

Evaluación hemodinámica y respuesta al óxido nítrico inhalado ante hipoxia y acidosis en cerdos recién nacidos

Miguel Martell ¹, Fernando Blasina ^{1,3}, Salvador Tellechea ¹,
Fernando Silvera ¹, Lucía Vaamonde ^{1,3}, Pablo Bolioli ², Mario Moraes ², Carolina Godoy ¹

Resumen

La hipertensión pulmonar (HTP) es un trastorno de la adaptación a la vida extrauterina de muchos recién nacidos. La hipoxia y la acidosis son factores desencadenantes y perpetuadores de la misma.

Objetivos: evaluar el efecto del óxido nítrico inhalado (ONi) a la respuesta vascular pulmonar a la hipoxia y acidosis en cerdos recién nacidos.

Material y método: se diseñó una serie de intervenciones experimentales en cerdos recién nacidos, sedados, anestesiados y en asistencia ventilatoria mecánica. El protocolo experimental consistió en inducir hipoxia en forma controlada y progresiva (FiO_2 desde 0,21 (basal) hasta 0,14; 0,10 o 0,08, mezclando nitrógeno con aire), entre 6 y 10 minutos, valorando la respuesta hemodinámica. Estabilizada la respuesta a la hipoxia con elevación en meseta de la presión arterial pulmonar (PAP) y sistémica, se administró ONi a 20 ppm. Mediante infusión de HCl 0,1 N i/v se estabilizó el pH en diferentes valores en los cuales se reiteraron esta serie de experimentos.

Resultados: se encontró que el descenso de la

FiO_2 (debajo de 0,21) produce una caída de la saturación y un aumento inmediato de la PAP a diferentes pH y una efectividad del ONi para descender la PAP próximo a 70%. Sin embargo a pH más bajo la existencia de acidosis genera un nivel basal de PAP elevado con respecto a pH 7,4, que el ONi no desciende. En cuanto a la HTP desarrollada ante diferentes FiO_2 se confirmó que la elevación de la PAP es gradualmente más elevada. **Conclusión:** en la investigación experimental en cerdos recién nacidos se observa que los eventos hipóxicos de breve duración generan HTP e inestabilidad sobre la hemodinamia sistémica. De igual modo la acidosis induce un incremento en la PAP basal en este modelo experimental. En estas condiciones la aplicación de ONi desciende la PAP eficazmente sin alterar la hemodinamia sistémica. Es más efectiva su acción a pH normal que en acidosis.

Palabras clave: HEMODINÁMICA
ÓXIDO NÍTRICO
ANOXIA
ACIDOSIS
HIPERTENSIÓN PULMONAR
ANIMALES RECIÉN NACIDOS

1. Departamento de Neonatología, Área Básica, Hospital de Clínicas, Montevideo, Uruguay.
2. Departamento de Neonatología Centro Hospitalario Pereira Rossell, Montevideo Uruguay.
3. Departamento de Neuroquímica, Instituto de Investigaciones Clemente Estable.
Fecha recibido: 4 de noviembre de 2009.
Fecha aprobado: 2 de febrero de 2010.

Summary

Pulmonary hypertension (HTP) is a frequently pathological situation of maladaptation to the extratuerine life in newborns. Hypoxia and acidosis are key factors capable of evoking the referred situation and can also act as a perpetuator factor of it.

Objectives: *To evaluate the effect of inhaled nitric oxide (iNO) on pulmonary vascular response to hypoxia and acidosis in newborn pigs.*

Material and methods: *we performed a series of experimental interventions in newborn pigs, sedated, anesthetized and mechanical ventilation. The experimental protocol was to induce hypoxia in a controlled and progressive (FiO₂ from 0.21 (baseline) to 0.14, 0.10 or 0.08, mixing nitrogen with air), between 6 and 10 minutes, evaluating the hemodynamic response. Stabilized response to hypoxia plateau elevation in pulmonary artery pressure (PAP) and systemic administered iNO at 20 ppm. By infusion of HCl 0.1 N i/v was stable at different pH values which were reiterated in this series of experiments.*

Results: *we found that the decrease in FiO₂ (below 0,21) produces a fall in saturation and an immediate increase in PAP at different pH and an ERA of iNO for the PAP down near 70%. However, at lower pH, the presence of acidosis produces a basal level of PAP high relative to pH 7.4, which does not descend iNO. As PH developed at different FiO₂ was confirmed that the elevation of the PAP is gradually higher.*

Conclusion: *experimental research in newborn pigs shows that the short-term hypoxic events generate HTP and instability on systemic hemodynamics. Similarly acidosis induces an increase in baseline PAP in this experimental model. Under these conditions the application of iNO decreases the PAP effectively without altering systemic hemodynamics. Its action is more effective than normal pH in acidosis.*

Key words:

HEMODYNAMICS
NITRIC OXIDE
ANOXIA
ACIDOSIS
HYPERTENSION, PULMONARY
ANIMALS, NEWBORN

Introducción

La HTP continúa siendo una entidad con elevada incidencia en recién nacidos de término o casi término que llega a 1,9 cada 1.000 nacidos vivos (con una amplia variación entre diferentes centros que oscila entre 0,43 y 6,82 cada 1.000 nacidos vivos) ⁽¹⁾. La mortalidad se mantiene entre 10% y 20% a pesar de los avances terapéuticos y en el cuidado del recién nacido crítico ⁽²⁾.

La hipoxia es el evento principal en la HTP durante el período neonatal, actuando como factor desencadenante y perpetuador de la misma. En pacientes que presentan HTP grave, la consecuencia de un evento hipóxico, aun aquellos de menor entidad, puede llevar a la desestabilización hemodinámica o incluso a la muerte.

En este sentido, los estudios de Rudolph y Yuan ⁽³⁾ muestran la relación entre la PAP y la pO₂. La PAP incrementa tanto ante la disminución de la pO₂ como ante la caída del pH sanguíneo. El presente trabajo se orientó a evaluar los cambios ocasionados sobre esta respuesta fisiológica por intervenciones terapéuticas con el Oni. Éste, a través de la formación de GMP cíclico, induce la dilatación selectiva de las arterias pulmonares y es actualmente la terapia estándar de oro para la hipertensión pulmonar ⁽⁴⁾.

Los objetivos específicos del trabajo fueron los siguientes:

1. Estudiar la respuesta vascular pulmonar a la hipoxia y acidosis en cerdos recién nacidos.
2. Evaluar la respuesta al ONi en los eventos hipóxicos y en la acidosis progresiva.
3. Evaluar el grado de respuesta de la PAP ante la hipoxia para discriminar si se trata o no de una respuesta graduada frente a la privación de oxígeno (FiO₂ menor de 0,21).

Material y método

El estudio se realizó siguiendo los principios éticos que regulan la experimentación animal determinados por la Declaración de Helsinki, la Sociedad Americana de Fisiología y la Comisión Honoraria de Experimentación Animal de la Facultad de Medicina de Montevideo, Uruguay (D.O. 21/2/00, Resolución N° 4 del CDC 4/12/2001) con el protocolo aprobado en el Exp. N° 071140-001741-06.

Modelo básico

Se utilizaron cerdos recién nacidos (n=20), entre 12 y 48 horas de vida, procedentes de criadero local (Granja La Familia) con pesos entre 1.300 y 1.800 g. Fueron sedados y anestesiados con mezcla de midazolam, ketamina y fentanyl por vía intravenosa. Se realizó traqueo-

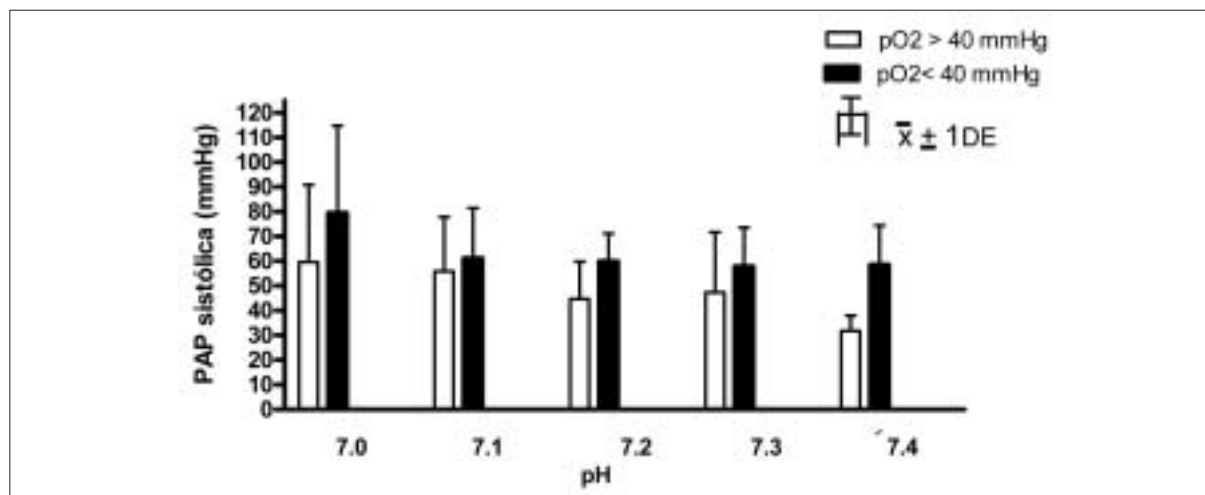


Figura 1. PAP sistólica en función de pO₂ a diferentes pH. Se observa que a medida que disminuye el pH aumenta la PAP en ambos grupos y que la PAP se incrementa significativamente durante la hipoxia ($p < 0,05$).

tomía y ventilación mecánica con un equipo Sechrist IV200. Los parámetros ventilatorios iniciales fueron frecuencia respiratoria (FR) 30 respiraciones por minuto, presión positiva del final de la espiración (PEEP) 5 cm H₂O, presión inspiratoria máxima (PIM) 20 cm H₂O, fracción inspirada de oxígeno (FiO₂) 0,21, Tiempo inspiratorio 0,3 segundos, flujo 8 l/min.

Se realizó monitorización continua de la presión arterial sistémica (PAS) mediante cateterismo de la arteria femoral y de la PAP cateterizada a través del ventrículo derecho. Concomitantemente se realizó monitorización electrocardiográfica y de saturometría de pulso (SatO₂). Se realizaron gasometrías seriadas, para la evaluación de la repercusión de la hipoxia y del estado ácido-base. El almacenamiento digital del registro se realizó utilizando el software Data Q Windaq Acquisition version 2.71.

Para aporte de fluidos se infundió suero glucosado al 5% i/v (SG 5) a 70 ml/kg/día. Se mantuvo temperatura central del animal entre 38°5 a 39°5 C (la temperatura central del cerdo es de 39,5°) con sistema de calefacción por calor Thermacare® y bolsa de plástico aislante 3M®.

Se administraron antibióticos cefradina 100 mg/kg y gentamicina 4,5 mg/kg en forma profiláctica.

Intervención experimental: hipoxias transitorias y acidosis progresiva

El protocolo experimental consistió en descender la FiO₂ mediante mezcla de aire con N₂ para lograr FiO₂ desde 0,21 (basal) hasta 0,18; 0,14; 0,10 o 0,08, valorando la respuesta hemodinámica y su relación con los parámetros gasométricos. La duración del evento hipó-

xico fue de 6 a 10 minutos cada uno, según tolerancia hemodinámica. Se produjeron entre 3 y 6 hipoxias en el transcurso de cada experimento. Una vez estabilizada la respuesta a la hipoxia, logrando la elevación en meseta de la PAP, se administró ONi a 20 ppm.

Se indujo acidosis metabólica en forma progresiva a través de la infusión de HCl 0,1 N i/v, por bomba de infusión continua a 10 mEq/hora. Una vez obtenida la estabilidad de los parámetros hemodinámicos a pH (7,30; 7,20; 7,10; 7,00), se produjeron hipoxias transitorias con las mismas características descritas previamente y se evaluó la respuesta hemodinámica con ONi. Se tomaron datos de la situación pre y postadministración del tratamiento. Para cada valor de pH se incluyeron, al menos, 5 animales en cada grupo.

Estadística

Para los datos cuantitativos se usó el promedio como medida de resumen central y el desvío estándar como medida de dispersión. Para establecer la existencia de diferencias entre dos grupos se usó la prueba de "t", cuando se compararon tres o más grupos se realizó el análisis de varianza y para identificar cuáles eran los grupos diferentes se utilizó el análisis de Tukey.

Se usó la relación entre la PAP y la PAS para evaluar los cambios entre circuito pulmonar y sistémico.

Resultados

Efectos de la hipoxia y del pH

Cuando la pO₂ es mayor o igual a 40 mmHg y el pH mayor o igual a 7,40 la PAP sistólica es 31,8 ± 6,1 mmHg. A medida que el pH desciende, la PAP aumenta, siendo a pH 7,00 de 59,6 ± 31,3 mmHg (figuras 1 y 2).

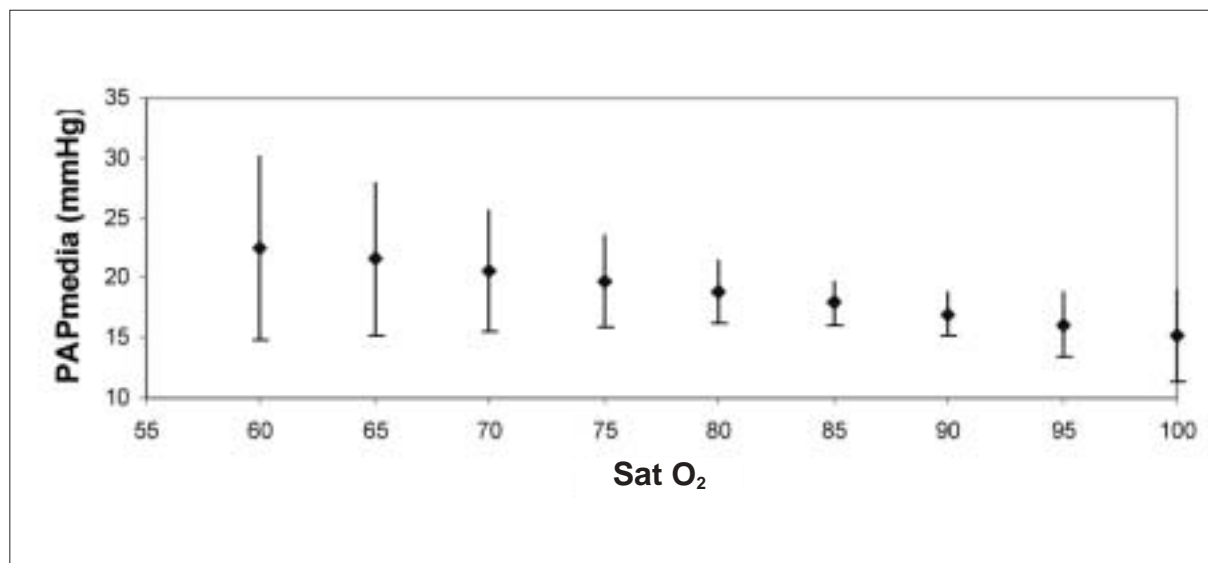


Figura 2. Relación entre saturación de oxígeno y presión arterial pulmonar. Se observa que hay una relación lineal entre la caída de la saturación y el incremento en la presión media de la arteria pulmonar en condiciones basales y a pH 7,4. SatO₂: saturación de oxígeno; PAP: presión arterial pulmonar.

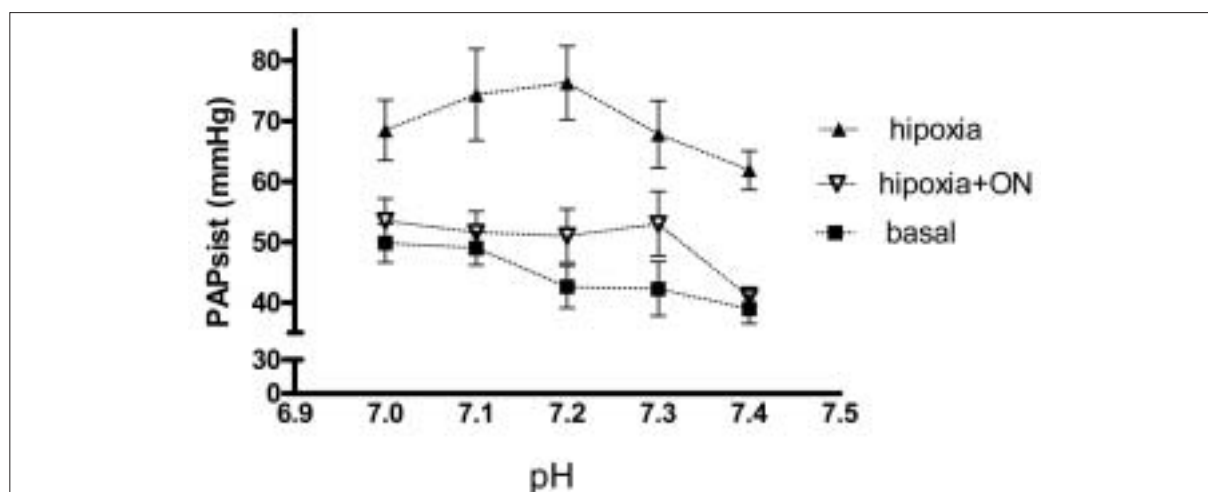


Figura 3. Acción del ONi sobre la PAP sistólica a diferentes pH. Se observa aumento significativo de la PAP con el descenso del pH y el efecto del ONi que reduce parcialmente el efecto de la hipoxia.

Al iniciar la hipoxia, cuya entidad se verificó con el descenso de la pO_2 , se observó invariablemente un aumento la PAP en cada pH estudiado (figura 1). El incremento de la presión en la arteria pulmonar durante la hipoxia se produjo en todos los intervalos de pH y fue de 25,3 mmHg (entre 32,2 y 18,5 mmHg, con un 95% de confianza). El incremento no tuvo diferencias significativas entre los intervalos de pH para una misma FiO_2 .

Cuando se disminuye la FiO_2 el tiempo en alcanzar el máximo descenso de la saturación es de 40 a 60 segun-

dos. Se encontró una relación lineal entre el descenso de la saturación y el aumento de la PAP (figura 2).

Efectos del óxido nítrico

En hipoxia, al administrar ONi la PAP desciende un promedio de 20 mmHg (IC95% entre 14 y 26) (figura 3). Para un incremento promedio de la PAP de 25,3 mmHg por encima del valor basal, el ONi desciende un 75% de la PAP inducida por la hipoxia. En los rangos de pH más bajo el ONi no disminuye la HTP alcanzada por

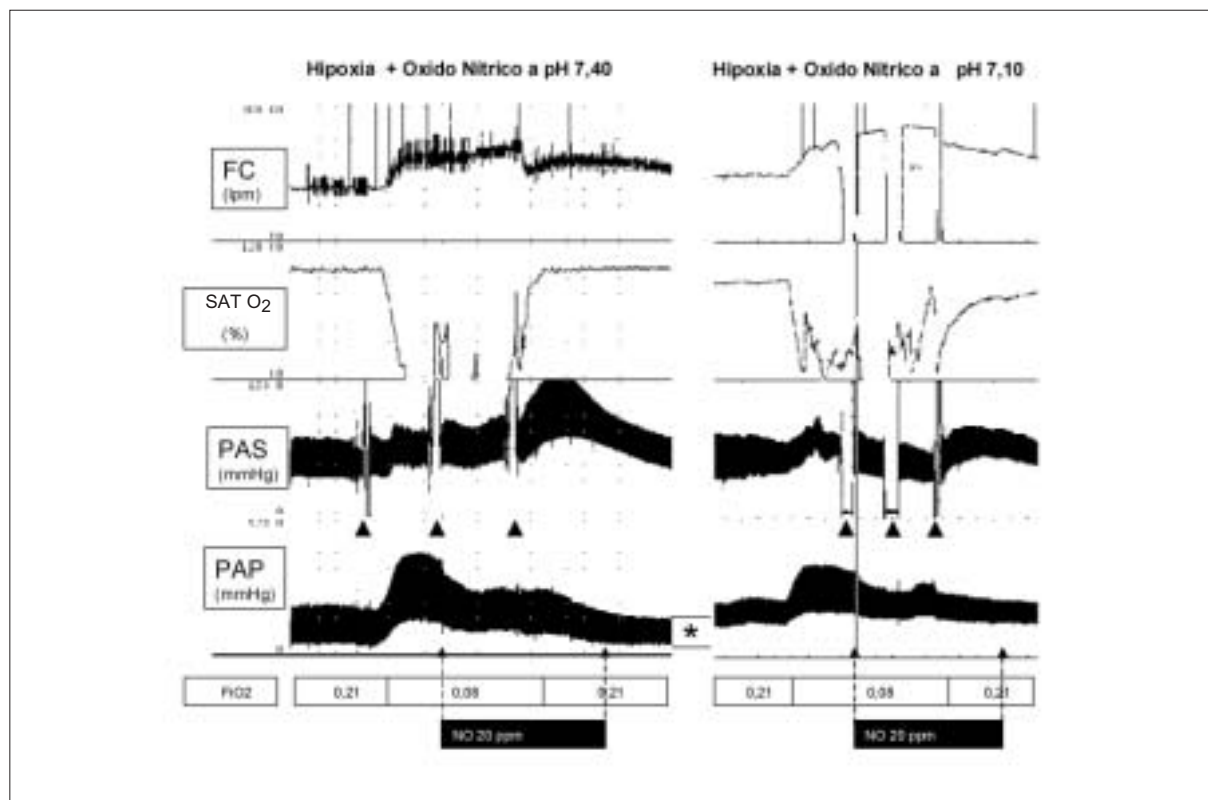


Figura 4. Monitorización de variables hemodinámicas durante la hipoxia. Se observa el aumento de la presión en la arteria pulmonar (registro inferior) que coincide con la caída de la saturación y una elevación de la FC a pH 7.40 y pH 7.10. El ONi es más efectivo en disminuir la PAP a pH 7.40 que a pH 7.10. * Señala la hipertensión pulmonar producida por la acidosis que eleva la PAP basal. La interrupción del registro de la PAS se debe a la extracción de sangre para gasometría. Cada cuadrado del registro corresponde a 1 minuto de duración. También se observa que cuando termina la hipoxia, respira $FiO_2=0,21$ se produce un descenso de la PAP a valores basales.

la acidosis. Este efecto es más marcado por debajo de pH 7,30.

El análisis de monitorizaciones individuales en diferentes experimentos muestra con claridad este fenómeno (figura 4). Ante el descenso de la $SatO_2$ al iniciar la hipoxia, tanto en pH fisiológico como en acidosis, se observa una taquicardia durante y después del evento, la PAS tiende a incrementar en pH fisiológico aunque durante la acidosis la respuesta tiende a la hipotensión. La PAP aumenta al iniciar la hipoxia independientemente del pH, sin embargo la PAP basal se encuentra ya elevada en acidosis. El ONi es efectivo en disminuir la PAP inducida por hipoxia, sin embargo la HTP inducida por la acidosis se mantiene sin cambios aun bajo tratamiento con el vasodilatador pulmonar.

Durante la reoxigenación puede observarse la disminución de la PAP a causa del efecto vasodilatador del oxígeno (en todos los rangos de pH). En la PAS a pH 7,40 hay una hipertensión sistémica inducida por la hipoxia, que en el caso del animal en acidosis es menor.

En este modelo la relación PAP/PAS sistólica en situación basal ($PaO_2 = 53 \text{ mmHg} \pm 8,5$ y $pH = 7,37 \pm 0,07$) es de $0,65 (\pm 0,3)$, es decir que la PAP alcanza el 65% del valor de la PAS. Si estudiamos esta relación en situación de hipoxia ($PaO_2 < 40 \text{ mmHg}$) se observa que los valores son muy próximos a los basales cuando se administró ONi para los grupos de pH mayores a 7.10 (figura 5). A pH menor de 7.10 la relación se hace mayor a 1 (PAP suprasistémica) sin la administración de ONi. Como se observa en la figura 4, la hipoxia asociada a la acidosis produce una hipotensión sistémica y el incremento en la arteria pulmonar es menor que a otros rangos de pH más altos, lo que produce un incremento del índice PAP/PAS.

En todos los casos, el ONi es efectivo en disminuir la PAP (IC95%: entre 60 y 100%*) para diferentes FiO_2 .

* 100% de descenso sólo ocurrió para pH 7.40.

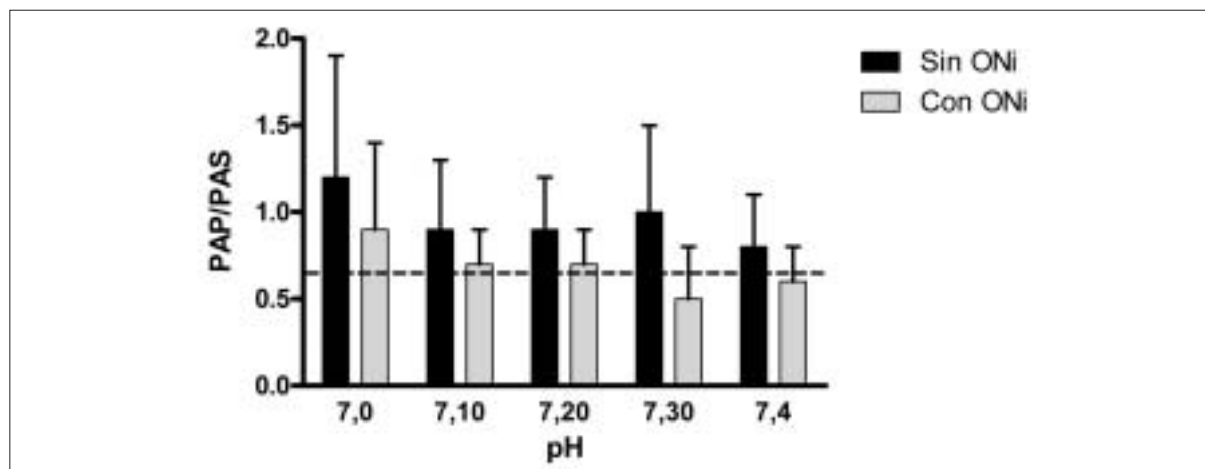


Figura 5. Relación PAP sistólica/PAS sistólica a diferente pH (en Hipoxia con pO_2 menor de 40 mmHg). Los datos se expresan en promedio y DS. La línea punteada corresponde a PAP/PAS en situación basal para este modelo.

Discusión

Tanto la acidosis metabólica como la hipoxia se han vinculado a la generación y mantenimiento de hipertensión pulmonar persistente^(3,5,6). El modelo de estudio utilizado en este trabajo permitió la evaluación de la respuesta hemodinámica frente a la hipoxia, la asociación de hipoxia y acidosis así como el tratamiento con ONi. A medida que disminuye el pH sanguíneo, la PAP basal se eleva, evidenciando la sensibilidad de la vasculatura pulmonar ante este hecho. En cada pH evaluado, al producirse un evento hipóxico, se eleva la PAP tal como demostrara Rudolph en sus experimentos realizados en corderos, en los que confirmaba el incremento de la resistencia vascular pulmonar frente al descenso de la pO_2 ⁽³⁾. En este sentido se evidenció en este modelo que tanto el descenso del pH sanguíneo como la existencia de hipoxia son fenómenos independientes que determinan un incremento de la PAP.

A partir de trabajos que mostraron la seguridad y eficacia del ONi en el tratamiento de la HTP del recién nacido, se ha considerado como la droga de elección en el manejo de esta entidad al provocar vasodilatación pulmonar selectiva⁽⁷⁻¹⁰⁾.

Dada la fisiopatología de la HTP, independientemente de la etiología, es frecuente la presencia de acidosis metabólica y eventos hipóxicos intercurrentes que agravan la situación. En particular se observó que la hemodinamia sistémica presenta una respuesta diferente a pH fisiológico que en acidosis. La PAS durante la hipoxia tiende a elevarse, lo cual en conjunto con el incremento de la FC permiten el mantenimiento de un gasto cardíaco adecuado, garantizando la perfusión tisular de tejidos nobles en situación de restricción energética⁽¹¹⁾. Sin embargo el mismo evento en acidosis no permite al

circuito sistémico mantener la PAS basal a pesar del aumento de la FC, comprometiendo así el mantenimiento del gasto cardíaco, tal como se ha descrito ante hipoxias reiteradas en corderos⁽¹²⁾.

Durante la reoxigenación también se observan fenómenos diferentes a pH fisiológico o en acidosis en este modelo experimental. A pH fisiológico la disponibilidad de oxígeno repentina y la salida de la anaerobiosis permiten que las catecolaminas circulantes eleven la PAS⁽¹³⁾ a diferencia de lo que ocurre en acidosis donde este fenómeno deprime la respuesta hipertensiva normal tal como ya ha sido descrito en otros modelos de estudio⁽¹⁴⁾.

Este modelo permitió mostrar que la PAP, para todos los pH estudiados, desciende ante la administración de ONi en caso de hipoxia. Se observó que la respuesta alcanzada es rápida, mantenida durante la inhalación del gas y suprimida una vez suspendido el mismo. En acidosis la administración de ONi desciende la PAP pero no al nivel basal como ocurre a pH fisiológico.

La HTP en el recién nacido es un fenómeno hemodinámico donde el aumento de la resistencia vascular pulmonar determina disminución del flujo sanguíneo pulmonar, hipoxemia secundaria y pasaje de sangre no oxigenada (a través del ductus arterioso y del foramen oval) al territorio sistémico. La estrategia terapéutica que se utilice debe determinar vasodilatación pulmonar sin alterar la hemodinamia sistémica a los efectos de mantener indemne la perfusión tisular. Por lo tanto es relevante la relación entre la PAP y la PAS. El ONi ha demostrado actuar de manera selectiva sobre la vasculatura pulmonar. En este modelo experimental se comprobó que para todos los pH estudiados, en hipoxia, el ONi no produce caída de la PAS, confirmado por el mantenimiento de la relación PAP/PAS próxima al valor basal. Es una

de las ventajas del ONi así como su fácil aplicación. Dado que el ONi tiene falta de respuesta, o es muy escasa en algunos casos, se requieren otros fármacos con acción vasodilatadora pulmonar. En estos casos el mantenimiento de la presión arterial sistémica es muy importante en el manejo de la HTP, porque la hipotensión sistémica puede aumentar el shunt de derecha a izquierda. Cuando se usen drogas con efecto hipotensor en la presión arterial sistémica se debe controlar estrictamente la presión arterial. En lo posible se debe hacer un registro continuo de la misma.

Un hecho a destacar en este modelo es el aumento inmediato de la presión en la arteria pulmonar (40 segundos) una vez que se produce el descenso de la FiO_2 por debajo de 0,21 (aire). Extrapolando esta información, este dato es relevante en el cuidado del recién nacido humano, debido a que señala la prioridad de mejorar la pO_2 en forma urgente una vez ocurrido un episodio de hipoxia. La corrección de acidosis y la prevención de eventos hipóxicos deberían ser una prioridad para evitar elevaciones bruscas de la PAP que pueden descompensar a un individuo en condición crítica. Aunque el ONi sea capaz de estabilizar la hemodinamia ante eventos de riesgo como por ejemplo la caída de la $SatO_2$ por debajo de 80% (habitualmente asociados a maniobras) los cuidados deben ser extremados para que no se produzcan.

En resumen, los eventos hipóxicos de breve duración en cerdos recién nacidos generan HTP y alteraciones sobre la hemodinamia sistémica. La aplicación de ONi descende la PAP eficazmente sin modificar la presión sistémica a diferentes pH. Aunque la entidad de las hipoxias sea variable la potencia del ONi se mantiene, produce vasodilatación pulmonar tanto en hipoxia como en acidosis, aunque con menor eficacia en esta última circunstancia.

Referencias bibliográficas

1. **Walsh-Sukys MC, Tyson JE, Wright LL, Bauer CR, Korones SB, Stevenson DK, et al.** Persistent pulmonary hypertension of the newborn in the era before nitric oxide: practice variation and outcomes. *Pediatrics* 2000; 105(1 Pt 1): 14-20.
2. **Baquero H, Soliz A, Neira F, Venegas ME, Sola A.** Oral sildenafil in infants with persistent pulmonary hypertension of the newborn: a pilot randomized blinded study. *Pediatrics* 2006; 117(4): 1077-83.
3. **Rudolph AM, Yuan S.** Response of the pulmonary vasculature to hypoxia and H^+ ion concentration changes. *J Clin Invest* 1966; 45(3): 399-411.
4. **Kinsella JP, Neish SR, Shaffer E, Abman SH.** Low-dose inhalation nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Lancet* 1992; 340(8823): 819-20.
5. **Gordon JB, Rehorst-Paea LA, Hoffman GM, Nelin LD.** Pulmonary vascular responses during acute and sustained respiratory alkalosis or acidosis in intact newborn piglets. *Pediatr Res* 1999; 46(6): 735-41.
6. **Brimioulle S, Lejeune P, Vachieri JL, Leeman M, Melot C, Naeije R.** Effects of acidosis and alkalosis on hypoxic pulmonary vasoconstriction in dogs. *Am J Physiol* 1990; 258(2 Pt 2): H347-53.
7. **Roberts JD, Fineman JR, Morin FC, 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(9): 605-10.
8. **Clark RH, Kueser TJ, Walker MW, Southgate WM, Huc-kaby JL, Perez JA, et al.** Low-dose nitric oxide therapy for persistent pulmonary hypertension of the newborn. Clinical Inhaled Nitric Oxide Research Group. *N Engl J Med* 2000; 342(7): 469-74.
9. **Kinsella JP, Truog WE, Walsh WF, Goldberg RN, Bancalari E, Mayock DE, et al.** Randomized, multicenter trial of inhaled nitric oxide and high-frequency oscillatory ventilation in severe, persistent pulmonary hypertension of the newborn. *J Pediatr* 1997; 131(1 Pt 1): 55-62.
10. **Finer NN, Barrington KJ.** Nitric oxide for respiratory failure in infants born at or near term. *Cochrane Database Syst Rev* 2006(4): CD000399.
11. **Moss AJ, Emmanouilides GC, Adams FH, Chuang K.** Response of Ductus Arteriosus and Pulmonary and Systemic Arterial Pressure to Changes in Oxygen Environment in Newborn Infants. *Pediatrics* 1964; 33: 937-44.
12. **Bennet L, Westgate JA, Liu YC, Wassink G, Gunn AJ.** Fetal acidosis and hypotension during repeated umbilical cord occlusions are associated with enhanced chemoreflex responses in near-term fetal sheep. *J Appl Physiol* 2005; 99(4): 1477-82.
13. **Rico AJ, Prieto-Lloret J, Gonzalez C, Rigual R.** Hypoxia and acidosis increase the secretion of catecholamines in the neonatal rat adrenal medulla: an in vitro study. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 289(6): C1417-25.
14. **Marsh JD, Margolis TI, Kim D.** Mechanism of diminished contractile response to catecholamines during acidosis. *Am J Physiol* 1988; 254(1 Pt 2): H20-7.

Correspondencia: Dr. Miguel Martell
Correo electrónico: migale@multi.com.uy