub>VA</sub>) es la suma del flujo que perfunde el pulmón hipóxico (Q<sub>H</sub>) más el flujo que perfunde áreas con baja relación V/Q del pulmón ventilado (Q<sub>VEN</sub>), se puede calcular de forma indirecta la contribución de cada uno de ellos a la mezcla venosa total:

$$Q_{VA}/Q_T = Q_H/Q_T + Q_{VEN}/Q_T$$

Donde  $Q_H$  se puede obtener restando GCC menos el flujo medido del pulmón ventilado y  $Q_{VEN}$  se puede calcular restando

$$Q_{VEN}/Q_T = Q_{VA} / Q_T - (Q_T - \text{Flujo}) / Q_T$$

Al comparar estos resultados no se encontraron diferencias en la mezcla venosa correspondiente al pulmón ventilado con respecto a la L-NAME o iNO solos. Por tanto, la mejoría de la oxigenación se debió principalmente a la disminución de flujo hacia el pulmón colapsado

También se puede obtener el grado de contribución de cada componente del *shunt* mediante el cálculo del aumento del contenido arterial de  $O_2$  <sup>197</sup>. Los resultados de estos cálculos confirmaron que el aumento de flujo hacia el pulmón ventilado fue el único responsable de la disminución de la mezcla venosa en este modelo.

Dado que la disminución de la mezcla venosa se debe a la disminución del flujo hacia el pulmón hipóxico y que sin duda la disminución del GCC es en parte responsable, no se puede descartar que la mejoría significativa del intercambio de gases en comparación con el iNO fuera debida en gran medida a la disminución del GC <sup>79</sup>

Sin embargo, la potenciación del efecto del iNO después del tratamiento con L-NAME puede estar relacionada con la disminución de la síntesis basal de cGMP y el aumento de la sensibilidad del endotelio al NO. Moncada y cols <sup>62</sup> demostraron que en anillos aislados de aorta de rata la supresión del endotelio o la administración de L-NAME aumentaba la potencia vasodilatadora de donadores de NO (nitroprusiato) y su capacidad de aumentar los niveles de cGMP. *In vivo*, el mismo pretratamiento aumentó el efecto hipotensor de otro donador de NO en ratas.

En el presente estudio, la  $PvO_2$  aumentó de forma significativa con la combinación de L-NAME+iNO, a pesar de que el GC no se modificó respecto a la administración de L-NAME sola. Este aumento de la  $PvO_2$  podría haber disminuido el estímulo hipóxico en el pulmón colapsado limitando la redistribución de flujo hacia el pulmón ventilado, sin embargo es improbable debido a que los valores medios de  $PvO_2$

obtenidos fueron de 43 mmHg y en cualquier caso este efecto fue contrarrestado por la intensa vasoconstricción causada por la L-NAME.

La utilización conjunta de inhibidores de la síntesis de NO junto con iNO ha sido utilizada en modelos experimentales de shock endotóxico. En un estudio con cerdos la administración de 0,1 mg.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup> de L-NMMA combinado con la inhalación de 50 ppm de NO causó una mejoría hemodinámica, una disminución del *shunt* y un aumento de la oxigenación significativos <sup>362</sup>. En el mismo modelo animal la administración de 50 ppm de iNO junto con la perfusión de 50 mg.kg<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> de L-NAME evitó la hipotensión sistémica, mejoró la hipertensión pulmonar y el intercambio de gases <sup>363</sup>

No se han encontrado en la literatura estudios clínicos en los que se combinen ambas terapias. Aunque dosis bajas de L-NAME obtuvieron resultados positivos en cuanto a la mejoría de los parámetros hemodinámicos e incluso en el intercambio de gases en pacientes con shock de diversas etiologías, no se ha utilizado combinado con iNO. Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que la combinación puede resultar muy útil en aquellas situaciones clínicas caracterizadas por *shunt* elevado e hipoxemia. Dada la enorme repercusión hemodinámica obtenida con la dosis utilizada en el presente estudio, inapropiada en el entorno clínico, las dosis deberían reducirse, aunque habría que valorar si dosis menores, con menor impacto hemodinámico, son igual de eficaces en la mejoría del intercambio de gases.

La **inhalación de NO** después de la **indometacina** atenuó la vasoconstricción pulmonar, sin repercusión en los parámetros sistémicos, confirmando una vez más la selectividad pulmonar de su acción vasodilatadora. La inhibición de la COX fue efectiva y su efecto se prolongó durante la inhalación de NO ya que persistió el aumento de la PAM durante esta fase del estudio. La variabilidad interindividual continuó siendo una constante en este grupo.

A pesar del efecto vasodilatador pulmonar del iNO, el descenso de la PAPM no llegó a alcanzar los valores previos a la administración de indometacina. En cambio las RVP totales no se diferenciaron del valor basal previo. El análisis de la RVP individuales reflejaron solo un descenso significativo de las RVP izquierdas con el iNO, aunque no lo suficiente para igualar los valores de las RVP totales.

La combinación del inhibidor de las PG y NO inhalado causó un aumento significativo de flujo hacia el pulmón ventilado tanto en valor absoluto como en relación con el GCC. Este efecto no se vio potenciado por la administración previa de indometacina, ya que no se encontraron diferencias significativas al compararlo con el obtenido con iNO solo.

La indometacina tampoco potenció la optimización de la oxigenación obtenida con el iNO. La asociación de indometacina y NO inhalado causó un aumento significativo de la PaO<sub>2</sub> y de la PvO<sub>2</sub>. Este aumento fue superior al obtenido con indometacina sola, pero no se encontraron diferencias en ninguno de los parámetros al compararlo con el efecto del iNO solo.

El efecto vasoconstrictor de la indometacina afectó por igual a ambos pulmones de forma que no se produjo redistribución de flujo, la posterior inhalación de iNO, al vasodilatar el territorio ventilado aumentó la perfusión de éste y mejoró la oxigenación. Teniendo en cuenta que el pulmón no ventilado permanecía vasoconstruido por el efecto de la indometacina, cabría esperarse un mayor efecto vasodilatador del iNO con el consiguiente aumento de flujo hacia el pulmón ventilado. Esta falta de potenciación puede deberse a que el inhibidor de la COX y el iNO actúan en lugares distintos del árbol vascular. De esta forma el efecto vasoconstrictor de la indometacina en zonas vasculares no accesibles al iNO en el pulmón ventilado podría limitar la redistribución de flujo procedente del pulmón no ventilado. En algunos estudios realizados en pulmones aislados<sup>75</sup>, la administración de indometacina no modificó el efecto vasodilatador del iNO.

En el presente estudio la administración de indometacina no potenció la respuesta al iNO sobre la vasculatura pulmonar, la distribución de flujo ni el intercambio de gases, pero no impidió el efecto del mismo como se ha descrito en otros modelos. En un estudio realizado en cerdos recién nacidos a los que se les sometía a atelectasias por inyección intratraqueal de esferas de acero, la administración de iNO mejoró la oxigenación y disminuyó el *shunt* y las RVP<sup>364</sup>. La administración previa de indometacina no alteró la VPH pero impidió la mejoría del intercambio de gases secundaria a la inhalación de NO. En este mismo trabajo, tampoco la administración de almitrina o



doxapram aumentaron la respuesta al iNO. En otro estudio en el que se investigaba el lugar de acción del iNO en un modelo de embolismo pulmonar por microesferas de cristal de 100  $\mu\text{m}$  en perros, el bloqueo de la COX mediante la administración de AAS impidió la vasodilatación inducida por el iNO <sup>365</sup>. En este modelo ni el iNO, la AAS ni la combinación de ambos tuvieron efecto significativo sobre la alteración del intercambio de gases.

No se puede descartar que la ausencia de potenciación esté relacionada con la interacción entre el NO y las prostaglandinas. Se ha demostrado que ambas vías están relacionadas en la regulación de diversos procesos y entre ellos la vasorreactividad <sup>366</sup>. El NO en bajas concentraciones <sup>48</sup> parece estimular la COX y en concentraciones elevadas puede inhibirla <sup>367</sup>. También se ha demostrado que la formación de peroxinitrito inhibe de forma irreversible la prostaciclina sintasa. Desconocemos si la posible interacción del iNO sobre la actividad de la COX previamente inhibida por la indometacina pudo haber contribuido a la falta de potenciación observada en nuestro estudio.

A pesar de estos resultados, esta combinación puede tener otras indicaciones. Los inhibidores de la COX se han utilizado para contrarrestar los efectos de la retirada brusca del iNO en pacientes con endotoxemia. La inhalación de NO durante la endotoxemia puede aumentar la expresión de la COX-1 y las concentraciones de PG F<sub>2 $\alpha$</sub>  y de tromboxano. Además, la endotoxemia aumenta la expresión de la COX-2 y la concentración de prostanoídes circulantes. La combinación de diclofenaco con iNO evitó estas respuestas <sup>368</sup>.

De los resultados obtenidos en el presente trabajo, se infiere que la administración de indometacina no aporta ningún beneficio añadido a los efectos obtenidos con el iNO solo durante la ventilación unipulmonar y por tanto su utilización clínica con este fin no es aconsejable.

Finalmente, si **comparamos** los efectos de la **indometacina** y de la **L-NAME** en este modelo de ventilación unipulmonar en ovejas anestesiadas observamos que la actividad de la COX y la participación de sus productos en la modulación de la VPH fue

significativamente menos relevante que la actividad de la NOS y del NO. Esta discrepancia puede ser debida a varios factores.

La dosis utilizada se eligió en función de la experiencia previa del grupo y de la referida en la bibliografía y fue suficiente para inhibir los enzimas respectivos ya que en ambos casos hubo respuesta pulmonar y sistémica. Sin embargo, dado que no se realizó curva dosis-respuesta en ninguno de los dos casos, no se puede descartar que la diferencia observada en la modulación de la VPH sea debida a que las dosis no fueron equipotentes. Tampoco podemos deducir la concentración plasmática de estos agentes de forma precisa por la falta de estudios farmacocinéticos de los mismos en la oveja.

Otros autores han comparado la participación de ambas vías en la VPH en distintos modelos animales y se ha demostrado que el predominio vasodilatador de los productos de las enzimas NOS y COX varía según la especie. En un estudio realizado en pulmones perfundidos de perro y rata en el que se modificaba la presión y el gradiente de perfusión pulmonar y se administraba L-NAME e indometacina, se observó que la vasodilatación basal pulmonar en la rata era mediada por el NO, mientras que en pulmón de perro era un producto de la ciclooxigenasa<sup>351</sup>. Estos resultados concuerdan con los de otro estudio realizado en pulmón aislado de rata en el que se observó que el efecto presor de la hipoxia era potenciado significativamente al inhibir la NOS con L-NAME pero no se afectaba al inhibir la COX con indometacina<sup>369</sup>. Liu también encontró diferencias en el comportamiento de la presión pulmonar al inhibir la COX y la NOS en diferentes especies rata, hurón y conejo<sup>370</sup>.

En animales intactos también hay diferencias en la respuesta a la inhibición de los dos enzimas. En el estudio de Sprague y cols<sup>196</sup> en conejos con hipoxia unilateral tanto la administración de indometacina como de L-NAME consiguió redistribuir el flujo hacia el pulmón ventilado y una mejoría en la oxigenación, pero los efectos máximos fueron superiores con la L-NAME. No hemos encontrado en la literatura estudios comparativos realizados *in vivo* en ovejas, aunque de los resultados obtenidos en el presente estudio, salvando la posible influencia de la dosis, se deduce que el papel de la vía del NO es más relevante que el de las PG en este modelo animal.

La síntesis de NO y de PG en la circulación pulmonar y la respuesta a los mismos en las distintas especies varía además, con estadio evolutivo del animal. Se ha descrito tanto el aumento<sup>371</sup> como la disminución de la actividad del NO<sup>372</sup> con la edad en distintas especies animales. Así mismo, se ha demostrado una disminución del efecto modulador vasodilatador de las PG sobre la VPH con la edad en ovejas<sup>373</sup> debido probablemente a un mayor aumento de la síntesis de PGI<sub>2</sub> en recién nacidos<sup>374</sup>

La administración de ambos inhibidores en el mismo animal aumenta el efecto presor. El efecto de la inhibición de la COX y de la NOS fue comparado administrando inhibidores en orden alternativo en diferentes especies y se observó que en ambos casos la inhibición de la segunda enzima producía un mayor efecto que el bloqueo de la primera<sup>370</sup>. Esto sugiere que los dos sistemas vasodilatadores interactúan, tal vez a través de los segundos mensajeros. De hecho se sabe que los enzimas responsables del metabolismo del cAMP y del cGMP están relacionados. La PDE III que metaboliza de forma específica el cAMP es cGMP dependiente.

Además de la especie, la diferencia en la modulación de la VPH de los inhibidores es debida a la diferente localización de acción en el árbol pulmonar. En un estudio realizado en pulmones aislados de rata a los que se sometía a lesión pulmonar por hiperoxia se vio que la vasoconstricción hipóxica en arteriolas sometidas a hiperoxia se atenuaba. La administración de L-NAME e indometacina conseguían restablecer la reactividad de los vasos, aunque sus efectos diferían en intensidad y localización<sup>375</sup>. La L-NAME producía un marcado aumento de la PAP y vasoconstricción tanto en las arterias intraacinares como extraacinares, mientras que el efecto de la indometacina era menos intenso y confinado a las regiones intraacinares. La diferencia en el predominio de acción también se reflejó en pulmones aislados de corderos recién nacidos a los que se les administró indometacina y L-NAME. Mientras que la indometacina aumentó la VPH en grandes y pequeñas arterias y en venas, la L-NAME causó un aumento más discreto de la VPH pero solo en las arterias y venas de pequeño calibre<sup>376</sup>.

Otro estudio realizado en perros con lesión pulmonar por ácido oleico comparó los efectos de la indometacina y la L-NA sobre el *shunt* y el intercambio de gases. Ambos inhibidores por separado potenciaron la VPH en el perro intacto, la combinación de

ambos aumentó más la respuesta. En presencia de lesión pulmonar por ácido oleico, sólo el pretratamiento con inhibidores de la COX tuvo efecto protector del deterioro del intercambio de gases <sup>377</sup>. Estos datos sugieren un comportamiento diferente de los vasodilatadores que se oponen a la VPH según esté alterada o no esta respuesta.

Se ha sugerido que la L-NAME previene la lesión pulmonar secundaria al colapso-reexpansión del pulmón en preparaciones de pulmones de rata aislados <sup>378</sup> limitando así el aumento de la PAP en la reinsuflación y el acúmulo de albúmina extravascular. Sin embargo, el efecto preventivo solo se demostró si se administraba la L-NAME antes de colapsar el pulmón y no después como en el presente estudio. Por tanto, se descartó que este efecto de la L-NAME influyera en las diferencias observadas entre ambos inhibidores en este modelo.

### **Limitaciones del estudio**

El hallazgo de una característica anatómica en la arteria pulmonar derecha de las ovejas consistente en la bifurcación en dos o tres ramas antes de emerger del pericardio, impidió la colocación de la sonda de medición de flujo en dicha arteria. Por tanto, no se han evaluado las diferencias de la ventilación del pulmón derecho o izquierdo en la repercusión sobre los parámetros estudiados, ni los efectos de los agentes utilizados sobre los mismos.

La principal limitación de las sondas de flujo electromagnéticas es que requieren un ajuste perfecto al diámetro de la arteria. Además el volumen y el peso de la sonda pueden modificar el trayecto de la arteria. En las condiciones del presente estudio, dadas las variaciones de flujo y presión arterial pulmonar izquierda es probable que la sonda no se adaptara correctamente en todas los tiempos estudiados, ya sea por constricción de la arteria o por falta de contacto entre la arteria y el sensor.

Por otro lado al utilizar tubos de doble luz izquierdos no fue necesaria la modificación de los tubos para evitar el colapso del bronquio superior derecho, que emerge de la tráquea, por el neumotaponamiento traqueal del tubo.

En la práctica clínica la colocación habitual de los pacientes sometidos a toracotomía bajo ventilación unipulmonar es en decúbito lateral o supino dependiendo de la técnica quirúrgica. En este trabajo todos los animales permanecieron en decúbito supino durante el estudio debido a las dificultades de mantener una ventilación adecuada del pulmón izquierdo en decúbito lateral. En humanos, se ha demostrado que la distribución de flujo según la gravedad favorece la perfusión del pulmón declive y ventilado contribuyendo a la disminución del *shunt*. Sin embargo, estudios recientes en animales han cuestionado el modelo clásico de distribución gravitatorio de la perfusión pulmonar. En perros en decúbito lateral izquierdo, la distribución del flujo no dependía de la gravedad sino de la estructura vascular pulmonar <sup>255</sup>.

El sistema de administración de NO utilizado en este estudio (flujo continuo en la porción proximal de la rama inspiratoria) proporciona una concentración aceptablemente estable de NO inspirado en ventilación controlada, aunque posteriormente se demostró que la concentración real fluctúa debido al efecto *bolus*. El monitor de medición de óxidos de NO utilizado, basado en el principio de quimioluminiscencia, aunque es rápido no permitía conocer el NO inspirado y espirado como los actuales de segunda generación. Por tanto, no se puede descartar que las variaciones de concentración desvirtuaran el estudio de la curva dosis respuesta, especialmente en el caso de las dosis más bajas.

Esta limitación del monitor incluye también a la concentración de NO<sub>2</sub> que se formaba en la vía aérea al entrar éste en contacto con el O<sub>2</sub>. Durante la inhalación de NO no se registraron valores superiores a 4 ppm con ninguna de las concentraciones de NO administradas, a pesar de la elevada FiO<sub>2</sub> utilizada durante la ventilación unipulmonar.

No se midió la concentración de metahemoglobinemia dado que los periodos de administración de NO previstos en el protocolo experimental fueron cortos (10 min). En un estudio previo en un modelo de shock séptico por endotoxina en ovejas a las que se les administraba la misma concentración de iNO no encontramos aumento de los niveles de metaHb durante la inhalación de NO (datos no publicados).

Por tanto, la eficacia del iNO durante la ventilación unipulmonar es significativa aunque moderada. La combinación con agentes que potencian la VPH como la L-NAME es efectiva pero presenta importantes repercusiones hemodinámicas y la combinación con indometacina aunque mejor tolerada, es poco eficaz. Sin embargo creemos que el NO inhalado es una aproximación atractiva en el manejo de la hipoxemia durante la ventilación a un solo pulmón y de hecho se sigue buscando la combinación que mejor se adecue a este objetivo. En este sentido, se han publicado trabajos en los que otros potenciadores de la VPH como la almitrina combinada con iNO consiguen mejorar el intercambio de gases<sup>2</sup>.

### Estado actual del tema

Al inicio de la década de los noventa la utilización del NO inhalado fue una terapia muy prometedora para el tratamiento de la hipoxemia severa y/o la hipertensión pulmonar, siendo ensayado en muy diversas patologías cuyo denominador común era dicha sintomatología. Se publicaron los efectos del iNO, tanto sus efectos beneficiosos como sus posibles efectos secundarios, en casos clínicos aislados, en pequeños estudios no controlados y en ensayos clínicos multicéntricos. Al final de los noventa, los resultados de varios ensayos clínicos multicéntricos demostraron que la terapia con iNO, si bien mejoraba la hipoxemia, no aumentaba la supervivencia en pacientes con SDRA.

Paralelamente, en el campo de la pediatría se publicó en 1997 el estudio NINOS que demostraba que el iNO disminuía las necesidades de ECMO en recién nacidos con insuficiencia respiratoria e hizo que en 1998 la *Food and Drug Administration* americana aprobara dicha terapia y que se incluyera en el arsenal terapéutico de todas las UCIs pediátricas. Recientemente se han publicado unas guías, a partir de una Conferencia de Consenso Europea, para la terapia con iNO en neonatos y niños<sup>379</sup>.

En adultos, a pesar de no estar aprobado su uso, se utiliza en las unidades de pacientes críticos para tratar la hipoxemia y en el perioperatorio de pacientes con hipertensión pulmonar, de manera no regulada. Por ello, la *European Society of Intensive Care Medicine* (ESICM) y la *European Association of Cardiothoracic Anaesthesiologist* (EACTA),

reunieron a un grupo de expertos en una Conferencia de Consenso para establecer, al igual que en pediatría, unas guías clínicas para el uso del iNO en adultos <sup>380</sup>.

En el campo de la **cirugía torácica y la ventilación unipulmonar**, objeto del tema de esta tesis, esta guía clínica de la Conferencia de Consenso establece que:

- No hay suficiente evidencia para recomendar el uso rutinario del iNO para prevenir o revertir la hipoxemia durante la ventilación unipulmonar.
- Algunos pacientes que desarrollan hipoxemia severa durante la ventilación unipulmonar, refractaria al tratamiento convencional, se pueden beneficiar del uso de iNO.

Por otra parte, existen estudios que, al igual que en esta tesis, están investigando la utilización del iNO combinado con otras terapias que potencien su efecto farmacológico. Además, hay también estudios dirigidos a demostrar el posible papel profiláctico del iNO en diferentes situaciones clínicas.

Por tanto, la terapia con óxido nítrico por vía inhalatoria, a pesar de llevar ya más de una década desde su primera aplicación clínica, en la actualidad sigue siendo objeto de constante investigación.





## ***7 CONCLUSIONES***



De los resultados del presente estudio podemos concluir que en este modelo experimental de ventilación unipulmonar en ovejas adultas anestesiadas:

1. La instauración de la ventilación unipulmonar causó una hipertensión pulmonar, un aumento del *shunt* y una importante alteración del intercambio de gases. Simultáneamente se observó una redistribución de flujo sanguíneo hacia el pulmón ventilado.
2. En este modelo no se observó una respuesta dosis dependiente con la administración de diferentes dosis de iNO. Sin embargo, la dosis de 40 ppm presentó una menor variabilidad interindividual.
3. El óxido nítrico inhalado causó una vasodilatación pulmonar selectiva, una redistribución de flujo hacia el pulmón ventilado y una mejoría significativa del intercambio de gases.
4. La administración de L-NAME dio lugar a una intensa vasoconstricción arterial sistémica y pulmonar, aunque más marcada en el territorio pulmonar, junto con una disminución importante del gasto cardíaco. Estos efectos se acompañan de una redistribución del flujo pulmonar y de una disminución de la mezcla venosa, sin cambios significativos en el intercambio de gases.
5. La administración de indometacina produjo también una vasoconstricción sistémica y pulmonar, pero de menor intensidad que la observada con L-NAME, sin repercusión en la distribución de flujo pulmonar ni en el intercambio de gases.
6. La inhalación de NO después de la administración de L-NAME causó una vasodilatación pulmonar selectiva y se observó un intenso efecto sinérgico en la redistribución de flujo hacia el pulmón ventilado, que se reflejó en una gran mejoría del intercambio de gases.

7. La inhalación de NO después de la administración de indometacina no tuvo ningún efecto aditivo en cuanto a la distribución del flujo ni en la mejoría del intercambio de gases.

## ***8 BIBLIOGRAFÍA***



- 1 Rich GF, Lowson SM, Johns RA, Daugherty MO, Uncles DR. Inhaled nitric oxide selectively decreases pulmonary vascular resistance without impairing oxygenation during one-lung ventilation in patients undergoing cardiac surgery. *Anesthesiology* 1994; 80:57-62.
- 2 Moutafis M, Liu N, Dalibon N, Kuhlman G, Ducros L, Castelain MH et al. The effects of inhaled nitric oxide and its combination with intravenous almitrine on Pao<sub>2</sub> during one-lung ventilation in patients undergoing thoracoscopic procedures. *Anesth Analg* 1997; 85:1130-1135.
- 3 West JB, Dollery CT, Naimark A. Distribution of blood flow in isolated lung; relation to vascular and alveolar pressures. *J Appl Physiol* 1964; 19:713-724.
- 4 West JB, Dollery CT, Heard BE. Increased vascular resistance in the lower zone of the lung caused by perivascular oedema. *Lancet* 1964; 189:181-183.
- 5 Benumof JL. Special respiratory physiology of the lateral decubitus position, the open chest and one lung ventilation. In: W.B.Saunders Company, editor. *Anesthesia for Thoracic Surgery*. 1995: 104-124.
- 6 Arborelius M, Jr., Lundin G, Svanberg L, Defares JG. Influence of unilateral hypoxia on blood flow through the lungs in man in lateral position. *J Appl Physiol* 1960; 15:595-597.
- 7 Mann CM, Domino KB, Walther SM, Glenny RW, Polissar NL, Hlastala MP. Redistribution of pulmonary blood flow during unilateral hypoxia in prone and supine dogs. *J Appl Physiol* 1998; 84:2010-2019.
- 8 Bardoczky GI, Szegedi LL, d'Hollander AA, Moures JM, de Francquen P, Yernault JC. Two-lung and one-lung ventilation in patients with chronic obstructive pulmonary disease: the effects of position and FiO<sub>2</sub>. *Anesth Analg* 2000; 90:35-41.
- 9 Fishman AP. Hypoxia on the pulmonary circulation. How and where it acts. *Circ Res* 1976; 38:221-231.

- 10 Hillier SC, Graham JA, Hanger CC, Godbey PS, Glenny RW, Wagner WW, Jr. Hypoxic vasoconstriction in pulmonary arterioles and venules. *J Appl Physiol* 1997; 82:1084-1090.
- 11 Cornfield DN, Stevens T, McMurtry IF, Abman SH, Rodman DM. Acute hypoxia increases cytosolic calcium in fetal pulmonary artery smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1993; 265:L53-L56.
- 12 Gelband CH, Gelband H. Ca<sup>2+</sup> release from intracellular stores is an initial step in hypoxic pulmonary vasoconstriction of rat pulmonary artery resistance vessels. *Circulation* 1997; 96:3647-3654.
- 13 Marshall BE, Marshall C, Magno M, Lilagan P, Pietra GG. Influence of bronchial arterial PO<sub>2</sub> on pulmonary vascular resistance. *J Appl Physiol* 1991; 70:405-415.
- 14 Domino KB, Chen L, Alexander CM, Williams JJ, Marshall C, Marshall BE. Time course and responses of sustained hypoxic pulmonary vasoconstriction in the dog. *Anesthesiology* 1984; 60:562-566.
- 15 Marshall C, Marshall B. Site and sensitivity for stimulation of hypoxic pulmonary vasoconstriction. *J Appl Physiol* 1983; 55:711-716.
- 16 Post JM, Hume JR, Archer SL, Weir EK. Direct role for potassium channel inhibition in hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Am J Physiol* 1992; 262:C882-C890.
- 17 Weir EK, Archer SL. The mechanism of acute hypoxic pulmonary vasoconstriction: the tale of two channels. *FASEB J* 1995; 9:183-189.
- 18 Barman SA. Effect of protein kinase C inhibition on hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 280:L888-L895.
- 19 Post JM, Gelband CH, Hume JR. [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> inhibition of K<sup>+</sup> channels in canine pulmonary artery. Novel mechanism for hypoxia-induced membrane depolarization. *Circ Res* 1995; 77:131-139.
- 20 Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327:524-526.



- 21 Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84:9265-9269.
- 22 Jones RD, Morice AH. The effect of the nitric oxide synthase inhibitor N-gamma-nitro-L-arginine methyl ester on hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Eur J Pharmacol* 2000; 402:111-117.
- 23 Hughes JD, Rubin LJ. Relation between mixed venous oxygen tension and pulmonary vascular tone during normoxic, hyperoxic and hypoxic ventilation in dogs. *Am J Cardiol* 1984; 54:1118-1123.
- 24 Fehr DM, Nyhan DP, Chen BB, Murray PA. Pulmonary vasoregulation by cyclooxygenase metabolites and angiotensin II after hypoperfusion in conscious, pentobarbital-anesthetized, and halothane-anesthetized dogs. *Anesthesiology* 1991; 75:257-267.
- 25 Nyhan DP, Goll HM, Chen BB, Fehr DM, Clougherty PW, Murray PA. Pentobarbital anesthesia alters pulmonary vascular response to neural antagonists. *Am J Physiol* 1989; 256:H1384-H1392.
- 26 Nyhan DP, Chen BB, Fehr DM, Rock P, Murray PA. Anesthesia alters pulmonary vasoregulation by angiotensin II and captopril. *J Appl Physiol* 1992; 72:636-642.
- 27 Rogers SN, Benumof JL. Halothane and isoflurane do not decrease PaO<sub>2</sub> during one-lung ventilation in intravenously anesthetized patients. *Anesth Analg* 1985; 64:946-954.
- 28 Eisenkraft JB. Effects of anaesthetics on the pulmonary circulation. *Br J Anaesth* 1990; 65:63-78.
- 29 Sykes MK, Davies DM, Chakrabarti MK, Loh L. The effects of halothane, trichloroethylene and ether on the hypoxic pressor response and pulmonary vascular resistance in the isolated, perfused cat lung. *Br J Anaesth* 1973; 45:655-663.
- 30 Marshall C, Lindgren L, Marshall BE. Effects of halothane, enflurane, and isoflurane on hypoxic pulmonary vasoconstriction in rat lungs in vitro. *Anesthesiology* 1984; 60:304-308.

- 31 Bjertnaes L, Mundal R, Hauge A, Nicolaysen A. Vascular resistance in atelectatic lungs: effects of inhalation anesthetics. *Acta Anaesthesiol Scand* 1980; 24:109-118.
- 32 Naeije R, Lambert M, Lejeune P, Leeman M, Deloof T. Cardiovascular and blood gas responses to inhaled anaesthetics in normoxic and hypoxic dogs. *Acta Anaesthesiol Scand* 1986; 30:538-544.
- 33 Schwarzkopf K, Schreiber T, Preussler NP, Gaser E, Huter L, Bauer R et al. Lung perfusion, shunt fraction, and oxygenation during one-lung ventilation in pigs: The effects of desflurane, isoflurane, and propofol. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2003; 17:73-75.
- 34 Rees DI, Gaines GY, III. One-lung anesthesia: a comparison of pulmonary gas exchange during anesthesia with ketamine or enflurane. *Anesth Analg* 1984; 63:521-525.
- 35 Benumof JL. Isoflurane anesthesia and arterial oxygenation during one-lung ventilation. *Anesthesiology* 1986; 64:419-422.
- 36 Domino KB, Borowec L, Alexander CM, Williams JJ, Chen L, Marshall C et al. Influence of isoflurane on hypoxic pulmonary vasoconstriction in dogs. *Anesthesiology* 1986; 64:423-429.
- 37 Wetzel RC, Martin LD. Pentobarbital attenuates pulmonary vasoconstriction in isolated sheep lungs. *Am J Physiol* 1989; 257:H898-H903.
- 38 Benumof JL, Wahrenbrock EA. Local effects of anesthetics on regional hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Anesthesiology* 1975; 43:525-532.
- 39 Bjertnaes LJ. Hypoxia-induced vasoconstriction in isolated perfused lungs exposed to injectable or inhalation anesthetics. *Acta Anaesthesiol Scand* 1977; 21:133-147.
- 40 Van Keer L, Van Aken H, Vandermeersch E, Vermaut G, Lerut T. Propofol does not inhibit hypoxic pulmonary vasoconstriction in humans. *J Clin Anesth* 1989; 1:284-288.
- 41 Nakayama M, Murray PA. Ketamine preserves and propofol potentiates hypoxic pulmonary vasoconstriction compared with the conscious state in chronically instrumented dogs. *Anesthesiology* 1999; 91:760-771.

- 42 Von D, V, Welte M, Zaune U, Martin E, Walter M, Ruckert J et al. Thoracic epidural anesthesia combined with general anesthesia: the preferred anesthetic technique for thoracic surgery. *Anesth Analg* 2001; 92:848-854.
- 43 Garutti I, Cruz P, Olmedilla L, Barrio JM, Cruz A, Fernandez C et al. Effects of thoracic epidural meperidine on arterial oxygenation during one-lung ventilation in thoracic surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2003; 17:302-305.
- 44 Hurford WE, Alfille PH. A quality improvement study of the placement and complications of double-lumen endobronchial tubes. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1993; 7:517-520.
- 45 Barker SJ, Clarke C, Trivedi N, Hyatt J, Fynes M, Roessler P. Anesthesia for thoroscopic laser ablation of bullous emphysema. *Anesthesiology* 1993; 78:44-50.
- 46 Scherer RW, Vigfusson G, Hultsch E, Van Aken H, Lawin P. Prostaglandin F2 alpha improves oxygen tension and reduces venous admixture during one-lung ventilation in anesthetized paralyzed dogs. *Anesthesiology* 1985; 62:23-28.
- 47 Chen TL, Lee YT, Wang MJ, Lee JM, Lee YC, Chu SH. Endothelin-1 concentrations and optimisation of arterial oxygenation and venous admixture by selective pulmonary artery infusion of prostaglandin E1 during thoracotomy. *Anaesthesia* 1996; 51:422-426.
- 48 Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 1998; 25:434-456.
- 49 Koppenol WH. The basic chemistry of nitrogen monoxide and peroxynitrite. *Free Radic Biol Med* 1998; 25:385-391.
- 50 Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329:2002-2012.
- 51 Zweier JL, Wang P, Samouilov A, Kuppusamy P. Enzyme-independent formation of nitric oxide in biological tissues. *Nat Med* 1995; 1:804-809.

- 52 Michel T, Feron O. Nitric oxide synthases: which, where, how, and why? *J Clin Invest* 1997; 100:2146-2152.
- 53 Christopherson KS, Brecht DS. Nitric oxide in excitable tissues: physiological roles and disease. *J Clin Invest* 1997; 100:2424-2429.
- 54 Goldstein IM, Ostwald P, Roth S. Nitric oxide: a review of its role in retinal function and disease. *Vision Res* 1996; 36:2979-2994.
- 55 Halbower AC, Tuder RM, Franklin WA, Pollock JS, Forstermann U, Abman SH. Maturation-related changes in endothelial nitric oxide synthase immunolocalization in developing ovine lung. *Am J Physiol* 1994; 267:L585-L591.
- 56 Giaid A, Saleh D. Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1995; 333:214-221.
- 57 Vallance P, Moncada S. Role of endogenous nitric oxide in septic shock. *New Horiz* 1993; 1:77-86.
- 58 Liaudet L, Soriano FG, Szabo C. Biology of nitric oxide signaling. *Crit Care Med* 2000; 28:N37-N52.
- 59 Nathan C, Xie QW. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. *Cell* 1994; 78:915-918.
- 60 Murad F. Regulation of cytosolic guanylyl cyclase by nitric oxide: the NO-cyclic GMP signal transduction system. *Adv Pharmacol* 1994; 26:19-33.:19-33.
- 61 Murthy KS. Activation of phosphodiesterase 5 and inhibition of guanylate cyclase by cGMP-dependent protein kinase in smooth muscle. *Biochem J* 2001; 360:199-208.
- 62 Moncada S, Rees DD, Schulz R, Palmer RM. Development and mechanism of a specific supersensitivity to nitrovasodilators after inhibition of vascular nitric oxide synthesis in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88:2166-2170.

- 63 Liu X, Miller MJ, Joshi MS, Thomas DD, Lancaster JR, Jr. Accelerated reaction of nitric oxide with O<sub>2</sub> within the hydrophobic interior of biological membranes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95:2175-2179.
- 64 Hecht SS. Approaches to cancer prevention based on an understanding of N-nitrosamine carcinogenesis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997; 216:181-191.
- 65 Broillet MC. S-nitrosylation of proteins. *Cell Mol Life Sci* 1999; 55:1036-1042.
- 66 Stamler JS, Jaraki O, Osborne J, Simon DI, Keaney J, Vita J et al. Nitric oxide circulates in mammalian plasma primarily as an S-nitroso adduct of serum albumin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89:7674-7677.
- 67 Stamler JS, Jia L, Eu JP, McMahon TJ, Demchenko IT, Bonaventura J et al. Blood flow regulation by S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient. *Science* 1997; 276:2034-2037.
- 68 Moncada S, Higgs EA. Endogenous nitric oxide: physiology, pathology and clinical relevance. *Eur J Clin Invest* 1991; 21:361-374.
- 69 Rimar S, Gillis CN. Selective pulmonary vasodilation by inhaled nitric oxide is due to hemoglobin inactivation. *Circulation* 1993; 88:2884-2887.
- 70 Pison U, Lopez FA, Heidelmeyer CF, Rossaint R, Falke KJ. Inhaled nitric oxide reverses hypoxic pulmonary vasoconstriction without impairing gas exchange. *J Appl Physiol* 1993; 74:1287-1292.
- 71 Frostell C, Fratacci MD, Wain JC, Jones R, Zapol WM. Inhaled nitric oxide. A selective pulmonary vasodilator reversing hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Circulation* 1991; 83:2038-2047.
- 72 Pepke-Zaba J, Higenbottam TW, Dinh-Xuan AT, Stone D, Wallwork J. Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilatation in pulmonary hypertension. *Lancet* 1991; 338:1173-1174.
- 73 Rossaint R, Pison U, Gerlach H, Falke KJ. Inhaled nitric oxide: its effects on pulmonary circulation and airway smooth muscle cells. *Eur Heart J* 1993; 14 Suppl I:133-140.

- 74 Bigatello LM, Hurford WE, Kacmarek RM, Roberts JD, Jr., Zapol WM. Prolonged inhalation of low concentrations of nitric oxide in patients with severe adult respiratory distress syndrome. Effects on pulmonary hemodynamics and oxygenation. *Anesthesiology* 1994; 80:761-770.
- 75 Rimar S, Gillis CN. Site of pulmonary vasodilation by inhaled nitric oxide in the perfused lung. *J Appl Physiol* 1995; 78:1745-1749.
- 76 Roos CM, Rich GF, Uncles DR, Daugherty MO, Frank DU. Sites of vasodilation by inhaled nitric oxide vs. sodium nitroprusside in endothelin-constricted isolated rat lungs. *J Appl Physiol* 1994; 77:51-57.
- 77 Lindeborg DM, Kavanagh BP, Van Meurs K, Pearl RG. Inhaled nitric oxide does not alter the longitudinal distribution of pulmonary vascular resistance. *J Appl Physiol* 1995; 78:341-348.
- 78 Putensen C, Rasanen J, Downs JB. Effect of endogenous and inhaled nitric oxide on the ventilation- perfusion relationships in oleic-acid lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150:330-336.
- 79 Rovira I, Chen TY, Winkler M, Kawai N, Bloch KD, Zapol WM. Effects of inhaled nitric oxide on pulmonary hemodynamics and gas exchange in an ovine model of ARDS. *J Appl Physiol* 1994; 76:345-355.
- 80 Hopkins SR, Johnson EC, Richardson RS, Wagner H, De Rosa M, Wagner PD. Effects of inhaled nitric oxide on gas exchange in lungs with shunt or poorly ventilated areas. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:484-491.
- 81 Rovira I, Fita G, López A, Carrero E. Endogenous and exogenous nitric oxide in experimental septic shock. *Intensive Care Med.* 22. 1996. (Abstract)
- 82 Dupuy PM, Shore SA, Drazen JM, Frostell C, Hill WA, Zapol WM. Bronchodilator action of inhaled nitric oxide in guinea pigs. *J Clin Invest* 1992; 90:421-428.
- 83 Hogman M, Frostell CG, Hedenstrom H, Hedenstierna G. Inhalation of nitric oxide modulates adult human bronchial tone. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148:1474-1478.

- 84 Matalon S, DeMarco V, Haddad IY, Myles C, Skimming JW, Schurch S et al. Inhaled nitric oxide injures the pulmonary surfactant system of lambs in vivo. *Am J Physiol* 1996; 270:L273-L280.
- 85 Haddad IY, Crow JP, Hu P, Ye Y, Beckman J, Matalon S. Concurrent generation of nitric oxide and superoxide damages surfactant protein A. *Am J Physiol* 1994; 267:L242-L249.
- 86 Muller B, Schafer H, Barth P, von Wichert P. Lung surfactant components in bronchoalveolar lavage after inhalation of NO<sub>2</sub> as markers of altered surfactant metabolism. *Lung* 1994; 172:61-72.
- 87 Hallman M, Bry K. Nitric oxide and lung surfactant. *Semin Perinatol* 1996; 20:173-185.
- 88 Kinsella JP, Parker TA, Galan H, Sheridan BC, Halbower AC, Abman SH. Effects of inhaled nitric oxide on pulmonary edema and lung neutrophil accumulation in severe experimental hyaline membrane disease. *Pediatr Res* 1997; 41:457-463.
- 89 Guidot DM, Hybertson BM, Kitlowski RP, Repine JE. Inhaled NO prevents IL-1-induced neutrophil accumulation and associated acute edema in isolated rat lungs. *Am J Physiol* 1996; 271:L225-L229.
- 90 Kanwar S, Kubes P. Nitric oxide is an antiadhesive molecule for leukocytes. *New Horiz* 1995; 3:93-104.
- 91 Fortenberry JD, Owens ML, Brown MR, Atkinson D, Brown LA. Exogenous nitric oxide enhances neutrophil cell death and DNA fragmentation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 18:421-428.
- 92 Bloomfield GL, Sweeney LB, Fisher BJ, Blocher CR, Sholley MM, Sugerman HJ et al. Delayed administration of inhaled nitric oxide preserves alveolar-capillary membrane integrity in porcine gram-negative sepsis. *Arch Surg* 1997; 132:65-75.
- 93 Bouchier-Hayes D, Abdih H, Kelly CJ, Barry M, Redmond HP, Burke P et al. Nitric oxide attenuates interleukin 2-induced lung injury. *Br J Surg* 1997; 84:540-542.

- 94 Friese RS, Fullerton DA, McIntyre RC, Jr., Rehring TF, Agrafojo J, Banerjee A et al. NO prevents neutrophil-mediated pulmonary vasomotor dysfunction in acute lung injury. *J Surg Res* 1996; 63:23-28.
- 95 Weinberger B, Fakhrzadeh L, Heck DE, Laskin JD, Gardner CR, Laskin DL. Inhaled nitric oxide primes lung macrophages to produce reactive oxygen and nitrogen intermediates. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:931-938.
- 96 Bjertnaes LJ, Koizumi T, Newman JH. Inhaled nitric oxide reduces lung fluid filtration after endotoxin in awake sheep. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:1416-1423.
- 97 Benzing A, Brautigam P, Geiger K, Loop T, Beyer U, Moser E. Inhaled nitric oxide reduces pulmonary transvascular albumin flux in patients with acute lung injury. *Anesthesiology* 1995; 83:1153-1161.
- 98 Sisson JH. Ethanol stimulates apparent nitric oxide-dependent ciliary beat frequency in bovine airway epithelial cells. *Am J Physiol* 1995; 268:L596-L600.
- 99 Adrie C, Bloch KD, Moreno PR, Hurford WE, Guerrero JL, Holt R et al. Inhaled nitric oxide increases coronary artery patency after thrombolysis. *Circulation* 1996; 94:1919-1926.
- 100 Fox-Robichaud A, Payne D, Hasan SU, Ostrovsky L, Fairhead T, Reinhardt P et al. Inhaled NO as a viable antiadhesive therapy for ischemia/reperfusion injury of distal microvascular beds. *J Clin Invest* 1998; 101:2497-2505.
- 101 Neviere R, Mordon S, Marechal X, Buys B, Guery B, Mathieu D et al. Inhaled nitric oxide modulates leukocyte kinetics in the mesenteric venules of endotoxemic rats. *Crit Care Med* 2000; 28:1072-1076.
- 102 Quezado ZM, Natanson C, Karzai W, Danner RL, Koev CA, Fitz Y et al. Cardiopulmonary effects of inhaled nitric oxide in normal dogs and during *E. coli* pneumonia and sepsis. *J Appl Physiol* 1998; 84:107-115.
- 103 Lee JS, Adrie C, Jacob HJ, Roberts JD, Jr., Zapol WM, Bloch KD. Chronic inhalation of nitric oxide inhibits neointimal formation after balloon-induced arterial injury. *Circ Res* 1996; 78:337-342.



- 104 Wraight WM, Young JD. Renal effects of inhaled nitric oxide in humans. *Br J Anaesth* 2001; 86:267-269.
- 105 Roberts JD, Jr., Chen TY, Kawai N, Wain J, Dupuy P, Shimouchi A et al. Inhaled nitric oxide reverses pulmonary vasoconstriction in the hypoxic and acidotic newborn lamb. *Circ Res* 1993; 72:246-254.
- 106 Zayek M, Cleveland D, Morin FC, III. Treatment of persistent pulmonary hypertension in the newborn lamb by inhaled nitric oxide. *J Pediatr* 1993; 122:743-750.
- 107 Roberts JD, Jr., Lang P, Bigatello LM, Vlahakes GJ, Zapol WM. Inhaled nitric oxide in congenital heart disease. *Circulation* 1993; 87:447-453.
- 108 Kinsella JP, Neish SR, Shaffer E, Abman SH. Low-dose inhalation nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Lancet* 1992; 340:819-820.
- 109 Davidson D, Barefield ES, Kattwinkel J, Dudell G, Damask M, Straube R et al. Inhaled nitric oxide for the early treatment of persistent pulmonary hypertension of the term newborn: a randomized, double-masked, placebo-controlled, dose-response, multicenter study. The I-NO/PPHN Study Group. *Pediatrics* 1998; 101:325-334.
- 110 Lipkin PH, Davidson D, Spivak L, Straube R, Rhines J, Chang CT. Neurodevelopmental and medical outcomes of persistent pulmonary hypertension in term newborns treated with nitric oxide. *J Pediatr* 2002; 140:306-310.
- 111 Fratacci MD, Frostell CG, Chen TY, Wain JC, Jr., Robinson DR, Zapol WM. Inhaled nitric oxide. A selective pulmonary vasodilator of heparin-protamine vasoconstriction in sheep. *Anesthesiology* 1991; 75:990-999.
- 112 Shah NS, Nakayama DK, Jacob TD, Nishio I, Imai T, Billiar TR et al. Efficacy of inhaled nitric oxide in a porcine model of adult respiratory distress syndrome. *Arch Surg* 1994; 129:158-164.
- 113 Ogura H, Cioffi WG, Jr., Jordan BS, Okerberg CV, Johnson AA, Mason AD, Jr. et al. The effect of inhaled nitric oxide on smoke inhalation injury in an ovine model. *J Trauma* 1994; 37:294-301.

- 114 Dahm P, Blomquist S, Martensson L, Thorne J, Zoucas E. Circulatory and ventilatory effects of intermittent nitric oxide inhalation during porcine endotoxemia. *J Trauma* 1994; 37:769-777.
- 115 Wink DA, Cook JA, Pacelli R, Liebmann J, Krishna MC, Mitchell JB. Nitric oxide (NO) protects against cellular damage by reactive oxygen species. *Toxicol Lett* 1995; 82-83:221-226.
- 116 Rossaint R, Falke KJ, Lopez F, Slama K, Pison U, Zapol WM. Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1993; 328:399-405.
- 117 Rossaint R, Gerlach H, Schmidt-Ruhnke H, Pappert D, Lewandowski K, Steudel W et al. Efficacy of inhaled nitric oxide in patients with severe ARDS. *Chest* 1995; 107:1107-1115.
- 118 Dellinger RP, Zimmerman JL, Taylor RW, Straube RC, Hauser DL, Criner GJ et al. Effects of inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome: results of a randomized phase II trial. Inhaled Nitric Oxide in ARDS Study Group. *Crit Care Med* 1998; 26:15-23.
- 119 Dellinger RP, Zimmerman JL, Taylor RW, Straube RC. Placebo and inhaled nitric oxide mortality the same in ARDS clinical trial. *Crit Care Med* 1998; 26:619.
- 120 Lundin S, Mang H, Smithies M, Stenqvist O, Frostell C. Inhalation of nitric oxide in acute lung injury: results of a European multicentre study. The European Study Group of Inhaled Nitric Oxide. *Intensive Care Med* 1999; 25:911-919.
- 121 Roos CM, Frank DU, Xue C, Johns RA, Rich GF. Chronic inhaled nitric oxide: effects on pulmonary vascular endothelial function and pathology in rats. *J Appl Physiol* 1996; 80:252-260.
- 122 Allman KG, Young JD, Carapiet D, Stevens JE, Ostman-Smith I, Archer LN. Effects of oxygen and nitric oxide in oxygen on pulmonary arterial pressures of children with congenital cardiac defects. *Pediatr Cardiol* 1996; 17:246-250.

- 123 Goldman AP, Delius RE, Deanfield JE, de Leval MR, Sigston PE, Macrae DJ. Nitric oxide might reduce the need for extracorporeal support in children with critical postoperative pulmonary hypertension. *Ann Thorac Surg* 1996; 62:750-755.
- 124 Fullerton DA, McIntyre RC, Jr. Inhaled nitric oxide: therapeutic applications in cardiothoracic surgery. *Ann Thorac Surg* 1996; 61:1856-1864.
- 125 Bacha EA, Herve P, Murakami S, Chapelier A, Mazmanian GM, de M, V et al. Lasting beneficial effect of short-term inhaled nitric oxide on graft function after lung transplantation. Paris-Sud University Lung Transplantation Group. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 112:590-598.
- 126 Murakami S, Bacha EA, Herve P, Druit H, Chapelier AR, Darteville PG et al. Prevention of reperfusion injury by inhaled nitric oxide in lungs harvested from non-heart-beating donors. Paris-Sud University Lung Transplantation Group. *Ann Thorac Surg* 1996; 62:1632-1638.
- 127 Adatia I, Lillehei C, Arnold JH, Thompson JE, Palazzo R, Fackler JC et al. Inhaled nitric oxide in the treatment of postoperative graft dysfunction after lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 1994; 57:1311-1318.
- 128 Date H, Triantafillou AN, Trulock EP, Pohl MS, Cooper JD, Patterson GA. Inhaled nitric oxide reduces human lung allograft dysfunction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 111:913-919.
- 129 Ardehali A, Laks H, Levine M, Shpiner R, Ross D, Watson LD et al. A prospective trial of inhaled nitric oxide in clinical lung transplantation. *Transplantation* 2001; 72:112-115.
- 130 Scherrer U, Vollenweider L, Delabays A, Savcic M, Eichenberger U, Kleger GR et al. Inhaled nitric oxide for high-altitude pulmonary edema. *N Engl J Med* 1996; 334:624-629.
- 131 Anand IS, Prasad BA, Chugh SS, Rao KR, Cornfield DN, Milla CE et al. Effects of inhaled nitric oxide and oxygen in high-altitude pulmonary edema. *Circulation* 1998; 98:2441-2445.

- 132 Gries A, Bottiger BW, Dorsam J, Bauer H, Weimann J, Bode C et al. Inhaled nitric oxide inhibits platelet aggregation after pulmonary embolism in pigs. *Anesthesiology* 1997; 86:387-393.
- 133 Schenk P, Mittermayer C, Ratheiser K. Inhaled nitric oxide in a patient with severe pulmonary embolism. *Ann Emerg Med* 1999; 33:710-714.
- 134 Schenk P, Pernerstorfer T, Mittermayer C, Kranz A, Frommel M, Birsan T et al. Inhalation of nitric oxide as a life-saving therapy in a patient after pulmonary embolectomy. *Br J Anaesth* 1999; 82:444-447.
- 135 Martinez-Ruiz R, Montero-Huerta P, Hromi J, Head CA. Inhaled nitric oxide improves survival rates during hypoxia in a sickle cell (SAD) mouse model. *Anesthesiology* 2001; 94:1113-1118.
- 136 Hambraeus-Jonzon K, Chen L, Freden F, Wiklund P, Hedenstierna G. Pulmonary vasoconstriction during regional nitric oxide inhalation: evidence of a blood-borne regulator of nitric oxide synthase activity. *Anesthesiology* 2001; 95:102-112.
- 137 Wilson WC, Kapelanski DP, Benumof JL, nd JW, Johnson FW, Channick RN. Inhaled nitric oxide (40 ppm) during one-lung ventilation, in the lateral decubitus position, does not decrease pulmonary vascular resistance or improve oxygenation in normal patients. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1997; 11:172-176.
- 138 Ismail-Zade IA, Vuylsteke A, Ghosh S, Latimer RD. Inhaled nitric oxide and one-lung ventilation in the lateral decubitus position. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1997; 11:926-927.
- 139 Del Barrio E, Varela G, Sastre JA, Vara A, Jimenez M, Muriel C. [Inhalation administration of nitric oxide during selective pulmonary ventilation decreases the intrapulmonary shunt]. *Rev Esp Anesthesiol Reanim* 1999; 46:247-251.
- 140 Hambraeus-Jonzon K, Bindslev L, Frostell C, Hedenstierna G. Individual lung blood flow during unilateral hypoxia: effects of inhaled nitric oxide. *Eur Respir J* 1998; 11:565-570.

- 141 Schwarzkopf K, Klein U, Schreiber T, Preussetaler NP, Bloos F, Helfritsch H et al. Oxygenation during one-lung ventilation: the effects of inhaled nitric oxide and increasing levels of inspired fraction of oxygen. *Anesth Analg* 2001; 92:842-847.
- 142 Zapol WM, Rimar S, Gillis N, Marletta M, Bosken CH. Nitric oxide and the lung. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149:1375-1380.
- 143 Stenqvist O, Kjelltoft B, Lundin S. Evaluation of a new system for ventilatory administration of nitric oxide. *Acta Anaesthesiol Scand* 1993; 37:687-691.
- 144 Imanaka H, Hess D, Kirmse M, Bigatello LM, Kacmarek RM, Steudel W et al. Inaccuracies of nitric oxide delivery systems during adult mechanical ventilation. *Anesthesiology* 1997; 86:676-688.
- 145 Mourgeon E, Gallart L, Rao GS, Lu Q, Law-Koune JD, Puybasset L et al. Distribution of inhaled nitric oxide during sequential and continuous administration into the inspiratory limb of the ventilator. *Intensive Care Med* 1997; 23:849-858.
- 146 Westfelt UN, Lundin S, Stenqvist O. Safety aspects of delivery and monitoring of nitric oxide during mechanical ventilation. *Acta Anaesthesiol Scand* 1996; 40:302-310.
- 147 Greenbaum R, Bay J, Hargreaves MD, Kain ML, Kelman GR, Nunn JF et al. Effects of higher oxides of nitrogen on the anaesthetized dog. *Br J Anaesth* 1967; 39:393-404.
- 148 Oda H, Nogami H, Kusumoto S, Nakajima T, Kurata A. Lifetime exposure to 2.4 ppm nitric oxide in mice. *Environ Res* 1980; 22:254-263.
- 149 Oda H, Kusumoto S, Nakajima T. Nitrosyl-hemoglobin formation in the blood of animals exposed to nitric oxide. *Arch Environ Health* 1975; 30:453-456.
- 150 Evans MJ, Stephens RJ, Cabral LJ, Freeman G. Cell renewal in the lungs of rats exposed to low levels of NO<sub>2</sub>. *Arch Environ Health* 1972; 24:180-188.
- 151 Clutton-Brock J. Two cases of poisoning by contamination of nitrous oxide with higher oxides of nitrogen during anaesthesia. *Br J Anaesth* 1967; 39:388-392.

- 152 Hallman M, Bry K, Turbow R, Waffarn F, Lappalainen U. Pulmonary toxicity associated with nitric oxide in term infants with severe respiratory failure. *J Pediatr* 1998; 132:827-829.
- 153 Luhr O, Aardal S, Nathorst-Westfelt U, Berggren L, Johansson LA, Wahlin L et al. Pulmonary function in adult survivors of severe acute lung injury treated with inhaled nitric oxide. *Acta Anaesthesiol Scand* 1998; 42:391-398.
- 154 Hine CH, Meyers FH, Wright RW. Pulmonary changes in animals exposed to nitrogen dioxide, effects of acute exposures. *Toxicol Appl Pharmacol* 1970; 16:201-213.
- 155 Bauer MA, Utell MJ, Morrow PE, Speers DM, Gibb FR. Inhalation of 0.30 ppm nitrogen dioxide potentiates exercise-induced bronchospasm in asthmatics. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134:1203-1208.
- 156 Sandstrom T, Stjernberg N, Eklund A, Ledin MC, Bjermer L, Kolmodin-Hedman B et al. Inflammatory cell response in bronchoalveolar lavage fluid after nitrogen dioxide exposure of healthy subjects: a dose-response study. *Eur Respir J* 1991; 4:332-339.
- 157 Wink DA, Kasprzak KS, Maragos CM, Elespuru RK, Misra M, Dunams TM et al. DNA deaminating ability and genotoxicity of nitric oxide and its progenitors. *Science* 1991; 254:1001-1003.
- 158 Nguyen T, Brunson D, Crespi CL, Penman BW, Wishnok JS, Tannenbaum SR. DNA damage and mutation in human cells exposed to nitric oxide in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89:3030-3034.
- 159 Yoshie Y, Ohshima H. Nitric oxide synergistically enhances DNA strand breakage induced by polyhydroxyaromatic compounds, but inhibits that induced by the Fenton reaction. *Arch Biochem Biophys* 1997; 342:13-21.
- 160 Roberts JD, Jr., Chiche JD, Weimann J, Steudel W, Zapol WM, Bloch KD. Nitric oxide inhalation decreases pulmonary artery remodeling in the injured lungs of rat pups. *Circ Res* 2000; 87:140-145.
- 161 Young JD, Dyar O, Xiong L, Howell S. Methaemoglobin production in normal adults inhaling low concentrations of nitric oxide. *Intensive Care Med* 1994; 20:581-584.

- 162 Hovenga S, Koenders ME, van der Werf TS, Moshage H, Zijlstra JG. Methaemoglobinaemia after inhalation of nitric oxide for treatment of hydrochlorothiazide-induced pulmonary oedema. *Lancet* 1996; 348:1035-1036.
- 163 Atz AM, Adatia I, Wessel DL. Rebound pulmonary hypertension after inhalation of nitric oxide. *Ann Thorac Surg* 1996; 62:1759-1764.
- 164 Cueto E, Lopez-Herce J, Sanchez A, Carrillo A. Life-threatening effects of discontinuing inhaled nitric oxide in children. *Acta Paediatr* 1997; 86:1337-1339.
- 165 Lavoie A, Hall JB, Olson DM, Wylam ME. Life-threatening effects of discontinuing inhaled nitric oxide in severe respiratory failure. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153:1985-1987.
- 166 Davidson D, Barefield ES, Kattwinkel J, Dudell G, Damask M, Straube R et al. Safety of withdrawing inhaled nitric oxide therapy in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Pediatrics* 1999; 104:231-236.
- 167 Ivy DD, Kinsella JP, Ziegler JW, Abman SH. Dipyridamole attenuates rebound pulmonary hypertension after inhaled nitric oxide withdrawal in postoperative congenital heart disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998; 115:875-882.
- 168 Grover R, Murdoch I, Smithies M, Mitchell I, Bihari D. Nitric oxide during hand ventilation in patient with acute respiratory failure. *Lancet* 1992; 340:1038-1039.
- 169 Ma XL, Lopez BL, Christopher TA, Birenbaum DS, Vinten-Johansen J. Exogenous NO inhibits basal NO release from vascular endothelium in vitro and in vivo. *Am J Physiol* 1996; 271:H2045-H2051.
- 170 Sheehy AM, Burson MA, Black SM. Nitric oxide exposure inhibits endothelial NOS activity but not gene expression: a role for superoxide. *Am J Physiol* 1998; 274:L833-L841.
- 171 Frank DU, Horstman DJ, Rich GF. The effect of prolonged inhaled nitric oxide on pulmonary vasoconstriction in rats. *Anesth Analg* 1998; 87:1285-1290.

- 172 Hogman M, Frostell C, Arnberg H, Sandhagen B, Hedenstierna G. Prolonged bleeding time during nitric oxide inhalation in the rabbit. *Acta Physiol Scand* 1994; 151:125-129.
- 173 Gries A, Herr A, Motsch J, Holzmann A, Weimann J, Taut F et al. Randomized, placebo-controlled, blinded and cross-matched study on the antiplatelet effect of inhaled nitric oxide in healthy volunteers. *Thromb Haemost* 2000; 83:309-315.
- 174 Albert J, Norman M, Wallen NH, Frostell C, Hjemdahl P. Inhaled nitric oxide does not influence bleeding time or platelet function in healthy volunteers. *Eur J Clin Invest* 1999; 29:953-959.
- 175 Samama CM, Diaby M, Fellahi JL, Mdhafar A, Eyraud D, Arock M et al. Inhibition of platelet aggregation by inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1995; 83:56-65.
- 176 Gries A, Bode C, Peter K, Herr A, Bohrer H, Motsch J et al. Inhaled nitric oxide inhibits human platelet aggregation, P-selectin expression, and fibrinogen binding in vitro and in vivo. *Circulation* 1998; 97:1481-1487.
- 177 Roberts JD, Jr., Fineman JR, Morin FC, III, Shaul PW, Rimar S, Schreiber MD et al. Inhaled nitric oxide and persistent pulmonary hypertension of the newborn. The Inhaled Nitric Oxide Study Group. *N Engl J Med* 1997; 336:605-610.
- 178 George TN, Johnson KJ, Bates JN, Segar JL. The effect of inhaled nitric oxide therapy on bleeding time and platelet aggregation in neonates. *J Pediatr* 1998; 132:731-734.
- 179 Bocchi EA, Bacal F, Auler Junior JO, Carmone MJ, Bellotti G, Pileggi F. Inhaled nitric oxide leading to pulmonary edema in stable severe heart failure. *Am J Cardiol* 1994; 74:70-72.
- 180 Griffiths MJ, Messent M, Curzen NP, Evans TW. Aminoguanidine selectively decreases cyclic GMP levels produced by inducible nitric oxide synthase. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:1599-1604.
- 181 Archer SL, Tolins JP, Raj L, Weir EK. Hypoxic pulmonary vasoconstriction is enhanced by inhibition of the synthesis of an endothelium derived relaxing factor. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 164:1198-1205.



- 182 Rodman DM, Yamaguchi T, Hasunuma K, O'Brien RF, McMurtry IF. Effects of hypoxia on endothelium-dependent relaxation of rat pulmonary artery. *Am J Physiol* 1990; 258:L207-L214.
- 183 Kantrow SP, Huang YC, Whorton AR, Grayck EN, Knight JM, Millington DS et al. Hypoxia inhibits nitric oxide synthesis in isolated rabbit lung. *Am J Physiol* 1997; 272:L1167-L1173.
- 184 Igari H, Tatsumi K, Sugito K, Kasahara Y, Saito M, Tani T et al. Role of EDRF in pulmonary circulation during sustained hypoxia. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998; 31:299-305.
- 185 Moncada S. Nitric oxide gas: mediator, modulator, and pathophysiologic entity. *J Lab Clin Med* 1992; 120:187-191.
- 186 Shi W, Eidelman DH, Michel RP. Differential relaxant responses of pulmonary arteries and veins in lung explants of guinea pigs. *J Appl Physiol* 1997; 83:1476-1481.
- 187 Leeman M, de Beyl VZ, Delcroix M, Naeije R. Effects of endogenous nitric oxide on pulmonary vascular tone in intact dogs. *Am J Physiol* 1994; 266:H2343-H2347.
- 188 Barer G, Emery C, Stewart A, Bee D, Howard P. Endothelial control of the pulmonary circulation in normal and chronically hypoxic rats. *J Physiol* 1993; 463:1-16.:1-16.
- 189 Liu SF, Crawley DE, Barnes PJ, Evans TW. Endothelium-derived relaxing factor inhibits hypoxic pulmonary vasoconstriction in rats. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143:32-37.
- 190 Ogata M, Ohe M, Katayose D, Takishima T. Modulatory role of EDRF in hypoxic contraction of isolated porcine pulmonary arteries. *Am J Physiol* 1992; 262:H691-H697.
- 191 Dumas JP, Goirand F, Bardou M, Dumas M, Rochette L, Advenier C et al. Role of potassium channels and nitric oxide in the relaxant effects elicited by beta-adrenoceptor agonists on hypoxic vasoconstriction in the isolated perfused lung of the rat. *Br J Pharmacol* 1999; 127:421-428.

- 192 Kovitz KL, Aleskowitch TD, Sylvester JT, Flavahan NA. Endothelium-derived contracting and relaxing factors contribute to hypoxic responses of pulmonary arteries. *Am J Physiol* 1993; 265:H1139-H1148.
- 193 Lee YH, Lee HY, Lee EY, Kang BS. Hypoxic contraction of isolated rat pulmonary artery. *J Smooth Muscle Res* 1995; 31:471-475.
- 194 Karamsetty MR, Wadsworth RM, Kane KA. Effect of K<sup>+</sup> channel blocking drugs and nitric oxide synthase inhibition on the response to hypoxia in rat pulmonary artery rings. *J Auton Pharmacol* 1998; 18:49-56.
- 195 Terraz S, Baechtold F, Renard D, Barsi A, Rosselet A, Gnaegi A et al. Hypoxic contraction of small pulmonary arteries from normal and endotoxemic rats: fundamental role of NO. *Am J Physiol* 1999; 276:H1207-H1214.
- 196 Sprague RS, Thiemermann C, Vane JR. Endogenous endothelium-derived relaxing factor opposes hypoxic pulmonary vasoconstriction and supports blood flow to hypoxic alveoli in anesthetized rabbits. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89:8711-8715.
- 197 Freden F, Wei SZ, Berglund JE, Frostell C, Hedenstierna G. Nitric oxide modulation of pulmonary blood flow distribution in lobar hypoxia. *Anesthesiology* 1995; 82:1216-1225.
- 198 Lorente JA, Landin L, De Pablo R, Renes E, Liste D. L-arginine pathway in the sepsis syndrome. *Crit Care Med* 1993; 21:1287-1295.
- 199 Petros A, Lamb G, Leone A, Moncada S, Bennett D, Vallance P. Effects of a nitric oxide synthase inhibitor in humans with septic shock. *Cardiovasc Res* 1994; 28:34-39.
- 200 Gomez-Jimenez J, Salgado A, Mourelle M, Martin MC, Segura RM, Peracaula R et al. L-arginine: nitric oxide pathway in endotoxemia and human septic shock. *Crit Care Med* 1995; 23:253-258.
- 201 Avontuur JA, Tutein Nolthenius RP, Buijk SL, Kanhai KJ, Bruining HA. Effect of L-NAME, an inhibitor of nitric oxide synthesis, on cardiopulmonary function in human septic shock. *Chest* 1998; 113:1640-1646.

- 202 Klabunde RE, Ritger RC, Helgren MC. Cardiovascular actions of inhibitors of endothelium-derived relaxing factor (nitric oxide) formation/release in anesthetized dogs. *Eur J Pharmacol* 1991; 199:51-59.
- 203 Laszlo F, Whittle BJ, Evans SM, Moncada S. Association of microvascular leakage with induction of nitric oxide synthase: effects of nitric oxide synthase inhibitors in various organs. *Eur J Pharmacol* 1995; 283:47-53.
- 204 Chu A, Chambers DE, Lin CC, Kuehl WD, Palmer RM, Moncada S et al. Effects of inhibition of nitric oxide formation on basal vasomotion and endothelium-dependent responses of the coronary arteries in awake dogs. *J Clin Invest* 1991; 87:1964-1968.
- 205 Garcia JL, Fernandez N, Garcia-Villalon AL, Monge L, Gomez B, Dieguez G. Effects of nitric oxide synthesis inhibition on the goat coronary circulation under basal conditions and after vasodilator stimulation. *Br J Pharmacol* 1992; 106:563-567.
- 206 Lefroy DC, Crake T, Uren NG, Davies GJ, Maseri A. Effect of inhibition of nitric oxide synthesis on epicardial coronary artery caliber and coronary blood flow in humans. *Circulation* 1993; 88:43-54.
- 207 Wu CC, Ruetten H, Thiemermann C. Comparison of the effects of aminoguanidine and N omega-nitro-L-arginine methyl ester on the multiple organ dysfunction caused by endotoxaemia in the rat. *Eur J Pharmacol* 1996; 300:99-104.
- 208 Minnard EA, Shou J, Naama H, Cech A, Gallagher H, Daly JM. Inhibition of nitric oxide synthesis is detrimental during endotoxemia. *Arch Surg* 1994; 129:142-147.
- 209 Wright CE, Rees DD, Moncada S. Protective and pathological roles of nitric oxide in endotoxin shock. *Cardiovasc Res* 1992; 26:48-57.
- 210 Lin PJ, Chang CH, Chang JP. Reversal of refractory hypotension in septic shock by inhibitor of nitric oxide synthase. *Chest* 1994; 106:626-629.
- 211 Kilbourn RG, Fonseca GA, Griffith OW, Ewer M, Price K, Striegel A et al. NG-methyl-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthase, reverses interleukin-2-induced hypotension. *Crit Care Med* 1995; 23:1018-1024.

- 212 Kadowitz PJ, Joiner PD, Hyman AL. Influence of prostaglandins E1 and F2a on pulmonary vascular resistance in the sheep. *Proc Soc Exp Biol Med* 1974; 145:1258-1261.
- 213 Garrett RC, Thomas HM, III. Meclofenamate uniformly decreases shunt fraction in dogs with lobar atelectasis. *J Appl Physiol* 1983; 54:284-289.
- 214 Hanly P, Sienko A, Light RB. Effect of cyclooxygenase blockade on gas exchange and hemodynamics in *Pseudomonas pneumonia*. *J Appl Physiol* 1987; 63:1829-1836.
- 215 Ali J, Duke K. Does indomethacin affect shunt and its response to PEEP in oleic acid pulmonary edema? *J Appl Physiol* 1987; 62:2187-2192.
- 216 Mayers I, Breen PH, Gottlieb S, Long R, Wood LD. The effects of indomethacin on edema and gas exchange in canine acid aspiration. *Respir Physiol* 1987; 69:149-160.
- 217 Leeman M, Lejeune P, Halleman R, Melot C, Naeije R. Effects of increased pulmonary vascular tone on gas exchange in canine oleic acid pulmonary edema. *J Appl Physiol* 1988; 65:662-668.
- 218 Schulman LL, Lennon PF, Ratner SJ, Enson Y. Meclofenamate enhances blood oxygenation in acute oleic acid lung injury. *J Appl Physiol* 1988; 64:710-718.
- 219 Calvin JE, Dervin G. Intravenous ibuprofen blocks the hypoxemia of pulmonary glass bead embolism in the dog. *Crit Care Med* 1988; 16:852-856.
- 220 Sprague RS, Stephenson AH, Dimmitt RA, Weintraub NL, Branch CA, McMurdo L et al. Inhibition of nitric oxide synthesis results in a selective increase in arterial resistance in rabbit lungs. *Pol J Pharmacol* 1994; 46:579-585.
- 221 Dickey BF, Thrall RS, McCormick JR, Ward PA. Oleic-acid-induced lung injury in the rat. Failure of indomethacin treatment or complement depletion to ablate lung injury. *Am J Pathol* 1981; 103:376-383.
- 222 Pace NL, Goitz H, Blatnick RA, Johansen RK. Failure of indomethacin to prevent or ameliorate oleic acid pulmonary edema in the dog. *Prostaglandins Med* 1980; 5:101-111.

- 223 Julien M, Hoeffel JM, Flick MR. Oleic acid lung injury in sheep. *J Appl Physiol* 1986; 60:433-440.
- 224 Delcroix M, Melot C, Lejeune P, Leeman M, Naeije R. Cyclooxygenase inhibition aggravates pulmonary hypertension and deteriorates gas exchange in canine pulmonary embolism. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:806-810.
- 225 Steinberg SM, Rodriguez JL, Bitzer LG, Rhee JW, Kelley KA, Flint LM. Indomethacin treatment of human adult respiratory distress syndrome. *Circ Shock* 1990; 30:375-384.
- 226 Ferrer M, Torres A, Baer R, Hernandez C, Roca J, Rodriguez-Roisin R. Effect of acetylsalicylic acid on pulmonary gas exchange in patients with severe pneumonia: a pilot study. *Chest* 1997; 111:1094-1100.
- 227 Flower RJ. Drugs which inhibit prostaglandin biosynthesis. *Pharmacol Rev* 1974; 26:33-67.
- 228 Johnson AG, Seidemann P, Day RO. NSAID-related adverse drug interactions with clinical relevance. An update. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1994; 32:509-532.
- 229 Ichinose F, Adrie C, Hurford WE, Zapol WM. Prolonged pulmonary vasodilator action of inhaled nitric oxide by Zaprinst in awake lambs. *J Appl Physiol* 1995; 78:1288-1295.
- 230 Ziegler JW, Ivy DD, Fox JJ, Kinsella JP, Clarke WR, Abman SH. Dipyridamole, a cGMP phosphodiesterase inhibitor, causes pulmonary vasodilation in the ovine fetus. *Am J Physiol* 1995; 269:H473-H479.
- 231 Ziegler JW, Ivy DD, Wiggins JW, Kinsella JP, Clarke WR, Abman SH. Effects of dipyridamole and inhaled nitric oxide in pediatric patients with pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:1388-1395.
- 232 Kinsella JP, Torielli F, Ziegler JW, Ivy DD, Abman SH. Dipyridamole augmentation of response to nitric oxide. *Lancet* 1995; 346:647-648.
- 233 Atz AM, Wessel DL. Sildenafil ameliorates effects of inhaled nitric oxide withdrawal. *Anesthesiology* 1999; 91:307-310.

- 234 Reyes A, Roca J, Rodriguez-Roisin R, Torres A, Ussetti P, Wagner PD. Effect of almitrine on ventilation-perfusion distribution in adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137:1062-1067.
- 235 Payen DM, Gatecel C, Plaisance P. Almitrine effect on nitric oxide inhalation in adult respiratory distress syndrome. *Lancet* 1993; 341:1664.
- 236 Wysocki M, Delclaux C, Roupie E, Langeron O, Liu N, Herman B et al. Additive effect on gas exchange of inhaled nitric oxide and intravenous almitrine bismesylate in the adult respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 1994; 20:254-259.
- 237 Jolliet P, Bulpa P, Ritz M, Ricou B, Lopez J, Chevrolet JC. Additive beneficial effects of the prone position, nitric oxide, and almitrine bismesylate on gas exchange and oxygen transport in acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 1997; 25:786-794.
- 238 Gallart L, Lu Q, Puybasset L, Umamaheswara Rao GS, Coriat P, Rouby JJ. Intravenous almitrine combined with inhaled nitric oxide for acute respiratory distress syndrome. The NO Almitrine Study Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:1770-1777.
- 239 Gillart T, Bazin JE, Cosserant B, Guelon D, Aigouy L, Mansoor O et al. Combined nitric oxide inhalation, prone positioning and almitrine infusion improve oxygenation in severe ARDS. *Can J Anaesth* 1998; 45:402-409.
- 240 Doering EB, Hanson CW, III, Reily DJ, Marshall C, Marshall BE. Improvement in oxygenation by phenylephrine and nitric oxide in patients with adult respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1997; 87:18-25.
- 241 Papazian L, Roch A, Bregeon F, Thirion X, Gaillat F, Saux P et al. Inhaled nitric oxide and vasoconstrictors in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160:473-479.
- 242 Friebe A, Mullershausen F, Smolenski A, Walter U, Schultz G, Koesling D. YC-1 potentiates nitric oxide- and carbon monoxide-induced cyclic GMP effects in human platelets. *Mol Pharmacol* 1998; 54:962-967.

- 243 Stasch JP, Alonso-Alija C, Apeler H, Dembowski K, Feurer A, Minuth T et al. Pharmacological actions of a novel NO-independent guanylyl cyclase stimulator, BAY 41-8543: in vitro studies. *Br J Pharmacol* 2002; 135:333-343.
- 244 Schmidt P, Schramm M, Schroder H, Stasch JP. Mechanisms of nitric oxide independent activation of soluble guanylyl cyclase. *Eur J Pharmacol* 2003; 468:167-174.
- 245 Mullershausen F, Russwurm M, Friebe A, Koesling D. Inhibition of phosphodiesterase type 5 by the activator of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase BAY 41-2272. *Circulation* 2004; 109:1711-1713.
- 246 Bischoff E, Schramm M, Straub A, Feurer A, Stasch JP. BAY 41-2272: a stimulator of soluble guanylyl cyclase induces nitric oxide-dependent penile erection in vivo. *Urology* 2003; 61:464-467.
- 247 Pirlo AF, Benumof JL, Trousdale FR. Atelectatic lobe blood flow: open vs. closed chest, positive pressure vs. spontaneous ventilation. *J Appl Physiol* 1981; 50:1022-1026.
- 248 Benumof JL. Mechanism of decreased blood flow to atelectatic lung. *J Appl Physiol* 1979; 46:1047-1048.
- 249 Miller FL, Chen L, Malmkvist G, Marshall C, Marshall BE. Mechanical factors do not influence blood flow distribution in atelectasis. *Anesthesiology* 1989; 70:481-488.
- 250 McFarlane PA, Gardaz JP, Sykes MK. CO<sub>2</sub> and mechanical factors reduce blood flow in a collapsed lung lobe. *J Appl Physiol* 1984; 57:739-743.
- 251 Orchard CH, Sanchez dL, Chakrabarti MK, Leme N, Sykes MK. Pulmonary lobe blood flow during ventilation hypoxia and lobar collapse in the dog. *Cardiovasc Res* 1985; 19:264-269.
- 252 Colley PS, Cheney FW, Butler J. Mechanism of change in pulmonary shunt flow with hemorrhage. *J Appl Physiol* 1977; 42:196-201.
- 253 Quebbeman EJ, Dawson CA. Influence of inflation and atelectasis on the hypoxic pressor response in isolated dog lung lobes. *Cardiovasc Res* 1976; 10:672-677.

- 254 Chen L, Williams JJ, Alexander CM, Ray RJ, Marshall C, Marshall BE. The effect of pleural pressure on the hypoxic pulmonary vasoconstrictor response in closed chest dogs. *Anesth Analg* 1988; 67:763-769.
- 255 Mure M, Domino KB, Robertson T, Hlastala MP, Glenny RW. Pulmonary blood flow does not redistribute in dogs with reposition from supine to left lateral position. *Anesthesiology* 1998; 89:483-492.
- 256 Halmagyi DF, Colebatch HJ. Some cardiorespiratory parameters in anesthetized sheep. *J Appl Physiol* 1961; 16:45-47.
- 257 Huynh H, Feldt L. Conditions under which mean square ratios in repeated measurements designs have exact F-distributions. *Journal of the American Statistical Association* 1970; 65:1582-1589.
- 258 Fischer SR, Deyo DJ, Bone HG, McGuire R, Traber LD, Traber DL. Nitric oxide synthase inhibition restores hypoxic pulmonary vasoconstriction in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:833-839.
- 259 Domino KB, Wetstein L, Glasser SA, Lindgren L, Marshall C, Harken A et al. Influence of mixed venous oxygen tension (PVO<sub>2</sub>) on blood flow to atelectatic lung. *Anesthesiology* 1983; 59:428-434.
- 260 Hudak BB, Terry PB, Menkes HA, Jones MD, Jr., Traystman RJ. Hypocapnia does not alter collateral ventilation in sheep. *J Appl Physiol* 1990; 68:503-507.
- 261 Woolcock AJ, Macklem PT. Mechanical factors influencing collateral ventilation in human, dog, and pig lungs. *J Appl Physiol* 1971; 30:99-115.
- 262 Kuriyama T, Latham LP, Horwitz LD, Reeves JT, Wagner WW, Jr. Role of collateral ventilation in ventilation-perfusion balance. *J Appl Physiol* 1984; 56:1500-1506.
- 263 Cremona G, Wood AM, Hall LW, Bower EA, Higenbottam T. Effect of inhibitors of nitric oxide release and action on vascular tone in isolated lungs of pig, sheep, dog and man. *J Physiol* 1994; 481:185-195.



- 264 Grant BJ, Paradowski LJ, Fitzpatrick JM. Effect of perivascular electromagnetic flow probes on pulmonary hemodynamics. *J Appl Physiol* 1988; 65:1885-1890.
- 265 Sprague RS, Stephenson AH, Lonigro AJ. Prostaglandin I<sub>2</sub> supports blood flow to hypoxic alveoli in anesthetized dogs. *J Appl Physiol* 1984; 56:1246-1251.
- 266 Domino KB, Pinsky MR. Effect of positive end-expiratory pressure on hypoxic pulmonary vasoconstriction in the dog. *Am J Physiol* 1990; 259:H697-H705.
- 267 Glasser SA, Domino KB, Lindgren L, Parcella P, Marshall C, Marshall BE. Pulmonary blood pressure and flow during atelectasis in the dog. *Anesthesiology* 1983; 58:225-231.
- 268 Boucek C, Klain M, Obuchowski N, Molner R. Pulmonary artery catheter monitoring during single-lung ventilation in dogs. *J Clin Monit* 1992; 8:209-215.
- 269 Landais A, Morin JP, Roche A, Cornec C, Sansoy N. Measurement of cardiac output by the thermodilution method during left thoracotomy in the lateral position in the dog. *Acta Anaesthesiol Scand* 1990; 34:158-161.
- 270 Rahn H, Sadoul P, Farhi L, Shapiro J. Distribution of ventilation and perfusion in the lobes of the dog's lung in the supine and erect position. *J Appl Physiol* 1956; 8:417-426.
- 271 Marshall BE, Marshall C. Continuity of response to hypoxic pulmonary vasoconstriction. *J Appl Physiol* 1980; 49:189-196.
- 272 Fradj K, Samain E, Delefosse D, Farah E, Marty J. Placebo-controlled study of inhaled nitric oxide to treat hypoxaemia during one-lung ventilation. *Br J Anaesth* 1999; 82:208-212.
- 273 Slinger P, Suissa S, Triolet W. Predicting arterial oxygenation during one-lung anaesthesia. *Can J Anaesth* 1992; 39:1030-1035.
- 274 Bjertnaes LJ. Hypoxia-induced pulmonary vasoconstriction in man: inhibition due to diethyl ether and halothane anesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand* 1978; 22:570-578.

- 275 Dyar O, Young JD, Xiong L, Howell S, Johns E. Dose-response relationship for inhaled nitric oxide in experimental pulmonary hypertension in sheep. *Br J Anaesth* 1993; 71:702-708.
- 276 Emil SG, Berkeland JE, Atkinson JB. Nitric oxide dose response during moderate and severe hypoxia in swine. *Ann Thorac Surg* 1997; 63:414-418.
- 277 Hermle G, Schutte H, Walmrath D, Geiger K, Seeger W, Grimminger F. Ventilation-perfusion mismatch after lung ischemia-reperfusion. Protective effect of nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160:1179-1187.
- 278 Zayek M, Cleveland D, Morin FC, III. Treatment of persistent pulmonary hypertension in the newborn lamb by inhaled nitric oxide. *J Pediatr* 1993; 122:743-750.
- 279 Roberts JD, Jr., Lang P, Bigatello LM, Vlahakes GJ, Zapol WM. Inhaled nitric oxide in congenital heart disease. *Circulation* 1993; 87:447-453.
- 280 Roberts JD, Polaner DM, Lang P, Zapol WM. Inhaled nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Lancet* 1992; 340:818-819.
- 281 Puybasset L, Rouby JJ, Mourgeon E, Stewart TE, Cluzel P, Arthaud M et al. Inhaled nitric oxide in acute respiratory failure: dose-response curves. *Intensive Care Med* 1994; 20:319-327.
- 282 Gerlach H, Rossaint R, Pappert D, Falke KJ. Time-course and dose-response of nitric oxide inhalation for systemic oxygenation and pulmonary hypertension in patients with adult respiratory distress syndrome. *Eur J Clin Invest* 1993; 23:499-502.
- 283 Gerlach H, Pappert D, Lewandowski K, Rossaint R, Falke KJ. Long-term inhalation with evaluated low doses of nitric oxide for selective improvement of oxygenation in patients with adult respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 1993; 19:443-449.
- 284 Lawson SM, Rich GF, McArdle PA, Jaidev J, Morris GN. The response to varying concentrations of inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesth Analg* 1996; 82:574-581.

- 285 Finer NN, Etches PC, Kamstra B, Tierney AJ, Peliowski A, Ryan CA. Inhaled nitric oxide in infants referred for extracorporeal membrane oxygenation: dose response. *J Pediatr* 1994; 124:302-308.
- 286 Gerlach H, Keh D, Semmerow A, Busch T, Lewandowski K, Pappert DM et al. Dose-response characteristics during long-term inhalation of nitric oxide in patients with severe acute respiratory distress syndrome: a prospective, randomized, controlled study. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167:1008-1015.
- 287 Frostell CG, Blomqvist H, Hedenstierna G, Lundberg J, Zapol WM. Inhaled nitric oxide selectively reverses human hypoxic pulmonary vasoconstriction without causing systemic vasodilation. *Anesthesiology* 1993; 78:427-435.
- 288 Rich GF, Murphy GD, Jr., Roos CM, Johns RA. Inhaled nitric oxide. Selective pulmonary vasodilation in cardiac surgical patients. *Anesthesiology* 1993; 78:1028-1035.
- 289 Umamaheswara Rao GS, Gallart L, Law-Koune JD, Lu Q, Puybasset L, Cluzel P et al. Factors influencing the tracheal fluctuation of inhaled nitric oxide in patients with acute lung injury. *Anesthesiology* 1997; 87:823-834.
- 290 Snow DJ, Gray SJ, Ghosh S, Foubert L, Oduro A, Higenbottam TW et al. Inhaled nitric oxide in patients with normal and increased pulmonary vascular resistance after cardiac surgery. *Br J Anaesth* 1994; 72:185-189.
- 291 Sticher J, Scholz S, Boning O, Schermuly RT, Schumacher C, Walmrath D et al. Small-dose nitric oxide improves oxygenation during one-lung ventilation: an experimental study. *Anesth Analg* 2002; 95:1557-62.
- 292 Della Rocca G, Passariello M, Coccia C, et al. Inhaled Nitric Oxide administration during one-lung ventilation in patients undergoing thoracic surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2001; 1:218-223.
- 293 Rossaint R, Pappert D, Fritz G. Recent advances in the treatment of ARDS. *Clin Intensive Care* 1995; 6:62-71.

- 294 McIntyre RC, Jr., Moore FA, Moore EE, Piedalue F, Haenel JS, Fullerton DA. Inhaled nitric oxide variably improves oxygenation and pulmonary hypertension in patients with acute respiratory distress syndrome. *J Trauma* 1995; 39:418-425.
- 295 Manktelow C, Bigatello LM, Hess D, Hurford WE. Physiologic determinants of the response to inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1997; 87:297-307.
- 296 Young JD, Brampton WJ, Knighton JD, Finfer SR. Inhaled nitric oxide in acute respiratory failure in adults. *Br J Anaesth* 1994; 73:499-502.
- 297 Frank DU, Lowson SM, Roos CM, Rich GF. Endotoxin alters hypoxic pulmonary vasoconstriction in isolated rat lungs. *J Appl Physiol* 1996; 81:1316-1322.
- 298 Benzing A, Loop T, Mols G, Geiger K. Effect of inhaled nitric oxide on venous admixture depends on cardiac output in patients with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Acta Anaesthesiol Scand* 1996; 40:466-474.
- 299 Freden F, Berglund JE, Hedenstierna G. Pulmonary blood flow distribution in lobar hypoxia--influence of cardiac output and nitric oxide inhalation. *Scand Cardiovasc J* 1999; 33:215-221.
- 300 Rossaint R, Slama K, Steudel W, Gerlach H, Pappert D, Veit S et al. Effects of inhaled nitric oxide on right ventricular function in severe acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 1995; 21:197-203.
- 301 Emil S, Kosi M, Berkeland J, Kanno S, Newth C, Atkinson J. Severity of hypoxia predicts response to nitric oxide in a porcine pulmonary hypertension model. *J Pediatr Surg* 1995; 30:930-935.
- 302 Emil S, Kanno S, Berkeland J, Kosi M, Atkinson J. Sustained pulmonary vasodilation after inhaled nitric oxide for hypoxic pulmonary hypertension in swine. *J Pediatr Surg* 1996; 31:389-393.
- 303 Okamoto K, Hamaguchi M, Kukita I, Kikuta K, Sato T. Efficacy of inhaled nitric oxide in children with ARDS. *Chest* 1998; 114:827-833.

- 304 Puybasset L, Rouby JJ, Mourgeon E, Cluzel P, Souhil Z, Law-Koune JD et al. Factors influencing cardiopulmonary effects of inhaled nitric oxide in acute respiratory failure. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:318-328.
- 305 Benzing A, Mols G, Brieschal T, Geiger K. Hypoxic pulmonary vasoconstriction in nonventilated lung areas contributes to differences in hemodynamic and gas exchange responses to inhalation of nitric oxide. *Anesthesiology* 1997; 86:1254-1261.
- 306 Puybasset L, Stewart T, Rouby JJ, Cluzel P, Mourgeon E, Belin MF et al. Inhaled nitric oxide reverses the increase in pulmonary vascular resistance induced by permissive hypercapnia in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1994; 80:1254-1267.
- 307 Barbera JA, Roger N, Roca J, Rovira I, Higenbottam TW, Rodriguez-Roisin R. Worsening of pulmonary gas exchange with nitric oxide inhalation in chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet* 1996; 347:436-440.
- 308 Moore PG, Nguyen DK, Reitan JA. Inhibition of nitric oxide synthesis causes systemic and pulmonary vasoconstriction in isoflurane-anesthetized dogs. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1994; 8:310-316.
- 309 Murray PA, Fehr DM, Chen BB, Rock P, Esther JW, Desai PM et al. Differential effects of general anesthesia on cGMP-mediated pulmonary vasodilation. *J Appl Physiol* 1992; 73:721-727.
- 310 Krafft P, Fridrich P, Fitzgerald RD, Koc D, Steltzer H. Effectiveness of nitric oxide inhalation in septic ARDS. *Chest* 1996; 109:486-493.
- 311 Szabo C, Mitchell JA, Thiernemann C, Vane JR. Nitric oxide-mediated hyporeactivity to noradrenaline precedes the induction of nitric oxide synthase in endotoxin shock. *Br J Pharmacol* 1993; 108:786-792.
- 312 Mourgeon E, Puybasset L, Law-Koune JD, Lu Q, Abdennour L, Gallart L et al. Inhaled nitric oxide in acute respiratory distress syndrome with and without septic shock requiring norepinephrine administration: a dose- response study. *Crit Care (Lond)* 1997; 1:25-39.

- 313 Rees DD, Palmer RM, Moncada S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86:3375-3378.
- 314 Huang M, Leblanc ML, Hester RL. Systemic and regional hemodynamics after nitric oxide synthase inhibition: role of a neurogenic mechanism. *Am J Physiol* 1994; 267:R84-R88.
- 315 Tresham JJ, Dusting GJ, Coghlan JP, Whitworth JA. Haemodynamic and hormonal effects of N-nitro-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide biosynthesis, in sheep. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1991; 18:327-330.
- 316 Licker M, Boussairi H, Hohn L, Morel DR. Role of nitric oxide in the regulation of regional blood flow and metabolism in anaesthetized pigs. *Acta Physiol Scand* 1998; 163:339-348.
- 317 Sonntag M, Deussen A, Schrader J. Role of nitric oxide in local blood flow control in the anaesthetized dog. *Pflugers Arch* 1992; 420:194-199.
- 318 Cases A, Haas J, Burnett JC, Romero JC. Hemodynamic and renal effects of acute and progressive nitric oxide synthesis inhibition in anesthetized dogs. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 280:R143-R148.
- 319 Persson MG, Gustafsson LE, Wiklund NP, Moncada S, Hedqvist P. Endogenous nitric oxide as a probable modulator of pulmonary circulation and hypoxic pressor response in vivo. *Acta Physiol Scand* 1990; 140:449-457.
- 320 Sander M, Welling KL, Ravn JB, Boberg B, Amtorp O. Endogenous NO does not regulate baseline pulmonary pressure, but reduces acute pulmonary hypertension in dogs. *Acta Physiol Scand* 2003; 178:269-277.
- 321 Fineman JR, Heymann MA, Soifer SJ. N omega-nitro-L-arginine attenuates endothelium-dependent pulmonary vasodilation in lambs. *Am J Physiol* 1991; 260:H1299-H1306.
- 322 Loeb AL, Longnecker DE. Inhibition of endothelium-derived relaxing factor-dependent circulatory control in intact rats. *Am J Physiol* 1992; 262:H1494-H1500.

- 323 Kindig CA, Gallatin LL, Erickson HH, Fedde MR, Poole DC. Cardiorespiratory impact of the nitric oxide synthase inhibitor L-NAME in the exercising horse. *Respir Physiol* 2000; 120:151-166.
- 324 Stamler JS, Loh E, Roddy MA, Currie KE, Creager MA. Nitric oxide regulates basal systemic and pulmonary vascular resistance in healthy humans. *Circulation* 1994; 89:2035-2040.
- 325 Meyer J, Traber LD, Nelson S, Lentz CW, Nakazawa H, Herndon DN et al. Reversal of hyperdynamic response to continuous endotoxin administration by inhibition of NO synthesis. *J Appl Physiol* 1992; 73:324-328.
- 326 Lynch JP, Mhyre JG, Dantzker DR. Influence of cardiac output on intrapulmonary shunt. *J Appl Physiol* 1979; 46:315-321.
- 327 Bishop MJ, Cheney FW. Effects of pulmonary blood flow and mixed venous O<sub>2</sub> tension on gas exchange in dogs. *Anesthesiology* 1983; 58:130-135.
- 328 Dantzker DR, Lynch JP, Weg JG. Depression of cardiac output is a mechanism of shunt reduction in the therapy of acute respiratory failure. *Chest* 1980; 77:636-642.
- 329 Naimark A, Dugard A, Rangno RE. Regional pulmonary blood flow and gas exchange in hemorrhagic shock. *J Appl Physiol* 1968; 25:301-309.
- 330 Cheney FW, Colley PS. The effect of cardiac output on arterial blood oxygenation. *Anesthesiology* 1980; 52:496-503.
- 331 Mathru M, Dries DJ, Kanuri D, Blakeman B, Rao T. Effect of cardiac output on gas exchange in one-lung atelectasis. *Chest* 1990; 97:1121-1124.
- 332 Kiehl MG, Ostermann H, Meyer J, Kienast J. Nitric oxide synthase inhibition by L-NAME in leukocytopenic patients with severe septic shock. *Intensive Care Med* 1997; 23:561-566.
- 333 Sprague RS, Stephenson AH, McMurdo L, Lonigro AJ. Inhibition of nitric oxide synthesis improves arterial oxygenation in ethchlorvynol-induced acute lung injury in dogs. *Pol J Pharmacol* 1995; 47:473-478.

- 334 Leeman M, de Beyl VZ, Gilbert E, Melot C, Naeije R. Is nitric oxide released in oleic acid lung injury? *J Appl Physiol* 1993; 74:650-654.
- 335 Rees DD, Palmer RM, Schulz R, Hodson HF, Moncada S. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. *Br J Pharmacol* 1990; 101:746-752.
- 336 Hasunuma K, Yamaguchi T, Rodman DM, O'Brien RF, McMurtry IF. Effects of inhibitors of EDRF and EDHF on vasoreactivity of perfused rat lungs. *Am J Physiol* 1991; 260:L97-104.
- 337 Nishiwaki K, Nyhan DP, Rock P, Desai PM, Peterson WP, Pribble CG et al. N omega-nitro-L-arginine and pulmonary vascular pressure-flow relationship in conscious dogs. *Am J Physiol* 1992; 262:H1331-H1337.
- 338 Cotter G, Kaluski E, Milo O, Blatt A, Salah A, Hendler A et al. LINCS: L-NAME (a NO synthase inhibitor) in the treatment of refractory cardiogenic shock: a prospective randomized study. *Eur Heart J* 2003; 24:1287-1295.
- 339 Cobb JP. Nitric oxide synthase inhibition as therapy for sepsis: a decade of promise. *Surg Infect (Larchmt)* 2001; 2:93-100.
- 340 Leeman M, Naeije R, Lejeune P, Melot C. Influence of cyclo-oxygenase inhibition and of leukotriene receptor blockade on pulmonary vascular pressure/cardiac index relationships in hyperoxic and in hypoxic dogs. *Clin Sci (Lond)* 1987; 72:717-724.
- 341 Walker BR, Voelkel NF, Reeves JT. Pulmonary pressor response after prostaglandin synthesis inhibition in conscious dogs. *J Appl Physiol* 1982; 52:705-709.
- 342 Voelkel NF, Gerber JG, McMurtry IF, Nies AS, Reeves JT. Release of vasodilator prostaglandin, PGI<sub>2</sub>, from isolated rat lung during vasoconstriction. *Circ Res* 1981; 48:207-213.
- 343 Hales CA, Rouse ET, Slate JL. Influence of aspirin and indomethacin on variability of alveolar hypoxic vasoconstriction. *J Appl Physiol* 1978; 45:33-39.



- 344 Ahmed T, Oliver W, Jr., Wanner A. Variability of hypoxic pulmonary vasoconstriction in sheep. Role of prostaglandins. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127:59-62.
- 345 Yamaguchi K, Mori M, Kawai A, Asano K, Takasugi T, Umeda A et al. Attenuation of hypoxic pulmonary vasoconstriction in acute oleic acid lung injury--significance of vasodilator prostanoids. *Adv Exp Med Biol* 1992; 316:299-309.
- 346 Leeman M, Delcroix M, Vachery JL, Melot C, Naeije R. Blunted hypoxic vasoconstriction in oleic acid lung injury: effect of cyclooxygenase inhibitors. *J Appl Physiol* 1992; 72:251-258.
- 347 Light RB. Indomethacin and acetylsalicylic acid reduce intrapulmonary shunt in experimental pneumococcal pneumonia. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134:520-525.
- 348 Hanly PJ, Roberts D, Dobson K, Light RB. Effect of indomethacin on arterial oxygenation in critically ill patients with severe bacterial pneumonia. *Lancet* 1987; 1:351-354.
- 349 Hellyer PW, Johnson LW, Olson NC. Effect of NG-nitro-L-arginine-methyl-ester on cardiopulmonary function and biosynthesis of cyclooxygenase products during porcine endotoxemia. *Crit Care Med* 1997; 25:1051-1058.
- 350 Voelkel NF. Species variations in the pulmonary responses to arachidonic acid metabolites. *Prostaglandins* 1985; 29:867-889.
- 351 Barnard JW, Wilson PS, Moore TM, Thompson WJ, Taylor AE. Effect of nitric oxide and cyclooxygenase products on vascular resistance in dog and rat lungs. *J Appl Physiol* 1993; 74:2940-2948.
- 352 Kadowitz PJ, Joiner PD, Hyman AL. Effect of prostaglandin E2 on pulmonary vascular resistance in intact dog, swine and lamb. *Eur J Pharmacol* 1975; 31:72-80.
- 353 Schuster DP, Stephenson AH, Holmberg S, Sandiford P. Effect of eicosanoid inhibition on the development of pulmonary edema after acute lung injury. *J Appl Physiol* 1996; 80:915-923.

- 354 Garrett RC, Thomas HM, III. Relation of prostanoids to strength of hypoxic vasoconstriction in dogs with lobar atelectasis. *J Appl Physiol* 1985; 59:72-77.
- 355 Brimiouille S, Vachier JL, Lejeune P, Leeman M, Melot C, Naeije R. Acid-base status affects gas exchange in canine oleic acid pulmonary edema. *Am J Physiol* 1991; 260:H1080-H1086.
- 356 Charan NB, Lakshminarayan S, Albert RK, Kirk W, Butler J. Hypoxia and hypercarbia increase bronchial blood flow through bronchopulmonary anastomoses in anesthetized dogs. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134:89-92.
- 357 Warren RL, Powell WJ, Jr. Acute alveolar hypoxia increases bronchopulmonary shunt flow in the dog. *J Clin Invest* 1986; 77:1515-1524.
- 358 Wagner EM, Mitzner WA. Effect of hypoxia on bronchial circulation. *J Appl Physiol* 1988; 65:1627-1633.
- 359 Hyman AL, Knight DS, Joiner PD, Kadowitz PJ. Bronchopulmonary arterial shunting without anatomic anastomosis in the dog. *Circ Res* 1975; 37:285-298.
- 360 Cremona G, Higenbottam T, Takao M, Bower EA, Hall LW. Nature and site of action of endogenous nitric oxide in vasculature of isolated pig lungs. *J Appl Physiol* 1997; 82:23-31.
- 361 Guarin M, Dawson CA, Nelin LD. The arterial site of action of nitric oxide in the neonatal pig lung determined by microfocal angiography. *Lung* 2001; 179:43-55.
- 362 Klemm P, Thiemermann C, Winklmaier G, Martorana PA, Henning R. Effects of nitric oxide synthase inhibition combined with nitric oxide inhalation in a porcine model of endotoxin shock. *Br J Pharmacol* 1995; 114:363-368.
- 363 Weitzberg E, Rudehill A, Modin A, Lundberg JM. Effect of combined nitric oxide inhalation and NG-nitro-L-arginine infusion in porcine endotoxin shock. *Crit Care Med* 1995; 23:909-918.

- 364 Eyal FG, Hachey WE, Curtet-Eyal NL, Kellum FE, Alpan G. Effect of modulators of hypoxic pulmonary vasoconstriction on the response to inhaled nitric oxide in a neonatal model of severe pulmonary atelectasis. *Semin Perinatol* 1996; 20:186-193.
- 365 Melot C, Vermeulen F, Maggiorini M, Gilbert E, Naeije R. Site of pulmonary vasodilation by inhaled nitric oxide in microembolic lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:75-85.
- 366 Salvemini D. Regulation of cyclooxygenase enzymes by nitric oxide. *Cell Mol Life Sci* 1997; 53:576-582.
- 367 Kanner J, Harel S, Granit R. Nitric oxide, an inhibitor of lipid oxidation by lipoxygenase, cyclooxygenase and hemoglobin. *Lipids* 1992; 27:46-49.
- 368 Chen L, He H, Mondejar EF, Hedenstierna G. Cyclooxygenase inhibitor blocks rebound response after NO inhalation in an endotoxin model. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 284:H290-H298.
- 369 Yamaguchi K, Suzuki K, Naoki K, Nishio K, Sato N, Takeshita K et al. Response of intra-acinar pulmonary microvessels to hypoxia, hypercapnic acidosis, and isocapnic acidosis. *Circ Res* 1998; 82:722-728.
- 370 Liu X, Bee D, Barer GR. Role of nitric oxide synthase and cyclooxygenase in pulmonary vascular control in isolated perfused lungs of ferrets, rats and rabbits. *Exp Physiol* 1999; 84:907-916.
- 371 Gordon JB, Tod ML. Effects of N omega-nitro-L-arginine on total and segmental vascular resistances in developing lamb lungs. *J Appl Physiol* 1993; 75:76-85.
- 372 O'Donnell DC, Tod ML, Gordon JB. Developmental changes in endothelium-dependent relaxation of pulmonary arteries: role of EDNO and prostanoids. *J Appl Physiol* 1996; 81:2013-2019.
- 373 Gordon JB, Tod ML, Wetzel RC, McGeady ML, Adkinson NF, Jr., Sylvester JT. Age-dependent effects of indomethacin on hypoxic vasoconstriction in neonatal lamb lungs. *Pediatr Res* 1988; 23:580-584.

- 374 de Clety SC, Decell MK, Tod ML, Sirois P, Gordon JB. Developmental changes in synthesis of and responsiveness to prostaglandins I<sub>2</sub> and E<sub>2</sub> in hypoxic lamb lungs. *Can J Physiol Pharmacol* 1998; 76:764-771.
- 375 Naoki K, Yamaguchi K, Suzuki K, Kudo H, Nishio K, Sato N et al. Nitric oxide differentially attenuates microvessel response to hypoxia and hypercapnia in injured lungs. *Am J Physiol* 1999; 277:R181-R189.
- 376 Gordon JB, Moreira GA, O'Donnell DC, Aldinger AM, Tod ML. Relative effects of cyclooxygenase and nitric oxide synthase inhibition on vascular resistances in neonatal lamb lungs. *Pediatr Res* 1997; 42:738-743.
- 377 Leeman M, de Beyl VZ, Biarent D, Maggiorini M, Melot C, Naeije R. Inhibition of cyclooxygenase and nitric oxide synthase in hypoxic vasoconstriction and oleic acid-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159:1383-1390.
- 378 Williams EA, Quinlan GJ, Anning PB, Goldstraw P, Evans TW. Lung injury following pulmonary resection in the isolated, blood-perfused rat lung. *Eur Respir J* 1999; 14:745-750.
- 379 Macrae DJ, Field D, Mercier JC, Moller J, Stiris T, Biban P et al. Inhaled nitric oxide therapy in neonates and children: reaching a European consensus. *Intensive Care Med* 2004; 30:372-380.
- 380 German P, Braschi A, Dinh-Xuan AT, et al. Inhaled nitric oxide therapy in adults: reaching an European consensus. *Intensive Care Med*. En prensa.

