

**ESTANDARIZACIÓN E IMPLEMENTACIÓN DE UN MODELO ANIMAL
EXPERIMENTAL PARA LA EVALUACIÓN DE UN HEMOSUSTITUTO
BASADO EN PERFLUOROCARBONO**

JUAN DAVID PÉREZ CORONADO

Trabajo de Tesis

Maestría Ciencias Biomédicas

Asesor Juan Carlos Briceño Triana

Ph.D Ingeniería Biomédica

Universidad de los Andes

Facultad de Ingeniería

Departamento de Ingeniería Mecánica

Bogotá D.C.

Julio 2010

AGRADECIMIENTOS

A Dios, que me dio la vida y todo lo que tengo. Solo Él me hace brillar y hace que cada día sea más feliz.

A mi iglesia, El Lugar de su Presencia, que me ha enseñado valores y principios para toda mi vida.

A mi mamá por sus oraciones y acompañarme.

A mi tía Amparito por su comprensión y apoyo permanente.

A mis amigos por ser incondicionales y buenos consejeros.

A Juan Carlos Briceño por darme la oportunidad y ser un ejemplo.

También agradezco al Dr Jaime Cabrales quien estuvo dispuesto siempre a ayudarnos con los catéteres. Al Dr Jaime Pedraza quien nos colaboró realizando los ecocardiogramas. A Luz Stella de laboratorios Baxter que nos prestaba el monitor Vigilance. A Sergio Galvis que se quedaba conmigo hasta tarde en la sala experimental.

INDICE

1.	INFORMACION GENERAL DEL PROYECTO	5
2.	RESUMEN DEL PROYECTO	6
3.	DESCRIPCION DEL PROYECTO	7
3.1.	Pregunta de investigación a responder	7
3.2.	Planteamiento del problema y justificación	7
3.3.	Marco teórico y estado del arte	9
	3.3.1. Hemosustitutos	9
	3.3.2. Hemosustitutos basados en perfluorocarbono	10
	3.3.3. Emulsiones de PFC en Colombia	10
	3.3.4. Evaluación y Modelos preclínicos a nivel nacional.	11
3.4.	Objetivos.	12
	3.4.1 Objetivo general.	12
	3.4.2 Objetivos específicos	12
3.5.	Metodología general del proyecto	13
4.	SELECCIÓN DEL MODELO EXPERIMENTAL PARA EVALUAR LA EMULSION DE PFC	14
4.1.	Modelos experimentales para evaluar el PFC.	14
4.2.	Evaluación del modelo de choque hemorrágico.	14
	4.2.1. Modelo de choque hemorrágico.	14
	4.2.2. Resultados modelo choque hemorrágico.	15
4.3.	Utilidad del modelo de choque hemorrágico y cambio de metodología	19
4.4.	Selección de modelo de hemodilución normovolémica para disminución de aporte tisular de oxígeno (DO₂).	20
	4.4.1. Generalidades hemodilución normovolémica	20
	4.4.2. Aplicación hemodilución normovolémica	20
5.	DESARROLLO DEL MODELO EXPERIMENTAL	21
5.1.	Selección especie animal	21
5.2.	Determinación del peso del porcino	21
5.3.	Desarrollo del modelo de hemodilución normovolémica en porcinos conscientes.	21
	5.3.1. Diseño y realización de mesa de restricción	21
	5.3.2. Resumen desarrollo de experimentos.	22
	5.3.3. Desarrollo detallado de los experimentos	22
	5.3.4. Selección metodología instrumentación	25
	5.3.5. Selección tiempos de recuperación	26
	5.3.6. Selección sistema de medición gasto cardíaco (GC)	27
	5.3.7. Selección de variables a determinar	28
5.4.	Determinación hemoglobina crítica	29
5.5.	Intercambio normovolémico	31

5.5.1.	Niveles de intercambio	31
5.5.2.	Duración intercambio	31
5.5.3.	Solución de intercambio	32
5.5.4.	Hiperoxia	32
5.5.5.	Duración hemodilución extrema	32
5.5.6.	Tiempos de medición	33
6.	DETERMINACIÓN DE VALORES	35
6.1.	Criterios Inclusión	35
6.2.	Determinación de valores basales y posteriores a recuperación anestésica	35
6.3.	Determinación criterios de exclusión	39
7.	RESUMEN MODELO EXPERIMENTAL DEFINIDO	44
7.1.	Denominación modelo	44
7.2.	Resumen diseño metodológico de hemodilución propuesto	44
7.3.	Lugar de realización	45
7.4.	Animales	45
7.5.	Grupos de estudio	45
8.	PROTOCOLO MODELO EXPERIMENTAL DEFINIDO	46
8.1.	Instrumentación	46
8.1.1.	Inducción anestésica	46
8.1.2.	Cateterización de vena periférica	46
8.1.3.	Fijación del animal y monitorización no invasiva	46
8.1.4.	Vía aérea	46
8.1.5.	Mantenimiento anestesia	47
8.1.6.	Cateterización vasos centrales	47
8.1.7.	Colocación de catéter de gasto cardíaco continuo (SG-CCO)	47
8.1.8.	Medición de variables basales y cierre	48
8.1.9.	Transoperatorio (durante el procedimiento quirúrgico)	48
8.1.10.	Postoperatorio	48
8.2.	Hemodilución Normovolémica	48
8.2.1.	Colocación Mesa de restricción	48
8.2.2.	Medición de criterios de exclusión	48
8.2.3.	Variables para medir	48
8.2.4.	Toma de muestras	49
8.2.5.	Extracción y reemplazo de volumen sanguíneo (hemodilución normovolémica)	49
8.2.6.	Niveles intercambio	49
8.2.7.	Medición por 2 horas posterior al último intercambio	50
8.2.8.	Eutanasia	50
9.	IMPLEMENTACIÓN MODELO DEFINIDO	51
9.1.	Hallazgos hemodinámicos	51
9.1.1.	Frecuencia cardíaca (FC)	51

9.1.2.	Gasto cardíaco (GC)	51
9.1.3.	Presión venosa central (PVC)	53
9.1.4.	Presión arterial	53
9.1.5.	Resistencia vascular sistémica	55
9.2.	Hallazgos metabolismo O₂	56
9.2.1.	Estado acido-base	56
9.2.2	Marcadores de Hipoxia celular	57
9.3.	Comparación Modelo choque hemorrágico y hemodilución normovolémica	57
9.3.1.	Comparación Marcadores de hipoxia	57
9.3.2.	Comparación hemodinámica	59
9.3.3	Resumen comparación	61
10.	CONCLUSIONES	62
11.	BIBLIOGRAFIA	63
12.	ABREVIATURAS	

1. INFORMACION GENERAL DEL PROYECTO

TÍTULO DEL PROYECTO

Estandarización e implementación de un modelo animal experimental para la evaluación de un hemosustituto basado en perfluorocarbono.

INVESTIGADORES

Estudiante: Juan David Pérez Coronado MD. Maestría Ciencias Biomédicas
Universidad de los Andes.

Asesor: Juan Carlos Briceño, Ingeniero Mecánico, PhD Ingeniería Biomédica. Profesor Titular Universidad de los Andes.

GRUPO DE INVESTIGACIÓN

Grupo de Ingeniería Biomédica (GIB)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Hemosustitutos, Ingeniería biomédica

PALABRAS CLAVES

Modelo experimental, porcino, consciente, choque hemorrágico, hemodilución normovolémica, perfluorocarbono, hemosustituto.

2. RESUMEN DEL PROYECTO

Las principales causas de muerte en Colombia se relacionan con enfermedades cardiovasculares y trauma. Dentro del tratamiento para estas entidades frecuentemente se requiere el uso de transfusiones sanguíneas. Sin embargo, en los últimos años se han realizado esfuerzos para controlar y limitar la práctica de las transfusiones sanguíneas debido a los riesgos que este procedimiento implica. Las emulsiones de perfluorocarbono (PFC) son una de las dos principales tecnologías en desarrollo como medio de transporte de oxígeno por su gran afinidad a los gases respiratorio. Su aplicación potencial principal es mejorar el suministro de oxígeno en situaciones donde generalmente se requieren transfusiones sanguíneas y así limitar el uso de los hemoderivados. Durante los últimos años, el grupo de Ingeniería Biomédica de la Universidad de los Andes (GIB) y la Fundación Cardioinfantil (FCI) realizaron proyectos de investigación con emulsiones de PFC propias y donadas con diferentes modelos animales. Estos trabajos han presentado inconvenientes como el uso de especies pequeñas, pocas variables medidas y metodologías variables que limitan la adecuada evaluación del PFC. Actualmente, estos grupos se encuentran trabajando en un proyecto con el apoyo de Colciencias, que busca la formulación y caracterización de un hemosustituto basado en PFC que sea seguro y eficaz en el transporte de oxígeno. Esta emulsión de PFC formulada, requiere ser evaluada en un modelo experimental adecuado y en una especie mamífera mayor para determinar su efectividad in vivo como transportador de oxígeno en situaciones donde normalmente se requeriría una transfusión sanguínea. El objetivo de este trabajo fue desarrollar e implementar un modelo animal experimental que permitiera la adecuada valoración de la capacidad de transporte de oxígeno de un hemosustituto basado en PFC. Durante este proyecto, se definió la especie animal y el peso. Se realizaron experimentos en porcinos, 4 con modelo de choque hemorrágico y 23 con hemodilución normovolémica. Se realizó un análisis hemodinámico y metabólico sobre el modelo de choque hemorrágico. Durante la realización de los experimentos, se desarrollo una metodología de hemodilución normovolémica, determinándose como la metodología de inducción de déficit del aporte de oxígeno. Se evaluaron diferentes protocolos de anestesia y sistema de medición de gasto cardíaco. Se determinó el tipo de monitoría, tiempos y variables para medir, así como el número y volumen de los intercambios sanguíneos. Se determinaron los valores basales de los porcinos con anestesia general y conscientes. Se implementó el modelo desarrollado y se analizaron los principales factores que influyeron en la mortalidad para seleccionar los criterios de inclusión y exclusión de los porcinos. También se evaluaron los resultados hemodinámicos y metabólicos preliminares del modelo con solución de control (no se uso PFC).

3. DESCRIPCION DEL PROYECTO

3.1. Pregunta de investigación a responder

¿Cual es el modelo experimental animal más adecuado para la evaluación del transporte de oxígeno de una emulsión de perfluorocarbono y como se debe implementar?

3.2. Planteamiento del problema y justificación

Trauma y hemorragia

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) anualmente fallecen aproximadamente 5 millones de personas por causas atribuibles al trauma, lo que corresponde a 9% de la mortalidad total anual [1]. Cerca del 90% de las muertes por trauma ocurren en países como el nuestro por causas atribuibles a la violencia [2], teniendo en Colombia una tasa de mortalidad secundaria al trauma de 63,6 por cada 100.000 habitantes en el 2007 según el Instituto Nacional de medicina Legal [3]. La hemorragia es la mayor causa de mortalidad temprana en los pacientes con trauma que logran llegar al hospital con un 30% a 40% de las muertes ocurridas en la primera hora [4]. La hemorragia, también es la segunda causa de muerte global en trauma, después de las lesiones neurológicas. El 30% de las muertes ocurren en las siguientes 2 horas por lesiones internas de órganos principales [4, 5]. Además, la hemorragia aumenta la probabilidad de muerte en los pacientes con lesiones neurológicas graves. La hemorragia es la causa del 80% de las muertes en los quirófanos y en 50% de las muertes durante las primeras 24 horas después del trauma [4, 5]. Después del primer día, pocas muertes se deben directamente a la hemorragia; sin embargo, el choque hemorrágico temprano es un factor de riesgo para complicaciones tardías. Se estima que en los casos de trauma que tuvieron choque hemorrágico y sobrevivieron, se presenta disfunción multiorgánica en 24% y sepsis en 39%, con el consiguiente riesgo de aumento del tiempo de hospitalización y de mortalidad [4, 5]. No obstante, a diferencia del trauma grave del sistema nervioso central que es la primera causa de mortalidad prehospitalaria y pocas posibilidades de intervención temprana, el choque por hemorragia (causante del 40% de las muertes por trauma) es más susceptible de permitir maniobras para reducir la morbilidad y la mortalidad [4]. Ahora, si el daño en el sistema nervioso central coexiste con choque hemorrágico (como sucede hasta en 25% de los casos), la probabilidad de muerte se aumenta de 2 a 3 veces [4]. Todos estos datos demuestran la importancia del control y manejo temprano de la hemorragia en el paciente traumatizado. Por esta razón, para la mayoría de los pacientes politraumatizados que presentan estado de choque, el manejo se establece como si el paciente tuviera un choque hemorrágico/hipovolémico (excepto en casos con etiología diferente identificada) y el principio básico del tratamiento ha sido la identificación, el control del sitio de hemorragia y el reemplazo de la pérdida de volumen [6, 7]. Hay recomendaciones, que sugieren que si se puede llegar al hospital en menos de 15 minutos, es preferible llevar al paciente directamente a salas de cirugía e implementar allí el control de hemorragia, simultáneamente las medidas de soporte [6].

Desafortunadamente, existen múltiples dificultades logísticas en el territorio nacional y en especial en las zonas de combate, para el oportuno traslado de los pacientes traumatizados a las instituciones de salud con los recursos adecuados. Según un estudio reciente, en Colombia la mayoría de los pacientes con hemorragia por trauma (54%) llegan entre 1 y 3 horas después del trauma [5]. Es por esto que cobran vital importancia las medidas terapéuticas de soporte (dentro de las que se encuentran la reposición del volumen perdido) que están encaminadas a proveer las condiciones óptimas de supervivencia, mientras se logra el control de la causa. Según los protocolos del manual ATLS (Advanced Trauma Life Support), el grado de hemorragia se basa en el porcentaje de pérdida de volumen sanguíneo y se clasifica en 4 estados [8]. Generalmente, en la reanimación inicial utilizan soluciones (cristaloides, coloides) que permitan mantener un adecuado volumen intravascular [7] [8]. Este tipo de soluciones permite una expansión intravascular transitoria [6]. En casos donde la reanimación con volumen no es suficiente para mejorar el transporte de oxígeno del volumen intravascular (choque severo, estado 3 y 4) se recomienda el uso de transfusiones sanguíneas [6].

Además del trauma, las enfermedades cardiovasculares también se encuentran dentro de las principales causas de muerte en Colombia. Según el DANE y el Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses para el año 2005, las patologías isquémicas cardíacas son la primera causa de mortalidad general, seguida por el homicidio y las lesiones por accidentes de tránsito en séptimo lugar [3].

Trasfusiones sanguíneas

Las transfusiones sanguíneas, específicamente las de glóbulos rojos, se utilizan para reemplazar la sangre perdida en las situaciones anteriormente descritas; la hemorragia por trauma, durante una cirugía mayor y en casos de anemia severa [9]. Cada año, casi 5 millones de estadounidenses necesitan de una transfusión de glóbulos rojos, el 8% de los pacientes traumatizados graves RBC recibió, el 35% de todos los pacientes de cirugía del corazón tienen una transfusión y 30 millones de unidades fueron transfundir anualmente en todo el mundo [10]. Además, el Ejército requiere transfusión de 5 veces la observada en civiles la práctica [11].

A pesar de su amplio uso, transfusiones de glóbulos rojos tienen problemas como reacciones alérgicas, contaminación bacteriana, los virus y las enfermedades infecciosas, reacciones inmunes, daños a algunos órganos, la necesidad de determinadas temperatura de almacenamiento y suministro inadecuado en el momento de demandas inesperadas [9, 11, 12]. Como una posible solución a estos problemas surgen los hemosustitutos.

Utilidad emulsiones de PFC

Las emulsiones de perfluorocarbono (PFCs) son una de las dos principales tecnologías en desarrollo como hemosustitutos, por su capacidad de transporte de oxígeno por su gran afinidad a los gases respiratorios. Su aplicación potencial principal es mejorar el

suministro de oxígeno en situaciones donde generalmente se requieren transfusiones sanguíneas y así limitar el uso de los hemoderivados.

Los PFCs son sustancias capaces de disolver cantidades significativas de gases como el oxígeno y el dióxido de carbono, además de trasportarlos y liberarlos eficazmente por una diferencia de presiones [9]. Un hemosustituto adecuado, debe transportar oxígeno a los tejidos en situaciones donde el aporte de oxígeno esté comprometido como en una cirugía, un estado anémico severo o en choque hemorrágico. Si se puede demostrar su efectividad en estas situaciones, el uso de hemosustitutos para reanimación será una alternativa a las técnicas empleadas convencionalmente que usan expansores de volumen o transfusiones sanguíneas.

Teniendo en cuenta los escenarios que representan un potencial uso para estas soluciones transportadoras de oxígeno, se deben realizar modelos experimentales que simulen estas situaciones y así poder evaluar el desempeño in vivo de los PFCs. El grupo de Ingeniería Biomédica de la Universidad de los Andes (GIB) y la Fundación Cardioinfantil (FCI) han realizado trabajos de investigación sobre emulsiones de PFC con diferentes modelos experimentales en lepóridos [13] y murinos [14,15]. Sin embargo, en estos trabajos se han empleado metodologías con múltiples inconvenientes como la utilización de especies pequeñas (murinos) o especies con incapacidad para eliminar el PFC (lepóridos), con pocos niveles de intercambio en hemodilución normovolémica, cortos tiempos de evaluación y medición de pocas variables como hematocrito y diferencia arteriovenosa de oxígeno [14]. Es por eso, que antes de evaluar el PFC in vivo, se debe contar con una modeo experimental estandarizado donde se seleccione de manera adecuada la especie animal y la metodología empleada que permita una mejor valoración del impacto hemodinámico y metabólico de estas soluciones.

El objetivo de este trabajo es desarrollar e implementar una metodología que permita determinar la capacidad de transporte de oxígeno in vivo mediante un modelo animal experimental y así evaluar su uso potencial en alteraciones donde existe un déficit de oxígeno. Esta metodología, también debe poder determinar el impacto de estas soluciones frente a las soluciones de reanimación empleados en la actualidad.

3.3. Marco teórico y estado del arte

3.3.1. Hemosustitutos

Aunque a estas soluciones se les conoce como hemosustitutos, estas no reemplazan todas las funciones de la sangre. Su función principal potencial es la de ser transportador de oxígeno [9, 12]. Esta solución, debe ser capaz de captar oxígeno en los capilares pulmonares, trasportarlos y liberarlo en los tejidos de manera eficaz, así como de obtener dióxido de carbono proveniente del metabolismo y trasportarlo desde los tejidos a la circulación pulmonar [9,12].

La clasificación de estas sustancias denominadas hemosustitutos, depende del mecanismo de transporte del oxígeno, existiendo dos grupos principales: a) los productos derivados de hemoglobina modificada proveniente de diversas fuentes en donde el oxígeno está unido de forma covalente al transportador, y b) las emulsiones de PFC que aprovechan su capacidad para disolver gases y que son inertes biológicamente [12]. Estos últimos se conocen como hemosustitutos basados en perfluorocarbono (PFC-OCs).

3.3.2. Hemosustitutos basados en perfluorocarbono.

Los perfluorocarbonos (PFCs) son una de las dos principales tecnologías en desarrollo como medios de transporte de oxígeno [9,12]. Los PFCs son sustancias orgánicas sintéticas con gran afinidad a los gases respiratorios y por su naturaleza apolar se deben emulsificar para su uso intravascular. Se diferencian de las preparaciones de hemoglobina por su mecanismo de transporte de oxígeno, en donde el oxígeno está disuelto en el transportador [9,12]. Su utilidad para esta aplicación surgió con el experimento de Clark y Gollan, quienes encontraron que ratones capaces de sobrevivir luego de ser sumergidos en PFCs oxigenado [16]. Los PFC son apolares, por lo que se deben emulsificar para su uso intravascular [12]. Por eso, es importante conocer que las propiedades de los componentes empleados que afectan el desempeño in vivo de los PFC. Esto es indispensable para una adecuada formulación de la emulsión [12].

Dentro de las aplicaciones potenciales de los PFCs se encuentran las derivadas de su función como transportador de oxígeno, en las cuales está su uso como agente economizador de transfusiones, uso en angioplastias coronarias, disminución de la lesión por reperfusión y protección de órganos durante el bypass cardiopulmonar o trasplantes [9,12]. También se ha investigado su posible utilidad en técnicas radiológicas para la visualización de tejidos con poca vascularización, como coadyuvante de quimioterapia, uso en ventilación líquida para manejo de síndrome de dificultad respiratorio agudo y en manejo del embolismo gaseoso arterial y venosa debido a su capacidad de solubilizar gases no solubles en el plasma como el nitrógeno y el oxígeno [9]. Sin embargo su aplicación potencial principal sigue siendo mejorar el suministro de oxígeno en situaciones donde generalmente se requieren transfusiones sanguíneas y así limitar el uso de los hemoderivados [9]. Es por esto que la reanimación con hemosustitutos es una alternativa a las técnicas empleadas convencionalmente que usan expansores de volumen o transfusiones sanguíneas.

3.3.3. Emulsiones de PFC en Colombia.

El grupo de investigación en hemosustitutos de la FCI y el Grupo de Ingeniería Biomédica de la Universidad de los Andes trabajan desde hace más de 1 década en evaluación y desarrollo de PFCOCs. Inicialmente, se han evaluado emulsiones donadas en modelos animales de bypass cardiopulmonar (Briceño, 1999), shock hemorrágico (Briceño, 1997), hemodilución normovolémica (Rincón, 1998) y toxicidad (Vasquez, 2001). En el año 2000 y 2004, luego de construir una planta piloto de hemosustitutos

con el apoyo de Colciencias, se han venido desarrollando y evaluando emulsiones propias en las que se han definido diferentes formulaciones [17,18].

3.3.4. Evaluación y Modelos preclínicos a nivel nacional.

Los hemosustitutos basados en perfluorocarbonos (PFCOCs) que se han probado clínicamente han fracasado porque no se tiene conocimiento claro de los efectos fisiológicos que causan; sus propiedades; y porque el paso del modelo animal al uso clínico ha sido apresurado. Es por eso, que antes de llegar a la fase de experimentación en humanos es fundamental realizar modelos animales que permitan tener una primera aproximación fisiológica del desempeño del producto. Además, los modelos animales ofrecen acceso a los diferentes tejidos y órganos que no pueden ser estudiados en humanos [19].

En los últimos años, el grupo de Ingeniería Biomédica (GIB) de la Universidad de los Andes y la Fundación Cardioinfantil (FCI) han realizado trabajos de investigación sobre emulsiones de PFC con diferentes modelos experimentales. Se ha trabajado en lepóridos con modelos de choque hemorrágico [20] y murinos con hemodilución normovolémica [14,15]. Las metodologías empleadas han presentado múltiples inconvenientes como la utilización de especies pequeñas (murinos), pocos niveles de intercambio en hemodilución normovolémica, cortos tiempos de evaluación y medición de pocas variables como hematocrito y diferencia arteriovenosa de oxígeno [14]. El trabajo de hemodilución normovolémica en murinos presentó varias complicaciones técnicas principalmente por el tamaño de animal que dificultaba las condiciones de la cirugía [14].

Las pruebas experimentales en modelos animales se hicieron inicialmente con emulsiones donadas (Fluosol) y la evaluación de la emulsión propia solo se han realizado en especies pequeñas (murinos). En el 2008, se desarrolló una metodología para evaluar los PFC en modelos animales más grandes (choque hemorrágico y reanimación hipotensiva en porcinos), pero esta no se implementó ni se utilizó la emulsión de PFC [21].

En el último año el Laboratorio de Hemosustitutos se encuentra realizando un proyecto (Colciencias No.697-2008) denominado “Formulación, caracterización y evaluación de hemosustitutos basados en perfluorocarbono” cuyo objetivo es desarrollar emulsiones perfluorocarbono que sean eficaces y seguras para el transporte de oxígeno.

Actualmente, el grupo de investigación se encuentra trabajando en el proyecto “Formulación, caracterización y evaluación de hemosustitutos basados en Perfluorocarbono” con el apoyo de Colciencias. Uno de los objetivos del proyecto es evaluar la eficacia en el transporte de oxígeno de la emulsión formulada, pero para evaluar la emulsión in vivo se requieren implementar modelos experimentales que simulen y reproduzcan las situaciones donde normalmente se requeriría una transfusión sanguínea por un déficit en el aporte tisular de oxígeno y donde el PFC tiene un uso potencial. Estos modelos experimentales deben contar con una metodología

estandarizada que permitan una adecuada valoración del impacto hemodinámico y metabólico de la emulsión de PFC en estas alteraciones, y así compararlas con las soluciones de reanimación convencionales. Debido a que anteriormente se han implementado varios modelos en diferentes especies, con animales pequeños, diferentes metodologías y con medición de escasas variables, se requiere definir, desarrollar y estandarizar un modelo experimental que permita la evaluación más adecuada como transportador de oxígeno de la emulsión desarrollada.

El objetivo de este trabajo es implementar una metodología experimental animal para determinar la capacidad de transporte de oxígeno in vivo y así evaluar su uso potencial en alteraciones donde existe un déficit de oxígeno.

3.4. Objetivos.

3.4.1 Objetivo general.

Estandarizar e implementar un modelo animal experimental para una adecuada evaluación del transporte de oxígeno de un hemosustituto basado en perfluorocarbono.

3.4.2 Objetivos específicos.

- Determinar una especie animal adecuada para implementar un modelo experimental que permita la evaluación del hemosustituto.
- Establecer el método de inducción de déficit de oxígeno más adecuado para la evaluación in vivo del hemosustituto.
- Establecer una metodología anestésica y quirúrgica que permita la colocación de dispositivos de medición al animal, sin dolor, sin movimiento y con estabilidad hemodinámica y respiratoria.
- Determinar las variables hemodinámicas y metabólicas que deben ser medidas para la evaluación del hemosustituto.
- Establecer un procedimiento estándar que permita la medición de las diferentes variables hemodinámicas y metabólicas, y que también permita obtener las respectivas muestras de sanguíneas.
- Determinar los valores normales de cada variable para el animal seleccionado.
- Definir los criterios de inclusión y exclusión para los animales sometidos al modelo experimental.
- Establecer una metodología que permita la comparación hemodinámica y metabólica entre la emulsión de perfluorocarbono y una solución de control.

3.5. Metodología general del proyecto

Durante este proyecto se realizaron múltiples experimentos con 2 modelos animales; choque hemorrágico (No 4) y hemodilución normovolémica (No 23). Se evaluaron y compararon las 2 metodologías, se definió cuál es método más apropiado para la inducción de déficit del aporte de oxígeno y cuál es el escenario más adecuado para evaluar la capacidad de transporte de oxígeno del PFC solicitado por el proyecto de Colciencias. Durante la realización y desarrollo de los experimentos se desarrolló y estandarizó el modelo animal experimental, teniendo definidos: especie y peso de los animales, protocolo anestésico, tipo de monitoría, sistema de medición de gasto cardíaco, tiempos y variables de medición. Al implementar el modelo, se determinaron valores basales de los animales conscientes y anestesiados, así como los criterios de exclusión e inclusión para la evaluación del PFC. Posterior a las definiciones, se evaluaron los resultados hemodinámicas y metabólicos del modelo experimental aplicando solución de control.

4. SELECCIÓN DEL MODELO EXPERIMENTAL PARA EVALUAR LA EMULSION DE PFC

4.1. Modelos experimentales para evaluar el PFC.

El criterio para seleccionar un modelo experimental ideal para la evaluación del perfluorocarbono, es que tanto este modelo reproduzca las situaciones y secuelas que se encuentran normalmente en condiciones de aporte de oxígeno deficiente [19]. Es por eso, que esta metodología debe producir una disminución en el aporte de oxígeno (DO_2) que lleva a alteración de la perfusión tisular. Esto se evidencia con marcadores de alteración del metabolismo de oxígeno (O_2). Además, esto debe ocurrir en un escenario reproducible. Por otro lado, las variables a medir deben ser lo más controladas posible para que los puntos finales de evaluación sean interpretados adecuadamente [19].

Dos de las situaciones principales donde tendrían un potencial uso los PFCS son el choque hemorrágico y la anemia severa, que resultan en un ineficiente DO_2 [9].

Como recientemente el GIB desarrolló un modelo de choque hemorrágico en porcinos se inició con la evaluación de este modelo.

4.2. Evaluación del modelo de choque hemorrágico.

4.2.1. Modelo de choque hemorrágico.

En 2008, los doctores Leonardo Salazar y Diana Pachón del GIB, trabajaron en la elaboración y estandarización de un modelo de choque hemorrágico y reanimación hipotensiva en porcinos. En este trabajo se establecieron el peso del porcino, los métodos y tiempos de medición, así como los criterios, metodología de choque y reanimación [21].

- Se da anestesia general para la inserción de los diferentes dispositivos de medición.
- Se realiza monitorización invasiva de presión arterial, presión venosa central.
- La medición del gasto cardíaco se realiza con flujómetro ultrasónico a nivel de la aorta ascendente requiriendo una esternotomía
- Se induce de manera controlada el estado de choque hemorrágico mediante la extracción de sangre por el acceso venoso central hasta lograr ciertos parámetros hemodinámicos definidos. Posteriormente se planteaba la reanimación con una solución determinada (solución de control y emulsión de PFC).

Se realizaron 4 experimentos en porcinos de 5-7 kg con esta metodología. Se analizaron los resultados de estos experimentos y del trabajo previo de grado de Diana Pachón

4.2.2. Resultados modelo choque hemorrágico.

4.2.2.1. Resultados hemodinámicos.

Los mecanismos fisiológicos de respuesta ante un sangrado, son aumentar la frecuencia cardíaca (FC) y aumentar la resistencia vascular sistémica (RVS) con el fin de mantener la presión arterial y así perfundir los órganos vitales [6]. Sin embargo, en este modelo observamos que aunque hay un aumento de la RVS (figura 1), la presión arterial media o de perfusión (PAM) no se mantiene y disminuye respecto al valor basal (figura 2). La PAM y FC bajas (figura 3), nos indican que el estado de hipoperfusión que se indujo con la hemorragia, es tan severo que no puede ser compensado por los mecanismos fisiológicos de respuesta.

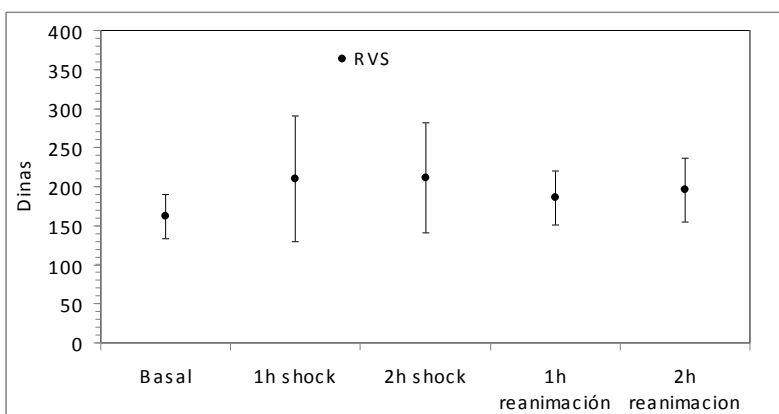


Figura 1. Resistencia vascular periférica respecto al tiempo. Modelo choque hemorrágico. Basal, medición basal; 1h y 2 h choque, 1 y 2 horas de choque; 1h y 2h, 1 y 2 horas de reanimación. Los valores son medias +/- desviación estándar.

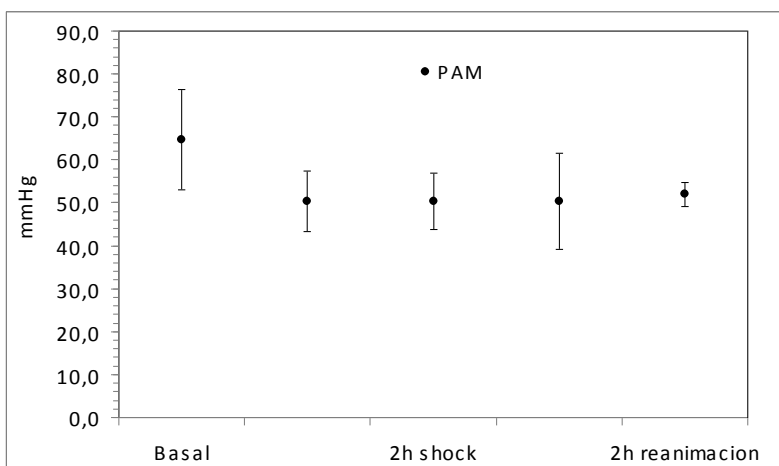


Figura 2. Presión arterial media respecto al tiempo. Modelo choque hemorrágico. Basal, medición basal; 1h y 2 h choque, 1 y 2 horas de choque; 1h y 2h, 1 y 2 horas de reanimación. Los valores son medias +/- desviación estándar.

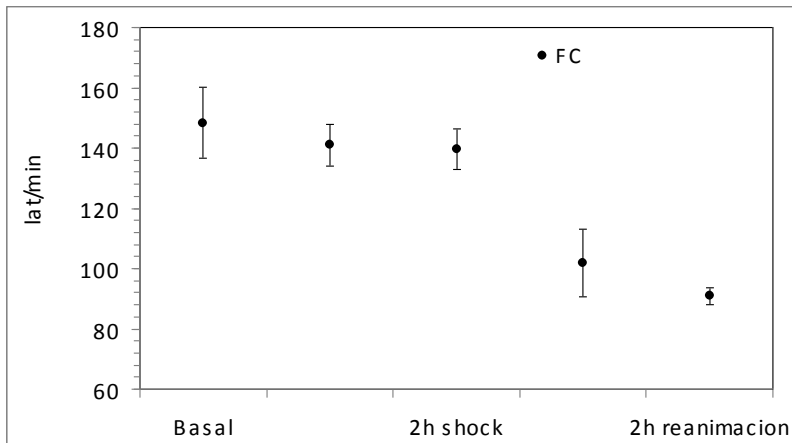


Figura 3. Frecuencia cardíaca respecto al tiempo. Modelo choque hemorrágico. Basal, medición basal; 1h y 2 h choque, 1 y 2 horas de choque; 1h y 2h, 1 y 2 horas de reanimación. Los valores son medias +/- desviación estándar.

El objetivo hemodinámico del modelo es disminuir el gasto cardíaco (GC) para establecer el choque hemorrágico como se observa en la Figura 4.

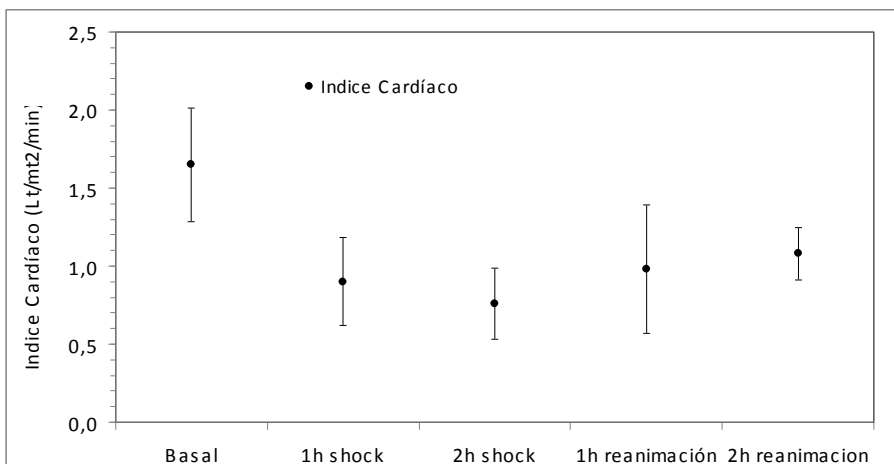


Figura 4. Índice cardíaco (gasto cardíaco/m²) respecto al tiempo. Modelo choque hemorrágico. Basal, medición basal; 1h y 2 h choque, 1 y 2 horas de choque; 1h y 2h, 1 y 2 horas de reanimación. Los valores son medias +/- desviación estándar.

4.2.2.2. Resultados metabolismo de oxígeno.

Las figuras 5 a 8 nos evidencian el estado de hipoperfusión producido por el sangrado. En la figura 5 se muestra la disminución del consumo de oxígeno (VO₂) dependiente del aporte (DO₂), lo cual se presenta una vez superadas las reservas de oxígeno [6].

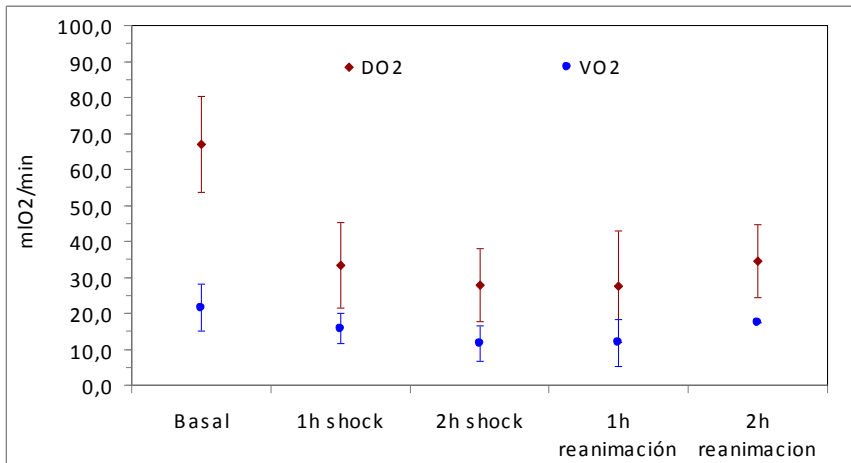


Figura 5. Relación entre aporte (DO₂) y consumo (VO₂) de oxígeno respecto al tiempo. Modelo choque hemorrágico. Basal, medición basal; 1h y 2 h choque, 1 y 2 horas de choque; 1h y 2h, 1 y 2 horas de reanimación. Los valores son medias +/- desviación estándar.

Las figuras 6-8 indican acidosis metabólica secundaria a hipoperfusión.

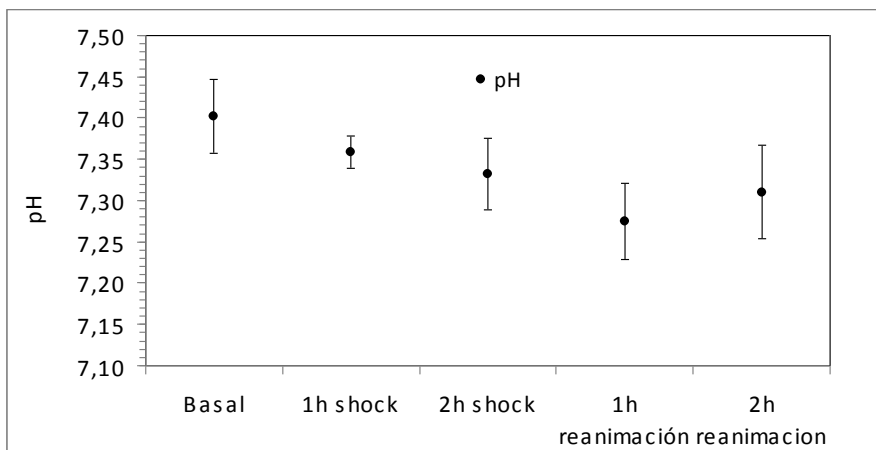


Figura 6. pH respecto al tiempo. Modelo choque hemorrágico. Basal, medición basal; 1h y 2 h choque, 1 y 2 horas de choque; 1h y 2h, 1 y 2 horas de reanimación. Los valores son medias +/- desviación estándar.

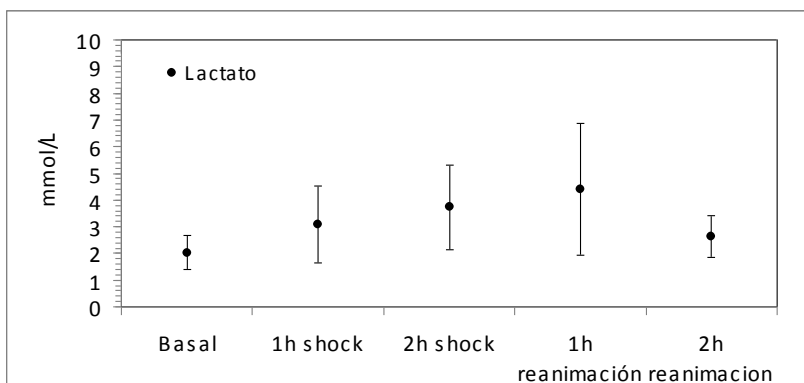


Figura 7. Lactato respecto al tiempo. Modelo choque hemorrágico. Basal, medición basal; 1h y 2 h choque, 1 y 2 horas de choque; 1h y 2h, 1 y 2 horas de reanimación. Los valores son medias +/- desviación estándar.

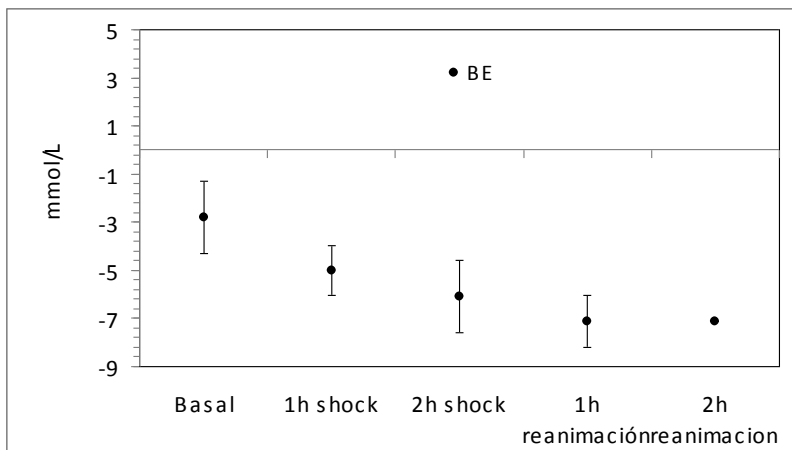


Figura 8. Base exceso respecto al tiempo. Modelo choque hemorrágico. Basal, medición basal; 1h y 2 h choque, 1 y 2 horas de choque; 1h y 2h, 1 y 2 horas de reanimación. Los valores son medias +/- desviación estándar.

4.2.2.3. Influencia del Gasto cardíaco sobre el DO_2 .

El cálculo del DO_2 , se hace a partir del gasto cardíaco (GC) y contenido arterial de oxígeno (CaO_2) [6].

$DO_2 = GC \times CaO_2$, siendo:

$$CaO_2 = (Hb \times SatO_2 \times 1,34) \times (PaO_2 \times 0,003).$$

Hb=Hemoglobina (g/dl), $SatO_2$ = saturación de la hemoglobina (%).

Como podemos observar en la figura 9, a medida que el gasto cardíaco disminuye, el aporte de oxígeno también. Es decir, la caída de DO_2 se atribuye tanto a disminución de la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre (por pérdida de glóbulos rojos-hemoglobina con disminución del contenido arterial de oxígeno) como por disminución del volumen intravascular. La influencia del bajo GC sobre el bajo DO_2 , hace que en el momento de evaluar la eficacia del transporte de O_2 con el PFC, esta no de buenos resultados por la disminución del volumen intravascular y no por falla en el contenido arterial de oxígeno.

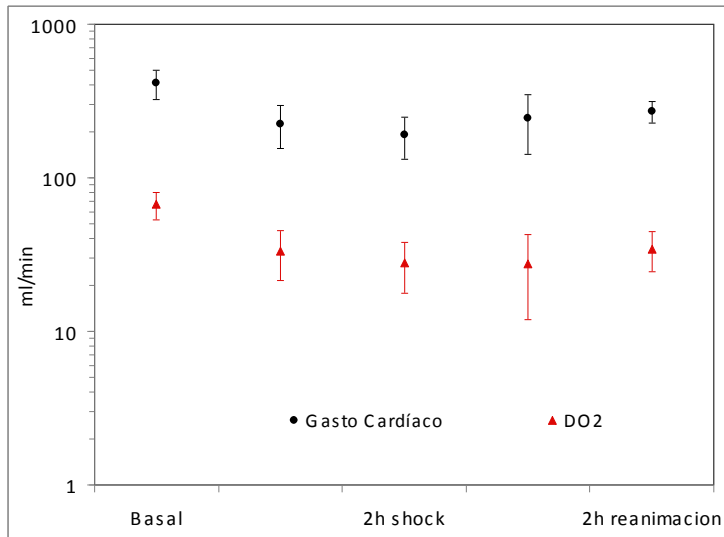


Figura 9. Relación gasto cardíaco y aporte de oxígeno (DO₂) respecto al tiempo. Modelo choque hemorrágico. Basal, medición basal; 1h y 2 h choque, 1 y 2 horas de choque; 1h y 2h, 1 y 2 horas de reanimación. Los valores son medias +/- desviación estándar.

4.3. Utilidad del modelo de choque hemorrágico y cambio de metodología.

Como se mostró anteriormente, el modelo de choque hemorrágico presenta un estado de hipoperfusión tisular que puede ser útil para determinar la eficacia del PFC. Sin embargo, presenta varios factores que interfieren en los resultados del modelo; la influencia del bajo gasto cardíaco en el DO₂ (descrito anteriormente) y la anestesia general.

La medición del gasto cardíaco a través de un flujómetro ultrasónico sobre la aorta requería esternotomía y mantener anestesiado el porcino para realizar las mediciones y toma de muestras. Es bien conocido que la anestesia general, produce cambios hemodinámicos y en el consumo de oxígeno [19].

Tanto por la anestesia general y el bajo gasto cardíaco se determinó que este modelo de choque hemorrágico es limitado para la adecuada determinación de la eficacia en el transporte de oxígeno del PFC in vivo. También se requería cambiar de sistema de medición de gasto cardíaco por uno menos invasivo (no necesidad de anestesia para la medición).

Se decidió cambiar de metodología de choque hemorrágico y desarrollar una que eliminara la variable de la pérdida de volumen sanguíneo y en donde se comprometiera la capacidad transportadora de oxígeno de la sangre de manera más controlada y por una sola variable.

4.4. Selección de modelo de hemodilución normovolémica para disminución de aporte tisular de oxígeno (DO₂).

4.4.1. Generalidades hemodilución normovolémica.

Se determinó desarrollar la metodología basado en el procedimiento de hemodilución normovolémica (HN) realizado para cirugías programadas. La HN surge como una alternativa para las transfusiones alogénicas durante un procedimiento quirúrgico electivo. Consiste en la recolección de un volumen determinado de sangre propia para ser transfundido posterior al procedimiento quirúrgico, manteniendo el volumen sanguíneo a través de la infusión de un fluido acelular como los cristaloides o los coloides. La razón del uso de la hemodilución, es disminuir el hematocrito antes de la pérdida de sangre, para que en el momento del sangrado sean menos las células rojas que se pierden. Durante el proceso de hemodilución, el volumen sanguíneo es reemplazado con una solución intravenosa. Si la reposición se hace con cristaloides, se administran 3ml de cristaloides por cada ml de sangre extraída [22].

4.4.2. Aplicación hemodilución normovolémica.

Con un modelo de hemodilución normovolémica se induce un estado de anemia, disminuyendo la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre por disminución del contenido arterial de oxígeno, pero alterando en menor proporción el volumen sanguíneo [22]. Este modelo nos presenta un escenario ideal para la evaluación in vivo del transporte de oxígeno por el perfluorocarbono.

5. DESARROLLO DEL MODELO EXPERIMENTAL

5.1. Selección especie animal.

Es muy importante la selección de la especie animal. Hay estudios representativos de diferentes modelos en varias especies animales, muchas realizadas en roedores por su rápida reproducción, bajo costo y la capacidad para modificar los antecedentes genéticos [19]. Sin embargo, la desventaja de los roedores es su pequeño tamaño, que produce dificultad en la instrumentación y su escaso volumen sanguíneo que hace la extracción de sangre sin producir efectos deletéreos no controlados sea técnicamente difícil [19]. Por lo anterior, parece apropiado realizar la evaluación del perfluorocarbono en una especie animal mayor a las empleadas anteriormente.

Se contemplaron varias especies animales para la realización de los experimentos. Aunque proyectos anteriores se habían realizado en murinos, esta especie se descartó por su pequeño tamaño y difícil manipulación. Los lepóridos, también se descartaron por los problemas reportados en la eliminación de PFC a través de la membrana alveolar. Por otro lado, los caninos presentan dificultad para conseguirse en raza y condiciones similares. La especie porcina se seleccionó por su adecuado tamaño, fácil obtención en condiciones similares, igual raza y peso.

5.2. Determinación del peso del porcino.

La determinación del peso de los porcinos se hizo con base en el mínimo posible para disminuir los costos en PFC pero que permitiera el uso del sistema de medición de gasto cardíaco seleccionado. Inicialmente se utilizaron porcinos de 5-7 kg y un flujómetro ultrasónico perivascular para gasto cardíaco.

5.3. Desarrollo del modelo de hemodilución normovolémica en porcinos conscientes.

5.3.1. Diseño y realización de mesa de restricción.

Como se mencionó anteriormente, la anestesia general tiene importantes efectos hemodinámicos y metabólicos. Se decidió desarrollar el modelo experimental en porcinos conscientes para que las variables medidas sean lo más cercanas a la realidad posible.

La realización de los experimentos en un animal consciente requiere de la adecuada inmovilización del animal que garantice la adecuada medición de variables y la integridad de los elementos de medición durante el procedimiento.

Se diseñó y construyó una mesa de restricción para que luego de la instrumentación (colocación de sistemas de medición) se realice la hemodilución y las diferentes mediciones con los porcinos conscientes (imagen 1).



Imagen 1. Mesa de restricción para realizar el procedimiento consciente.

5.3.2 Resumen desarrollo de experimentos.

Se realizaron 23 experimentos en total, para el desarrollo e implementación de la metodología. Durante la realización de los experimentos se definieron: peso de los porcinos, protocolo anestésico, tipo de monitoría y catéteres, sistema de medición de gasto cardíaco, así como los tiempos y variables de medición. También se determinó el nivel de hemoglobina crítica para el uso potencial de PFC, la cantidad y duración de los intercambios normovolémicos y el tiempo de evaluación posterior al último intercambio.

La figura 10 muestra un resumen de los experimentos.

5.3.3. Desarrollo detallado de los experimentos.

A continuación se muestran los hallazgos más importantes de cada experimento.

En los experimentos 1-3 y 11-23 se realizó la hemodilución 2 horas después de la instrumentación (colocación de instrumentos de medición). Porcinos de 5-7kg.

Porcino N1: Se realizan 3 hemodiluciones. Valores de Hb y Hcto incompletos por uso de tubos inadecuados. Anestesia con sevoflorane.

Porcino N2: Se usa dexmedetomidina y sevoflurane para la anestesia general con instrumentación y recuperación adecuadas. Por cuestión de tiempo se realiza 1 hemodilución.

Porcino N3: Se prueba con línea arterial en carótida común derecha con catéter arterial 4cm calibre 22. Se presenta daño de extremo proximal. Se usa catéter bilumen con adecuado resultado. El animal se encuentra hipercápnico por baja ventilación durante la anestesia. Durante la 3ra hemodilución fallece.

DESARROLLO METODOLOGÍA HEMODILUCIÓN												
Porcino	Peso	Tiempos			Anestesia		Recuperación	Gasto cardíaco	Técnica quirúrgica	Fase	Muerte / Complicación	
1	5-7 kg	Basal	Hemodilución I1-I4			Inhalada	Inhalada	2 horas	ECO	Disección	I3	Eutanasia
2			-	Eutanasia								
3			I2	Hemodilución								
4			-	Eutanasia-Daño catéter								
5			I4	Eutanasia								
6			-	Eutanasia-Daño catéter								
7			-	Eutanasia-Daño catéter								
8			I4	Eutanasia								
9			-	Eutanasia-Daño catéter								
10			1 semana	2h	Eutanasia							
11			-	Eutanasia								
12	11-17 kg	I0	I1-I4	1h-2h	Inhalada	2 horas	CCO	Punción	-	Hemorragia cat. arterial		
13									-	Lesión Cava superior		
14									-	Lesión ventrículo		
15									-	Fibrilación ventricular		
16									I4	Hemodilución		
17	2h	Hemodilución										
18	I2	IAM										
19	2h	Eutanasia										
20	1h-3h	3h	Eutanasia									
21	1h-2h	I3	Hemodilución									
22	2h	Hemodilución										
23	2h	Eutanasia										

Figura 10. Resumen del desarrollo de los experimentos. CCO, gasto cardíaco continuo; ECO, ecocardiograma; Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4; 3h, 3 horas después del intercambio 4.

En los experimentos 4-10 luego de realizada la instrumentación (colocación de catéteres) se realizó la hemodilución 48 horas después. Los porcinos estuvieron hospitalizados en la Clínica veterinaria de la Universidad de la Salle. Se prueba la medición de gasto cardíaco con Ecocardiografía transtorácica. Porcinos de 5-7 kg, anestesia con sevofluorane.

Porcino N4: Se intenta realiza la instrumentación y la hemodilución con 48 horas de diferencia. Se utilizan un catéter central 4 fr bilumen y un catéter arterial de 6cm y diámetro 20. Al despertar porcino se presenta daño del catéter arterial por la flexión del cuello. Se realiza eutanasia.

A partir del porcino 5, se decide utilizar un catéter venoso central bilumen 4 french (fr) para el venoso y arterial.

Porcino N5: Daño de catéter venoso central durante hospitalización. Se realiza hemodilución completa. Se realiza reposición de volumen por vena periférica.

Porcino N6: Daño de catéter venoso central.

Porcino N7: Daño de catéter arterial durante hospitalización.

Porcino N8: Hospitalización sin inconvenientes. Sobrevive hemodilución completa. Eutanasia.

Porcino N9: Daño de catéter arterial durante hospitalización. Eutanasia.

Porcino N10: Estuvo hospitalizado 8 días. Sobrevive 2 horas después de la hemodilución completa. Eutanasia.

Debido al daño de los catéteres durante la hospitalización, del experimento 11 al 23 se realizó la hemodilución 2 horas después de la instrumentación (colocación de instrumentos de medición). Medición de gasto cardíaco por termodilución. Porcinos de varios pesos (7-16 kg). Anestesia inhalada e intravenosa.

Porcino N11: Porcino de 5 kg, se usa catéter Swan Ganz (SG) modo bolos de 5 fr.

Porcino N12: Porcino de 16 kg para prueba de catéter Swan Ganz de gasto continuo (SG-CCO) por punción, se desinserta catéter arterial (monolumen calibre 20 de 10 cm), muere por hemorragia.

Para la línea arterial se emplea un catéter más largo. Se utiliza de catéter monolumen Certofix (Braun) calibre 18 de 15 cm de longitud. Con adecuados resultados.

Porcino N13: Porcino de 16 kg, inserción de Swan Ganz por punción. Lesión cava superior y hemotórax.

Porcino N14: Porcino de 12 kg. Lesión del ventrículo derecho durante inserción Swan Ganz por punción.

Porcino N15: Inserción de Swan Ganz por disección. Fallece por fibrilación ventricular durante hemodilución.

Porcino N16: Inserción de Swan Ganz por disección. Fallece durante hemodilución.

Porcino N17: Inserción de Swan Ganz por disección. Fallece durante 2 horas después de hemodilución completa.

Porcino N18: Inserción de Swan Ganz por disección. Fallece durante hemodilución por Infarto Agudo de Miocardio.

Porcino N19: Sobrevive 2 horas después de la hemodilución completa. Eutanasia.

Porcino N20: Sobrevive 3 horas después de la hemodilución completa. Eutanasia.

Porcino N21: Fallece durante hemodilución por lesión de la arteria pulmonar durante la inserción de Swan Ganz.

Porcino N22: Fallece 2 horas después de la hemodilución completa. Eutanasia.

Porcino N23: Sobrevive 2 horas después de la hemodilución completa. Eutanasia.

5.3.4. Selección metodología instrumentación.

5.3.4.1 Selección anestesia.

Se utilizaron diferentes protocolos de anestesia en donde se encontró que lo porcinos que recibían anestesia inhalada presentaban fiebre durante el procedimiento (figura 11). Se determinó la utilización de anestesia intravenosa.

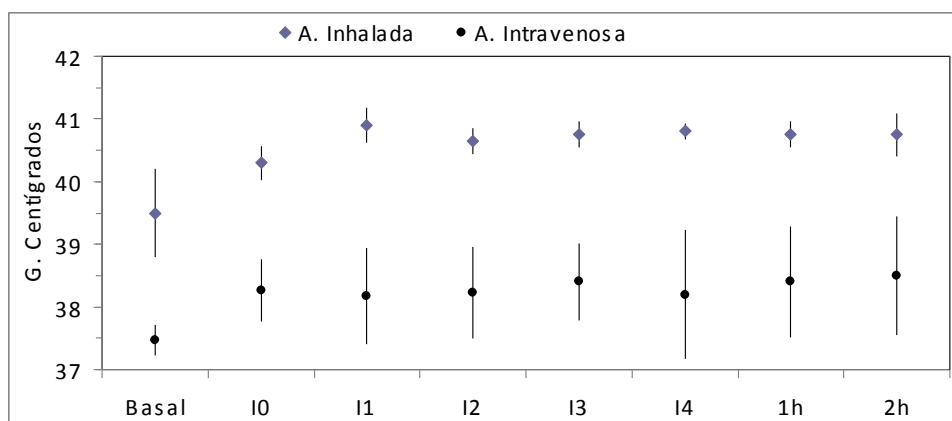


Figura 11. Temperatura grados centígrados respecto al tiempo. Comparación anestesia intravenosa e inhalada. Los valores son medias +/- desviación estándar. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4; 3h, 3 horas después del intercambio 4.

Para la anestesia intravenosa se utilizaron varios protocolos de medicamentos.

1. Ketamina + midazolam para inducción (vía intramuscular), mantenimiento con ketamina (intravenosa).
2. Ketamina + midazolam para inducción (vía intramuscular), mantenimiento con propofol (intravenosa).
3. Xilacina + atropina para inducción (vía intramuscular), mantenimiento con propofol (intravenosa).
4. Xilacina + atropina + midazolam para inducción (vía intramuscular), mantenimiento con propofol (intravenosa).

Finalmente se seleccionó el protocolo No 4 por encontrar mayor rapidez de inducción, mejor mantenimiento durante procedimiento y recuperación más rápida.

5.3.4.2 Método de instrumentación.

Para la colocación de los dispositivos de medición se utilizaron técnicas de inserción directa a través de disección y vía percutánea por punción.

La técnica por punción se realizó vía femoral y cervical. Solo se logró canalización satisfactoria por vía cervical. También se encontró mayor dificultad con el aumento de peso de los porcinos. Se presentaron complicaciones graves en los procedimientos por punción como lesión de vena cava superior y lesión de ventrículo derecho (imagen 2).

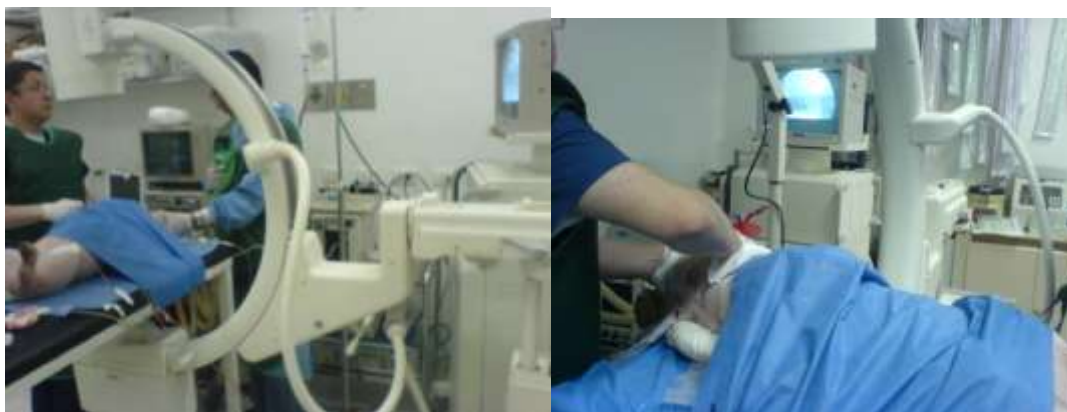


Imagen 2. Inserción de catéter Swan-Ganz por punción bajo visión fluoroscópica.

La técnica por disección presentó como complicación hemorragia, la cual disminuía con la curva de aprendizaje (imagen 3).

(a)

(b)



Imagen 3. (a) Instrumental para disección. (b) Disección de vasos cervicales del porcino a través del cuello.

Se determinó técnica por disección.

5.3.5. Selección tiempos de recuperación.

Se necesita definir los tiempos en que se van a desarrollar los experimentos: instrumentación con hemodilución inmediata, instrumentación con hemodilución posterior, instrumentación con hemodilución después de varios días.

Se probaron tiempos de recuperación entre la instrumentación y el inicio de la hemodilución desde 48 horas hasta 1 semana, con el fin de garantizar la recuperación total del animal. Sin embargo, posterior a la hospitalización por este tiempo se encontraban daños o desinserción de los catéteres por lo que se definió la realización de la hemodilución el mismo día de la instrumentación con 2 horas de recuperación de consciencia. También se encontró pérdida de peso de casi 200 g por día.

5.3.6. Selección sistema de medición gasto cardíaco (GC).

El flujómetro perivascular ultrásónico se utilizó en el modelo de choque hemorrágico. Este dispositivo requiere que el porcino este anestesiado debido que se requiere el tórax del porcino abierto. Debido a que el procedimiento se decidió realizar consciente, se descartó el uso del flujómetro.

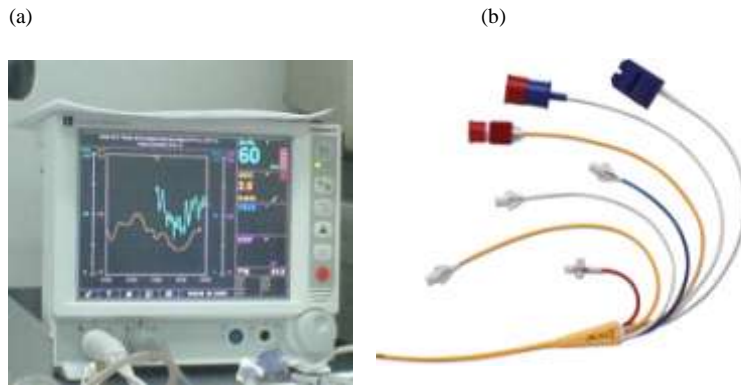
Se evaluaron 2 métodos que pueden ser realizados en el porcino consciente; un sistema de medición no invasivo de ecocardiograma transtorácico (ECO-TT) que es realizado por un cardiólogo y un sistema no invasivo con catéter Swan-Ganz/Gasto Cardíaco Continuo de Edwards Lifesciences (SG-CCO) que requiere de un monitor Vigilance II®.

Con el ECO-TT se pudieron realizar mediciones en porcinos de 5-7 kg lo cual es favorable para ahorrar costos de los experimentos, especialmente por el volumen del PFC que se emplea. Este sistema de medición es observador dependiente, su uso es limitado por la disponibilidad del equipo y aumenta el estrés del animal durante el examen (imagen 4).



Imagen 4. Medición de gasto cardíaco por ecocardiografía transtorácica. Se requiere inmovilizar al porcino para poder realizar la medición.

Para el sistema de medición SG-CCO se utilizaron porcinos de 12-18 kg, debido a que el diámetro de los catéteres es de 7,5 fr (catéter adulto). El peso mínimo para usar el SG-CCO adecuadamente fue 16 kg. El sistema SG-CCO no ser observador dependiente, su medición permanente del gasto cardíaco permite observar tendencias y también permite la medición de otras variables hemodinámicas como presión de arteria pulmonar, presión en cuña y presión venosa central (imagen 5).



Debido a que se los rangos de valores encontrados son similares con estos 2 sistemas de medición comparados con el flujómetro (figura 12), se seleccionó el sistema SG-CCO por considerarse más objetivo, reproducible y de fácil disponibilidad.

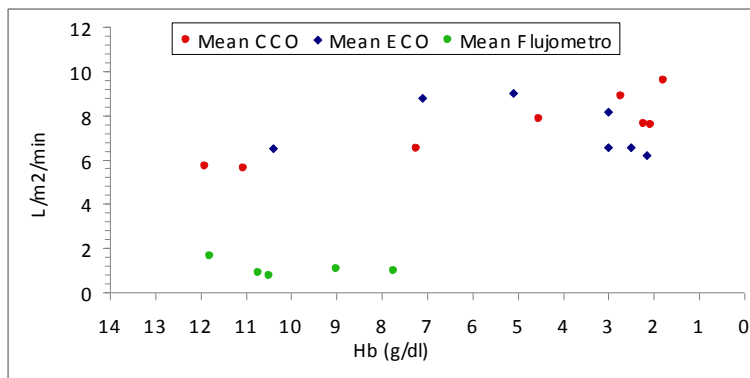


Figura 12. Comparación de datos tomados con los 3 sistemas de medición para diferentes concentraciones de hemoglobina. Valores dados en media. CCO, gasto cardíaco continuo; ECO, ecocardiograma; Flujómetro, flujómetro ultrasónico perivasculare.

5.3.7. Selección de variables a determinar.

Estas variables serán medidas una vez colocados los instrumentos de medición (Basal) y luego de cada intercambio normovolémico.

5.3.7.1. *Variables hemodinámicas.* Se medirá presión arterial invasiva a través de un catéter en la carótida. Con SG-CCO, además de medir gasto cardíaco y temperatura sanguínea se miden presiones de llenado ventricular como presión en cuña (PC), presión de arteria pulmonar (PAP) y presión venosa central (PVC), que ayudan a determinar el estado de volemia. También se determinarán frecuencia cardíaca (FC), resistencia vascular sistémica (RVS).

5.3.7.2. *Marcadores de perfusión tisular.* Se medirán a través de química sanguínea y gases arteriovenosos; lactato, base exceso (BE), relación aporte y consumo de oxígeno (VO_2/DO_2), tasa de extracción de O_2 (TE O_2). Diferencia arteriovenosa de lactato y $PaCO_2$ (presión arterial de CO_2) y Saturación venosa mixta (con SG-CCO).

5.3.7.3. *Ventilación*. PaO₂ (presión arterial de oxígeno), Pa/Fi (relación presión arterial de oxígeno y fracción inspirada de oxígeno), SatO₂ % (saturación de hemoglobina).

5.3.7.4. *Estado ácido-base*. HCO₃⁻ (bicarbonato), PaCO₂, Anion Gap (brecha de aniones), pH.

5.3.7.5. *Nivel de hemodilución y otras*. Hb (hemoglobina) y Hcto (hematocrito), sodio (Na⁺), potasio (K⁺), cloro (Cl⁻), glicemia (glu), temperatura sanguínea.

5.4. Determinación hemoglobina crítica.

Se requiere conocer el momento ideal para la infusión del PFC (nivel de hemoglobina) y no desperdiciarlo administrándolo en un punto donde los mecanismos fisiológicos de respuesta compensan el DO₂ bajo.

En humanos sanos se ha encontrado tolerancia hasta hemoglobina (Hb) de 5g/dl con cambios en conciencia pero no en el consumo oxígeno, siendo considerada hemodilución severa debajo de Hb 6g/dl [22].

Se observaron cambios en variables hemodinámicas desde niveles de Hb mayores a 7g/dl (figura 13), sin embargo solo debajo de 3g/dl de Hb se observó una dependencia del VO₂ sobre el DO₂ (figura 14) indicando que se ha pasado el punto de tolerancia a DO₂ bajos [22, 23].

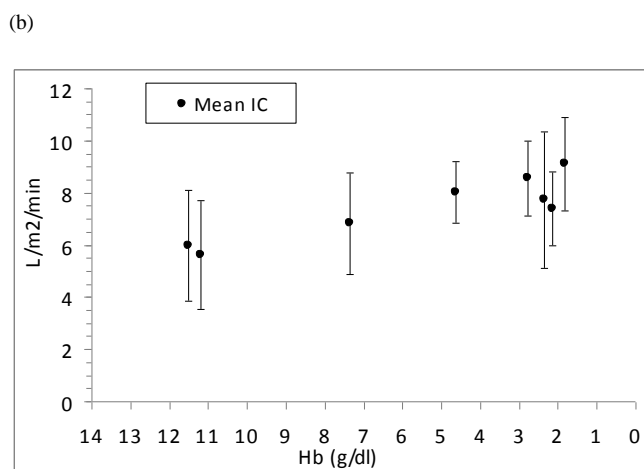
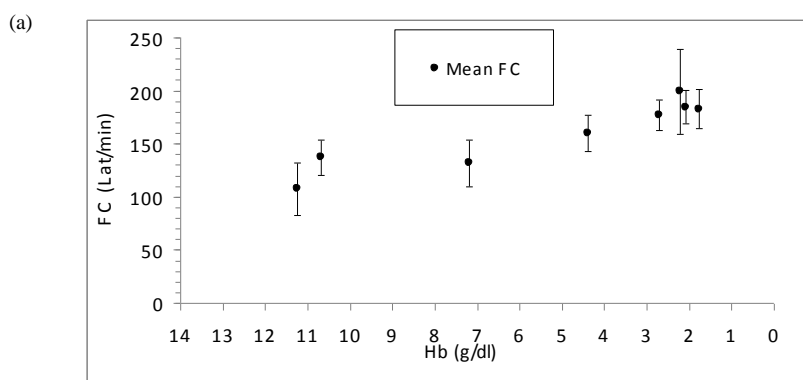


Figura 13. Cambios de frecuencia cardíaca (a) e índice cardíaco (b) respecto a la hemoglobina. Valores dados en media +/- desviación estándar.

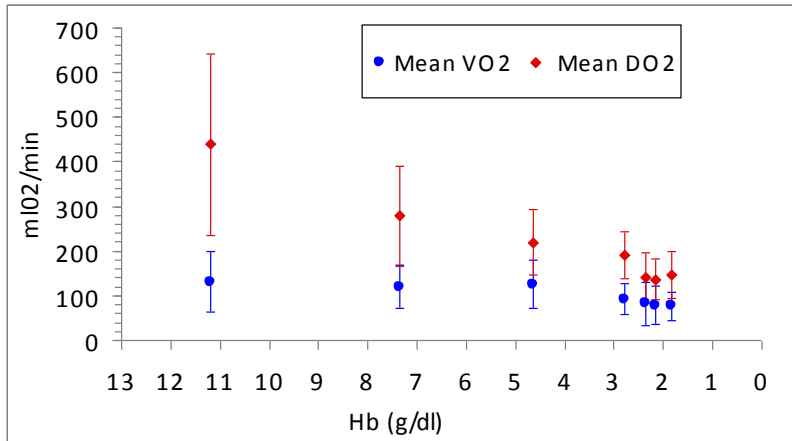


Figura 14. Relación entre aporte (DO₂) y consumo de oxígeno (VO₂) con la hemoglobina. Valores dados en media +/-desviación estándar.

También se encuentra aumento considerable de los marcadores de hipoxia tisular por debajo de 3g/dl de Hb (figuras 15 y 16).

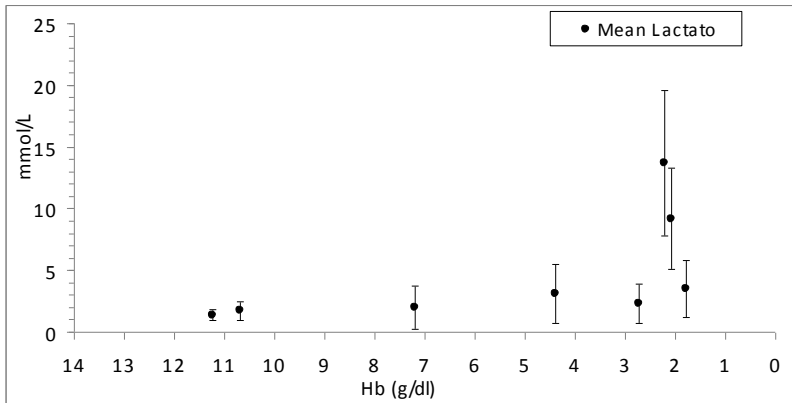


Figura 15. Lactato respecto a la hemoglobina. Valores dados en media +/-desviación estándar.

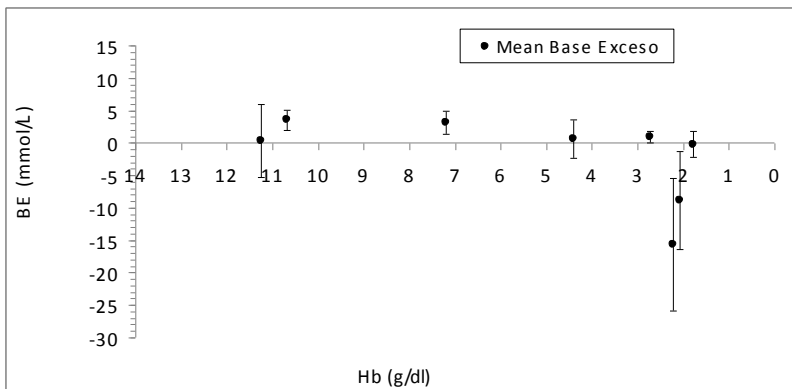


Figura 16. Base exceso respecto a la hemoglobina. Valores dados en media +/-desviación estándar.

5.5. Intercambio normovolémico.

Como se vio anteriormente, la hemodilución normovolémica consiste en la extracción de un volumen determinado de sangre y su reposición por un fluido en igual proporción. Entre más volumen sea extraído y repuesto (intercambio) la concentración de hemoglobina (g/dl) disminuirá. Si este procedimiento se repite más veces el nivel de hemoglobina será cada vez menor.

La metodología de hemodilución del modelo, debe intercambiar el volumen necesario de sangre para logra el nivel de Hb crítico establecido anteriormente (hemodilución extrema). Para esto, se debe definir el volumen de extracción, así como el número de intercambios.

5.5.1. Niveles de intercambio.

En el modelo anterior de hemodilución realizado en murinos en 2007, se realizaron 2 intercambios [14].

En esta metodología, se establecieron 4 niveles de intercambio del 40% de la volemia cada uno (I1-I4). Se observó que luego del tercer intercambio (I3) se pasa en nivel de Hb crítica de 3 g/dl (figura 17). Se definió que el PFC debe ser administrado desde el tercer intercambio (antes del punto de Hb crítico).

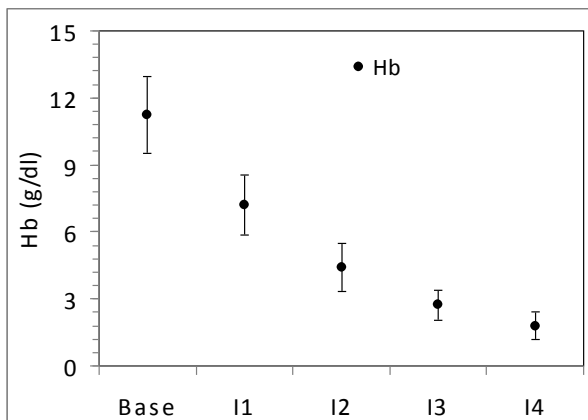


Figura 17. Hemoglobina respecto al tiempo. Los valores son medias +/- desviación estándar. Se incluyen porcinos de N15 a N23. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de la instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4.

5.5.2. Duración intercambio.

Es importante establecer la velocidad con que se realiza cada intercambio. Si la extracción sanguínea se realiza muy rápido, los cambios hemodinámicos serán como los encontrados en una hemorragia.

Por otro lado, el tiempo entre cada intercambio debe ser suficiente para producir cambios. El tiempo entre cada intercambio del modelo previo (hemodilución murinos) eran muy cortos (15 minutos).

Para este modelo se determinó 1 hora de duración de cada intercambio (30 minutos de intercambio, 30 minutos de recuperación). La medición de las variables en cada intercambio se realiza luego de los 30 minutos de recuperación. Esto permite evaluar los cambios de cada intercambio.

5.5.3. Solución de intercambio.

Para la reposición de volumen se pueden usar soluciones cristaloides (Solución salina 0,9%, Lactato de Ringer) o coloides [22]. La duración de los cristaloides en el compartimento intravascular es de menos de 1 hora, mientras que las de las soluciones coloides o almidones supera las 4 horas [23].

Debido a las mejores condiciones del los almidones y a la duración de la hemodilución se determinó realizar la reposición con solución Hydroxyetyl Starch al 6% (HES 6%) e relación 1:1 (1 cm³ de HES por cada cm³ de sangre extraída).

5.5.4. Hiperoxia.

Se ha reportado de la hiperoxia (FiO₂ mayores de 0,6), mejoran la tolerancia a la hemodilución extrema [24].

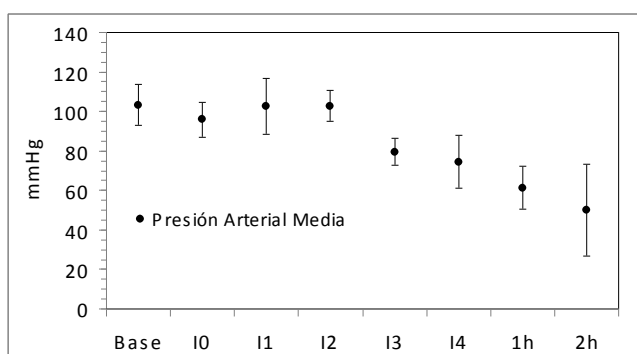
Se determinó administrar FiO₂ cercana a 1 en el momento de administrar el PFC (desde el intercambio 3). Durante el intercambio 1 y 2 (I1-I2) la FiO₂ es de 0,21.

5.5.5. Duración hemodilución extrema.

Se requiere determinar el tiempo de duración necesario posterior a los 4 intercambios, para el desarrollo y manifestación de signos de hipoxia tisular sistémica.

Aunque se presentaron cambios hemodinámicos desde los primeros intercambios (figura 18), los marcadores de hipoxia tisular se observaban significativamente aumentados solo hasta las 2 horas posteriores al último intercambio (figura 19). Es por esto que se determinaron 2 mediciones posteriores a I4; a la hora (1h) y a las 2 horas (2h).

(a)



(b)

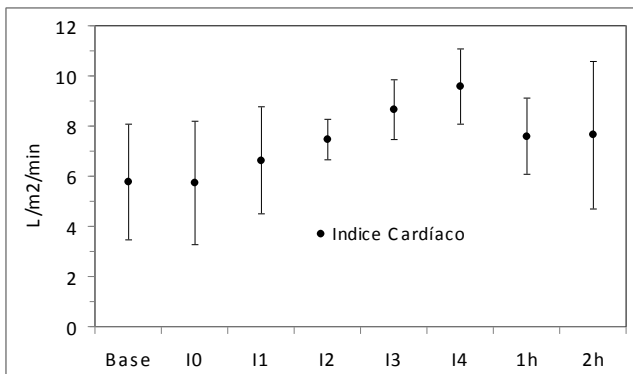
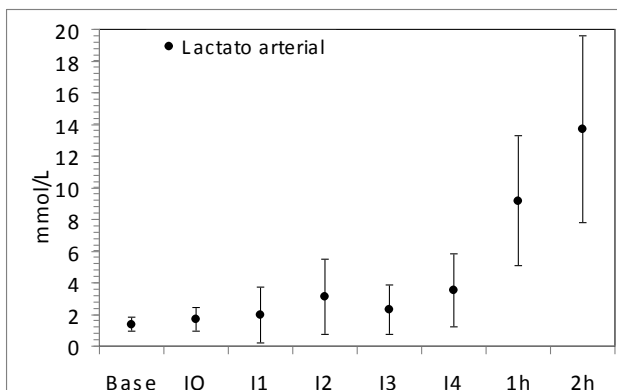


Figura 18. Cambios de presión arterial media (a) y índice cardíaco (b) respecto al tiempo. Los valores son medias +/- desviación estándar. Se incluyen porcinos de N15 a N23. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de la instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h y 2h, 1 y 2 horas después de intercambio 4.

(a)



(b)

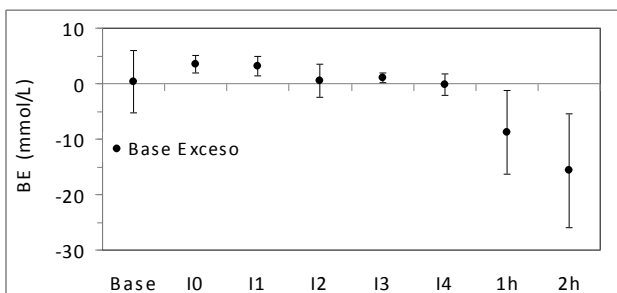


Figura 19. Valor de lactato (a) y base exceso (b) respecto al tiempo. Los valores son medias +/- desviación estándar. Se incluyen porcinos de N15 a N23. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de la instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h y 2h, 1 y 2 horas después de intercambio 4.

5.5.6. Tiempos de medición.

Se determinó realizar la medición de las diferentes variables durante los siguientes tiempos:

- Basal: registrada durante instrumentación bajo anestesia general, una vez colocados los sistemas de medición.

- Intercambio 0 (I0): registrada a las 2 horas de recuperación de consciencia luego de la instrumentación.
- Intercambio 1 (I1): registrada 30 minutos luego del primer intercambio.
- Intercambio 2 (I2): registrada 30 minutos luego del segundo intercambio.
- Intercambio 3 (I3): registrada 30 minutos luego del tercer intercambio.
- Intercambio 4 (I4): registrada 30 minutos luego del cuarto intercambio.
- 1 hora: registrada 1 hora luego del cuarto intercambio.
- 2 hora: registrada 2 horas luego del cuarto intercambio.

6. DETERMINACIÓN DE VALORES

Con la metodología descrita se calcularon los valores basales bajo anestesia general y conscientes. Con los resultados obtenidos se determinaron los criterios de exclusión. Se incluyen los porcinos N15 a N23, que presentan mismo peso e igual sistema de medición de gasto cardíaco.

6.1. Criterios Inclusión.

Porcinos de 16 -18 kg raza Yorkshire macho o hembra con 6 horas de ayuno de sólidos, provenientes del mismo sitio de cuidado. Estos porcinos deben ser reportados como sanos por el cuidador y valorados por el médico veterinario. Los porcinos reciben anestesia general intravenosa para colocación de catéter venoso periférico, arterial y SG-CCO por disección a través de los vasos del cuello. Se espera recuperación de consciencia por 2 horas y se procede a realizar sobre la mesa de restricción los 4 intercambios normovolémicos del 40% en 1 hora cada uno. Luego del último intercambio se esperan 2 horas más.

6.2. Determinación de valores basales y posteriores a recuperación anestésica.

Para la adecuada evaluación de los efectos de la hemodilución y de la emulsión de PFC, se requiere conocer el valor de las variables lo más cercano a las condiciones normales. Para la determinación de estos valores se tomaron mediciones durante la inserción de los instrumentos de medición bajo anestesia general (valores basales). Los valores basales fueron calculados con un t-student con un intervalo de confianza de 95% (tabla 1). Fueron incluidos los porcinos del mismo peso y con igual sistema de medición (N15 a N23).

También se realizaron mediciones luego de la recuperación de anestesia y antes de la hemodilución (I0), los valores se muestran en la tabla 1 y fueron calculados con un t-student con intervalo de confianza de 95%. Fueron incluidos los porcinos del mismo peso y con igual sistema de medición (N15 a N23).

Los valores obtenidos en I0 (entre basal e I1) sirven para evaluar el grado de intervención de la instrumentación sobre las condiciones basales del animal (como sangrado o compromiso hemodinámico) y serán el punto para continuar o suspender la hemodilución (ver criterios de exclusión).

Las variables que presentaron diferencia estadística significativa (c95%) entre la anestesia (basal) y consciencia (I0) son:

pH, TE O₂, I VO₂/DO₂, FC y SatO₂ (tabla 1).

El aumento de la FC se produce por la agitación que presenta al despertar en la mesa de restricción. Los otros parámetros hemodinámicos no tiene diferencia estadística significativa ($p < 0,05$).

Tabla 1. Valores antes de hemodilución con anestesia general (Basal) y conscientes (I0). Para cada valor se presenta la media y su intervalo de confianza de 95%. El valor p es de la diferencia entre basal e I0. Diferencia significativa si $p < 0,005$. Los valores incluyen porcinos N15 a N23.

Variable	Valores anestesia (basal)			Valores consciente (I0)			Valor p	%c	Diferencia significativa (c95%)
	Media	Rango (C95%)		Media	Rango (C95%)				
Hb	10,67	11,8	9,6	11,88	13,1	10,6	0,113	88,7%	NO
Hcto	33%	36%	29%	36%	40%	32%	0,198	80,2%	
CaO2	14,3	16,0	12,6	13,0	14,5	11,5	0,222	77,8%	
FC	108	126	90	138	150	125	0,008	99,2%	SI
PVC	10	14	5	5	9	1	0,103	89,7%	NO
PAS	114	125	102	113	119	107	0,890	11,0%	NO
PAD	114	91	71	84	94	75	0,556	44,4%	NO
RVS	2581	3327	1836	2747	3465	2028	0,710	29,0%	NO
IRVS	1312	1700	925	1404	1779	1030	0,690	31,0%	NO
PAM	96	108	85	97	104	89	0,904	9,6%	NO
P Pulso	33	38	27	28	37	20	0,311	68,9%	NO
PAPm	32	42	22	36	51	21	0,558	44,2%	NO
PC	13	18	7	12	18	6	0,799	20,1%	NO
GC	2,86	3,6	2,1	2,91	3,9	2,0	0,919	8,1%	NO
IC	5,64	7,1	4,2	5,71	7,6	3,9	0,944	5,6%	NO
Lactato	1,54	1,97	1,10	2,24	3,30	1,17	0,131	86,9%	NO
BE	2,50	4,34	0,66	3,63	5,03	2,23	0,275	72,5%	
D (a-v) PaCO2	8,19	14,15	2,23	4,30	8,30	0,30	0,255	74,5%	
D (a-v) Lactato	-0,02	0,26	-0,29	-0,23	0,01	-0,48	0,131	86,9%	
DO2	414	564	264	377	495	258	0,655	34,5%	NO
VO2	135	186	83	195	243	147	0,063	93,7%	NO
TE O2	31%	37%	24%	44%	54%	35%	0,013	98,7%	SI
I VO2/DO2	0,34	0,44	0,23	0,54	0,68	0,40	0,012	98,8%	SI
Sat O2%	97%	101%	92%	83%	88%	78%	0,0002	100,0%	SI
PaO2	148	190	106	53	57	49	0,0004	100,0%	
Pa/ FiO2	171	213	130	252	270	235	0,002	99,8%	
K+	3,90	4,30	3,50	4,31	4,6	4,0	0,098	90,2%	NO
Na+	139	142	137	139	141	137	0,887	11,3%	
Cl-	107	110	65	105	109	101	0,212	78,8%	
Glucosa	83	102	65	66	80	51	0,110	89,0%	
pH	7,41	7,48	7,35	7,52	7,56	7,48	0,009	99,1%	SI
PaCO2	43	52	33	33	36	30	0,072	92,8%	NO
HCO3-	26	30	22	26	27	25	0,995	0,5%	NO
Anion Gap	6	10	2	9	12	5	0,282	71,8%	NO

En la figura 20, se observa el aumento del pH de todas las mediciones consciente (I0-I4) respecto a la anestesia (basal).

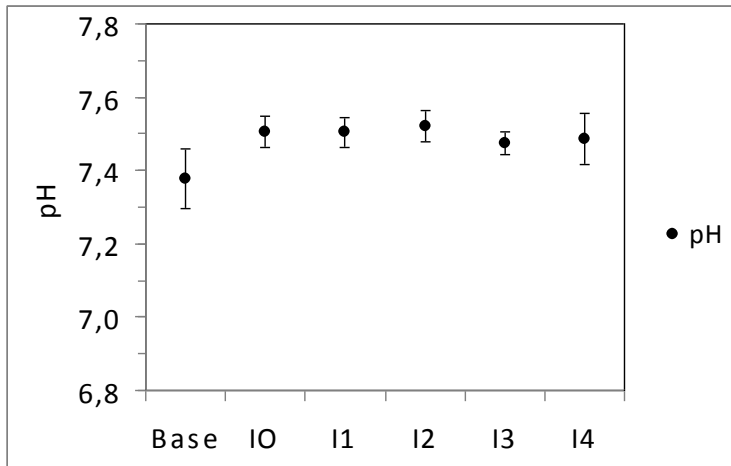
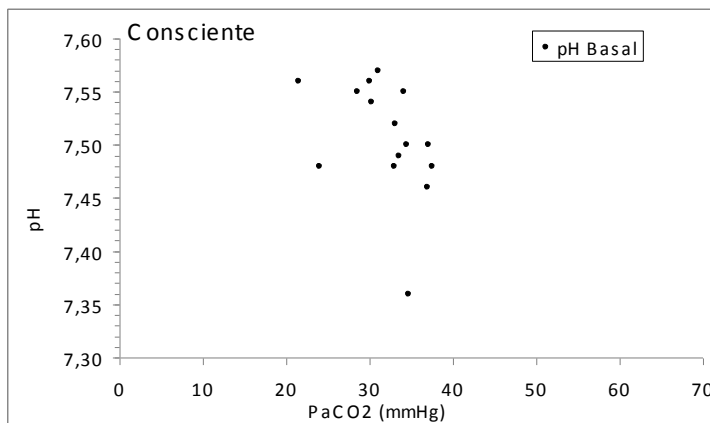


Figura 20. Cambio de pH respecto al tiempo. Los valores son medias +/- desviación estándar. Se incluyen porcinos de N15 a N23. Base, medición basal; IO, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4. Cada intercambio tiene 1 hora de diferencia.

Este cambio de pH se evaluó respecto a la PaCO₂ (figura 21). Se encontró que durante la anestesia el pH estaba entre 7,36-7,44 y durante la consciencia entre 7,50-7,54 con valores de PaCO₂ menores. El aumento de pH (alcalosis) se atribuyó a hiperventilación (PaCO₂ bajo) del animal mientras está despierto.



(a)

(b)

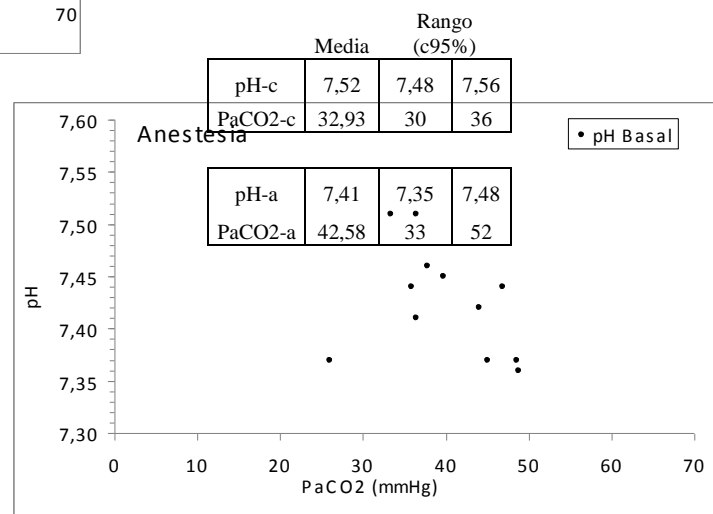


Figura 21. Relación de pH y PaCO₂ durante anestesia (a) y consciencia (b). Los valores son media. Se incluyen porcinos de N15-N23.

Se encontró también un aumento del VO_2 al despertar (c94%) (figura 22). Teniendo en cuenta que el gasto cardíaco ni la hemoglobina no tuvieron diferencia significativa, el aumento de VO_2 se atribuye al aumento de la Tasa de Extracción de O_2 .

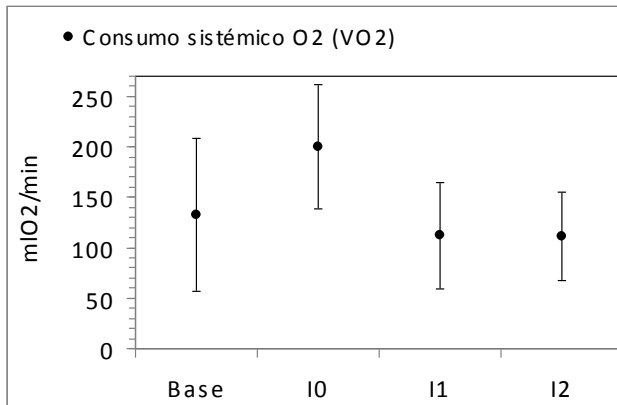


Figura 22. Relación de pH y PaCO₂ durante anestesia (a) y consciencia (b). Los valores son medias +/- desviación estándar. Se incluyen porcinos de N15 a N23. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4. Cada intercambio tiene 1 hora de diferencia.

La diferencia en la saturación de oxígeno (SatO₂) se explica por la diferencia en la FiO₂ administrada durante la anestesia (FiO₂ 1) y la consciencia (FiO₂ 0,21).

Aunque la diferencia estadística de la hemoglobina entre la anestesia y la consciencia fue menor a 90% (valor p 0,113), se observó que esta aumenta (figura 23, tabla 1). Este aumento se puede ser secundario a hemoconcentración. Esto es importante tenerlo en cuenta debido a que la determinación del valor de hemoglobina durante la medición basal e I0 determina la continuidad del experimento (ver criterios de exclusión).

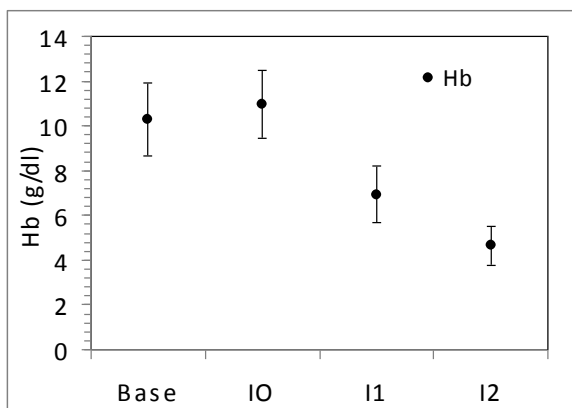


Figura 23. Hemoglobina respecto al tiempo. Los valores son medias +/- desviación estándar. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4. Cada intercambio tiene 1 hora de diferencia.

6.3. Determinación criterios de exclusión.

Para la determinación de los criterios de exclusión no fueron incluidos porcinos con lesión secundaria al procedimiento. Se evaluaron 10 porcinos (N3, N10, y N16 a N23). A estos se les realizó instrumentación con anestesia general, 2 horas de recuperación y hemodilución de 4 niveles con 2 horas de evaluación posterior. Cuatro (4) porcinos sobrevivieron las 4 hemodiluciones y hasta las 2 horas posteriores (se les administró eutanasia a las 2 horas). Seis (6) porcinos presentaron muerte espontánea durante diferentes fases (ver figura 10, sección desarrollo modelo experimental). Las variables con mayor diferencia estadística significativa serían tenidas en cuenta para la selección de los criterios de exclusión.

Se observó, que para algunas variables indicadoras de daño tisular como el lactato la diferencia aumentaba a medida que se realizaban las hemodiluciones el grupo de sobrevivientes y de muerte espontánea, sin embargo antes de la hemodilución permanecían casi iguales (figura 24).

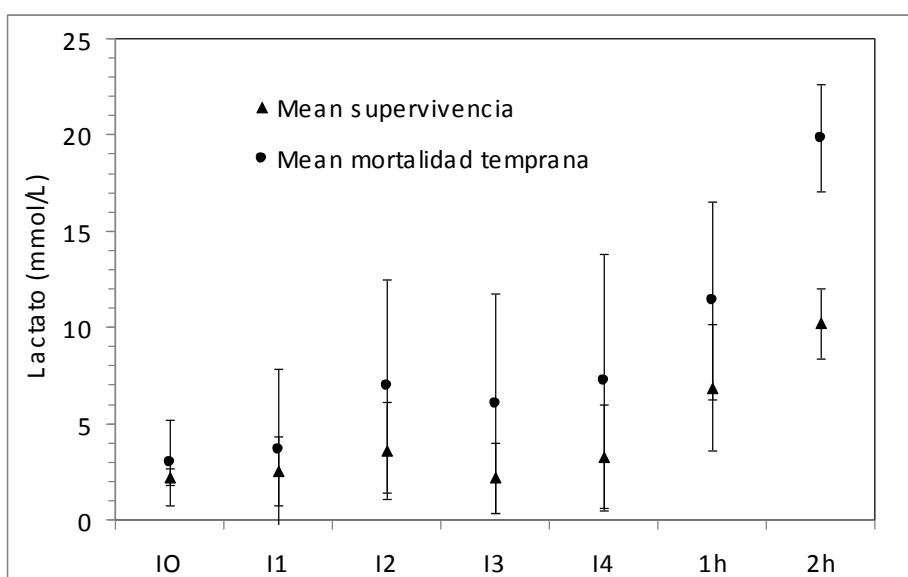


Figura 24. Comparación lactato entre grupo de sobrevivientes y muerte prematura respecto al tiempo. Los valores son medias \pm desviación estándar. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Cada intercambio tiene 1 hora de diferencia.

Otras variables como la Hb, presentaron diferencias antes de iniciar las hemodiluciones pero con el tiempo esta diferencia tendía a disminuir (figura 25).

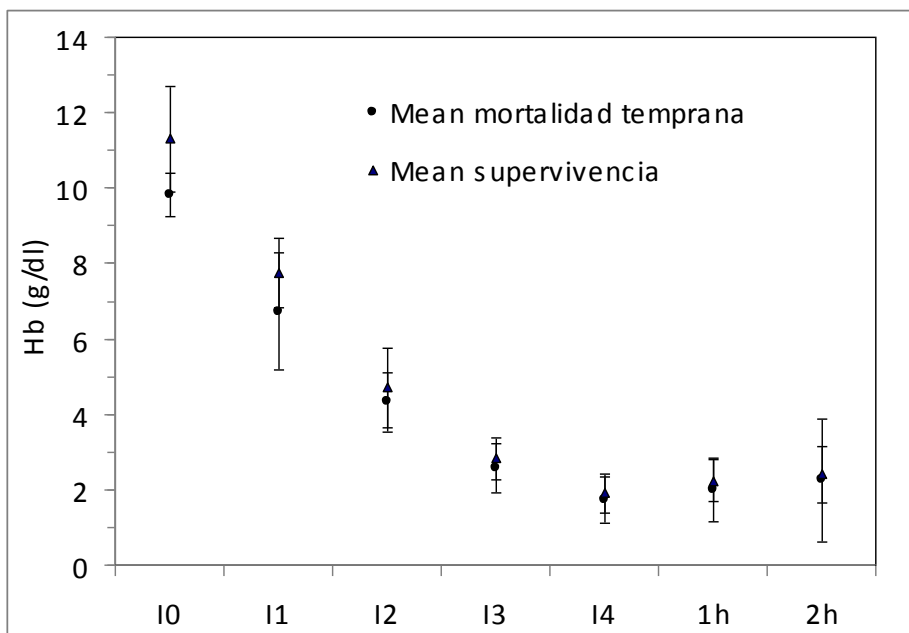


Figura 25. Comparación hemoglobina entre grupo de sobrevivientes y muerte prematura respecto al tiempo. Los valores son medias +/- desviación estándar. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Cada intercambio tiene 1 hora de diferencia.

Debido al diferente comportamiento de las variables en el tiempo entre los 2 grupos, se decidió evaluar la diferencia estadística únicamente antes de iniciar la hemodilución (basal e I0). Las variables con mayor diferencia estadísticamente significativa serían tenidas en cuenta para la selección de los criterios de exclusión.

La tabla 2 presenta todos los valores para cada uno de los grupos en I0. El rango de valores para hemoglobina tiene un 95% de intervalo de confianza porque es la única que presenta valor $p < 0,005$ entre los 2 grupos. Los demás intervalos están dados con 90% de confianza por que tiene valor $p > 0,005$ entre los 2 grupos.

De las variables medidas solo se encontró diferencia significativa mayor al 95% en la hemoglobina entre el grupo de sobrevivientes y muerte prematura en I0 (tabla 3). Sin embargo, la presión arterial diastólica (PAD) y presión arterial media (PAM) presentaron diferencias mayores al 90% con valores p de 0.07 y 0.093 respectivamente. El siguiente valor con valor p más pequeño es presión arterial sistólica (PAS) con una diferencia estadística de 84% ($p = 0,16$).

Tabla 2. Valores para el grupo de sobrevivientes y muerte prematura en IO. Los valores de muestran en media con intervalo de confianza del 95% para hemoglobina y 90% para las demás.

Sobrevivieron				Muerte Prematura			
Variable	Media	Mínimo (c95%)	Máximo (c95%)	Variable	Media	Mínimo (c95%)	Máximo (c95%)
Hb	11,3	9,1	13,5	Hb	9,8	9,2	10,4
Variable	Media	Mínimo (c90%)	Máximo (c90%)	Variable	Media	Mínimo (c90%)	Máximo (c90%)
FC	140	130	150	FC	139	118	159
IRVS	2084	540	3628	IRVS	1363	918	1808
PVC	5	1	9	PVC	5	1	9
PAS	120	103	136	PAS	106	95	117
PAD	91	82	101	PAD	75	64	87
PAM	104	91	117	PAM	88	77	100
P Pulso	28	18	39	P Pulso	31	24	37
PAPm	42	13	71	PAPm	33	19	47
PC	11	6	15	PC	13	5	20
IC	5,48	3,65	7,30	IC	5,78	3,37	8,20
PaO2	57	47	66	PaO2	59	50	68
SatO2%	84%	78%	91%	SatO2%	87%	81%	93%
DO2	330	257	402	DO2	373	222	524
VO2	175	78	273	VO2	194	163	224
TE O2	43%	29%	56%	TE O2	43%	27%	59%
I VO2/DO2	0,51	0,33	0,70	I VO2/DO2	0,57	0,40	0,73
pH	7,51	7,46	7,56	pH	7,49	7,39	7,58
Lactato	2,20	1,69	2,71	Lactato	2,96	1,14	4,79
BE	2,68	1,51	3,84	BE	2,45	-0,52	5,42
HCO3	24	20	28	HCO3	25	22	29
PaCO2	31	23	39	PaCO2	36	24	47
K+	4,05	2,98	5,12	K+	4,30	3,93	4,67
Na+	139	136	142	Na+	140	138	142
Cl-	105	101	108	Cl-	105	99	112
Glucosa	92	42	142	Glucosa	58	27	89

Tabla 3. Diferencia estadística entre el grupo de sobrevivientes y muerte prematura en intercambio 0 (I0). Diferencia estadística significativa considerada si valor $p < 0,05$.

Diferencia significativa Supervivencia vs Muerte I0

Variable	c95%	valor p	Variable	c95%	valor p
Hb	SI	0,04	DO2	NO	0,62
FC	NO	0,93	VO2	NO	0,66
IRVS	NO	0,18	TE O2	NO	0,54
PVC	NO	1,00	I VO2/DO2	NO	0,63
PAS	NO	0,16	pH	NO	0,72
PAD	NO	0,07	Lactato	NO	0,53
PAM	NO	0,09	BE	NO	0,91
P Pulso	NO	0,69	HCO3	NO	0,65
PAPm	NO	0,49	PaCO2	NO	0,58
PC	NO	0,69	K+	NO	0,58
IC	NO	0,84	Na+	NO	0,58
PaO2	NO	0,74	Cl-	NO	0,81
SatO2%	NO	0,60	Glucosa	NO	0,31

Una vez determinada la diferencia estadística entre las variables de I0, se evaluó la diferencia en la medición basal. La tabla 4 muestra que no hay diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre los grupos de sobrevivientes y muerte prematura en la medición basal (durante instrumentación con anestesia).

Tabla 4. Diferencia estadística entre el grupo de sobrevivientes y muerte prematura en la medición basal. Diferencia estadística significativa considerada si valor $p < 0,05$.

Diferencia significativa Supervivencia vs Muerte Valores basales

Variable	c95%	valor p	Variable	c95%	valor p
Hb	NO	0,277	DO2	NO	0,913
FC	NO	0,700	VO2	NO	0,261
IRVS	NO	0,773	TE O2	NO	0,081
PVC	NO	0,634	I VO2/DO2	NO	0,128
PAS	NO	0,334	pH	NO	0,279
PAD	NO	0,444	Lactato	NO	0,562
PAM	NO	0,865	BE	NO	0,852
P Pulso	NO	0,757	Anion Gap	NO	0,518
PAPm	NO	0,688	HCO3	NO	0,675
PC	NO	0,686	PaCO2	NO	0,622
IC	NO	0,609	K+	NO	0,744
PaO2	NO	0,406	Na+	NO	0,942
SatO2%	NO	0,996	Cl-	NO	0,694
			Glucosa	NO	0,556

Teniendo que solo se presentaron diferencias significativas entre el grupo de sobrevivientes y muerte prematura luego de la instrumentación (I0), se seleccionaron estos valores para la determinación de los criterios de exclusión.

La tabla 5 muestra las variables con diferencia estadística mayor a 90% para cada grupo mencionadas anteriormente (I0). El intervalo de confianza para la hemoglobina es de 95% por tener un valor $p > 0,05$. El intervalo de confianza para la PAD, PAM y PAS es de 90% por tener valores p entre 0,01 y 0,05. Valores determinados con t-student.

Tabla 5. Variables con diferencia estadística mayor a 90% entre grupo de sobrevivientes y muerte prematura en I0. Para cada variable se presenta la media y su intervalo de confianza. Hb, hemoglobina (g/dl); PAD, presión arterial diastólica (mmHg); PAM, presión arterial media (mmHg); PAS, presión arterial sistólica (mmHg).

a) Sobrevivieron					
Variable	valor p	Media	Mínimo	Máximo	%sup
Hb	0,045	11,3	9,1 (c95%)	13,5 (c95%)	95,5%
PAD	0,070	91	82 (c90%)	101 (c90%)	93,0%
PAM	0,093	104	91 (c90%)	117 (c90%)	90,7%
PAS	0,161	120	103 (c90%)	136 (c90%)	83,9%

b) Muerte prematura					
Variable	valor p	Media	Mínimo	Máximo	%sup
Hb	0,045	9,8	9,2 (c95%)	10,4 (c95%)	95,5%
PAD	0,070	75	64 (c90%)	87 (c90%)	93,0%
PAM	0,093	88	77 (c90%)	100 (c90%)	90,7%
PAS	0,161	106	95 (c90%)	117 (c90%)	83,9%

Basados en que hay una diferencia significativa de la Hb posterior a la instrumentación entre los 2 grupos, se considera que los porcinos con Hb dentro del rango del grupo de muerte prematura tiene menos probabilidades de sobrevivir. Por esto se propone como criterio de exclusión porcinos con Hb $< 10,4$ g/dl ($p 0,045$). Adicionalmente, se recomienda no realizar los intercambios en porcinos con hipotensión. El rango de valores se determinó con un t-student (tabla 6).

Tabla 6. (a) Valor de hemoglobina como criterio de exclusión ($p 0,045$). (b) Valor de PAD y PAM como recomendación ($p 0,07$ y $p 0,093$ respectivamente). Hb, hemoglobina (g/dl); PA, presión arterial (mmHg).

a) Criterios de Exclusión			
Hb	<	10,4	Anemia

b) Recomendación			
PAD	<	87	Hipotensión
PAM	<	100	

7. RESUMEN MODELO EXPERIMENTAL DEFINIDO

7.1. Denominación modelo.

“Hemodilución normovolémica extrema en porcinos conscientes”.

7.2. Resumen diseño metodológico de hemodilución propuesto.

En porcinos de 16-20 kg, se realiza instrumentación bajo anestesia general intravenosa, insertando un catéter arterial para medición de presión arterial y un catéter SG-CCO para medición de gasto cardíaco y presiones de llenado ventricular. Se toman valores basales. Luego de la instrumentación se dan 2 horas de recuperación y se procede a tomar medición de IO para evaluar continuidad de la hemodilución. La hemodilución se realizará en los porcinos consciente sobre una mesa de restricción extrayendo el 40% de la volemia del animal en 30 minutos y simultáneamente se le administrará solución HES 6% para mantenga el volumen intravascular lo mas cercano a la condición original. Esta exanguinación se realizará 4 veces (4 intercambios) para alcanzar el nivel de hemoglobina determinado (< 3 g/dl), donde se considera que la capacidad de transporte de oxígeno esta comprometida. Posterior al intercambio se esperan 30 minutos para realizar las mediciones del respectivo nivel. A un grupo de porcinos se les administra la emulsión de PFC desde el intercambio 3. El otro grupo se mantiene con HES 6%. Los 2 grupos reciben FiO_2 cercana a 1 desde el intercambio 3. Luego del intercambio 4 se realizan mediciones cada hora por 2 horas. Se analizan variables de oxigenación tisular sistémica y hemodinámicas con gases arteriovenosos y catéter SG-CCO (figura 26).

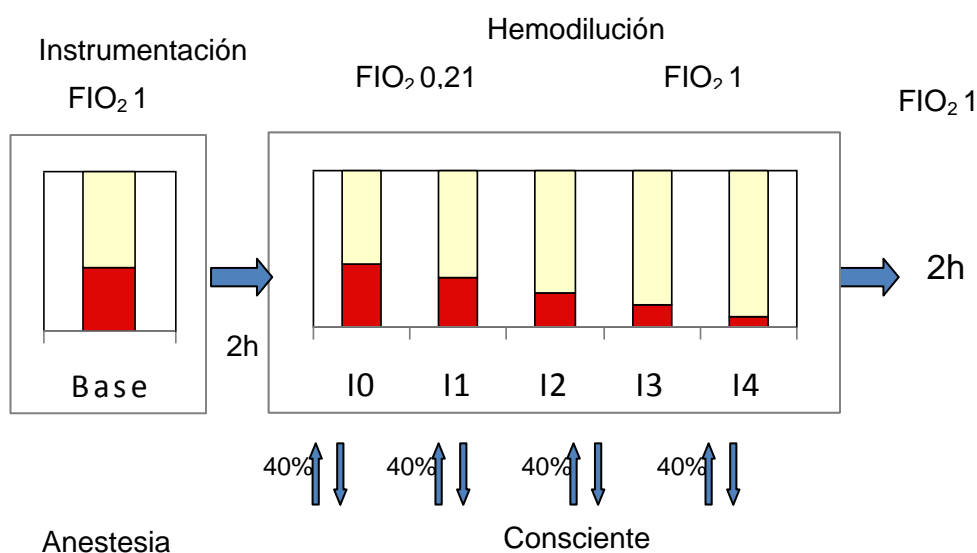


Figura 26. Resumen protocolo modelo experimental. FiO_2 , fracción inspirada de oxígeno; Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Cada intercambio es de 40% del volumen sanguíneo total.

7.3. Lugar de realización

Los experimentos se realizarán en la sala de cirugía experimental de la Fundación Cardioinfantil Instituto de Cardiología.

7.4. Animales

Porcinos de 16-18 kg, raza Yorkshire.

Ayuno: los porcinos deben tener ayuno de sólidos de 6 horas, no de líquido.

7.5. Grupos de estudio

1. Grupo A, hemodilución con HES 6%.
2. Grupo B, hemodilución con HES 6% + emulsión de PFC.

8. PROTOCOLO MODELO EXPERIMENTAL DEFINIDO

8.1. Instrumentación.

Se realizará bajo anestesia general y ventilación espontánea asistida.

8.1.1. Inducción anestésica.

Administrar por vía intramuscular en la misma ampolla en la cara externa del muslo:

- Xilacina (1 mg/kg) + atropina (0,04 mg/kg) + midazolam (0,5 mg/kg).

Una vez administrado la mezcla se coloca el animal en el guacal, se espera 5-10 minutos, posteriormente se coloca en la mesa experimental.

Se debe medir la longitud del porcino para el cálculo de la superficie corporal.

8.1.2. Cateterización de vena periférica.

Colocar torniquete elástico en base de la oreja, identificar la vena marginal (en la periferia). Si es en extremidad, puncionar la piel adyacente a la vena con aguja hipodérmica. Canalizar la vena con un catéter de calibre 22. Soltar torniquete.

Se conecta catéter a extensión de anestesia y a llave de 3 vías. Se conecta a equipo de microgoteo y buretrol. Comprobar permeabilidad del catéter con solución salina.

En caso de fallo, se cambia a otra oreja o extremidad. En caso de fallar nuevamente pasar a la alternativa de inducción intramuscular.

8.1.3. Fijación del animal y monitorización no invasiva

- Fijación del animal en la mesa quirúrgica en decúbito supino.
- Colocación de 2 soportes laterales en el tronco del porcino e interescapular.
- Colocación de pulsoxímetro en la pezuña. Fijación con esparadrapo.
- Colocación de 3 electrodos para derivación bipolares en axilas y pelvis izquierda.

8.1.4. Vía aérea.

- Preoxigenación: colocar máscara facial en el hocico a 10 L/min, por 3 minutos.
- Relajación intramuscular: se administra por vena periférica Rocuronio a dosis de 0,1 mg/kg.
- Posterior a la relajación se procede a intubación orotraqueal con un tubo No 4,5 o 5.
- Se verifica adecuada colocación del tubo y se conecta al ventilador.

- Si se presenta dificultad para la vía aérea, se ventilará con presión positiva 20 veces por minuto sin sobrepasar los 20 mmHg.

8.1.5. Mantenimiento anestesia.

- Tipo intravenoso: propofol 10 mg/kg/hora con bomba de infusión.

8.1.6. Cateterización vasos centrales.

- Administración de lidocaína al 1% sin epinefrina (5 mg/kg) en sitio de incisión.

- Incisión oblicua con bisturí frío (hoja No 15) en la cara lateral externa derecha del cuello. Disección del músculo platisma. Exposición del músculo esternocleidomastoideo, se busca paquete vásculo-nervioso en la cara interna del mismo.

- Se identifica arteria carótida común. Disección roma de 5 cm de la misma. Colocación de 2 reparos de control vascular con seda 3-0 distal y proximal. Colocación de clamp vascular distal y proximal. Se realiza arteriodisección transversa con bistury frío y se pasa catéter monolumen Certofix (Braun) calibre 18 de 15 cm de longitud arterial por contravertura. Se comprueba retorno por catéter. Se fija catéter con seda No 0. Se conecta catéter a un sistema Vamp (Baxter) que se conecta al sistema de transductor de presión. Se verifica onda de presión arterial. El transductor de presión debe estar a la altura del corazón del porcino.

- Se disecciona por fuera de esternocleidomastoideo y se identifica vena yugular externa. Se realiza disección roma de 3 cm de la vena, colocación de 2 reparos de control vascular con seda 3-0 distal y proximal. Exposición de la vena, corte transverso sobre ella con bisturí frío. Paso de introductor para Swan Ganz 8 fr (french) por contravertura. Se liga la vena proximal, se fija el catéter y se confirma el retorno sanguíneo por ambas luces.

8.1.7. Colocación de catéter de gasto cardíaco continuo (SG-CCO).

- Inicialmente se deben purgar el catéter arterial y el SG-CCO con solución heparinizada (1 U heparina/1 ml solución salina 0,9%). El catéter SG-CCO se conecta al equipo Vigilance (Edwards).

- Luego de confirmar el retorno venoso por el introductor, se inserta el catéter SG-CCO a través del introductor por el hemodinamista. El procedimiento se realiza bajo visión fluoroscópica para la colocación del catéter en la arteria pulmonar.

- Se conecta catéter SG-CCO a un sistema Vamp (Baxter) por el extremo distal (amarillo) y a una extensión rígida de 48 cm por el extremo proximal (azul). Estos se conectan al transductor de presión a través de un sistema de llaves de 3 vías.

- Se verifica la onda de presión para confirmar la adecuada colocación.

8.1.8. Medición de variables basales y cierre.

Una vez colocados el catéter arterial y el cateter SG-CCO, se procederá a realizar el registro de variables basales.

Se procede a realizar la toma de gases arteriales a través del sistema VAMP.

Luego de realizadas las tomas, se procede al cierre de incisión y colocación de vendajes.

Se deben fijar las extensiones alrededor del cuello del porcino.

8.1.9 Transoperatorio (durante el procedimiento quirúrgico).

- Solucion Salina 0,9% a 10 cc/kg/hora IV por vena periférica, equipo de microgoteo.
- Administración de analgésico tipo dipirona (40 mg/kg dosis).
- Mantenimiento de temperatura, con calentador de ambiente.
- Heparinización de catéteres y extensiones. Mezcla de 100 cm³ SSN + 100 U Heparina.

8.1.10. Postoperatorio.

Una vez terminada la instrumentación, se suspende la administración de anestésico intravenoso e inhalado.

- Mantener en decúbito esternal o lateral con oxígeno suplementario con máscara facial hasta recuperación de estado de conciencia del animal.
- Una vez verificado el estado de conciencia, ventilación espontánea y saturación adecuadas, se esperan 2 horas para la realización de la hemodilución.

8.2. Hemodilución Normovolémica

8.2.1. Colocación mesa restricción. Una vez completadas 2 horas de recuperación, el animal debe ser colocado en la mesa de restricción diseñada antes de la hemodilución.

8.2.2. Medición de criterios de exclusión.

En ese momento se realiza la medición consciente (I0) únicamente de las variables seleccionadas como criterios de exclusión (hemoglobina, presión arterial diastólica y presión arterial media) para suspender o continuar el experimento.

8.2.3. Variables para medir.

- Hemodinámicas: frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, presión arterial invasiva y venosa central, gasto cardíaco.
- Sistémicas: aporte de oxígeno, consumo de oxígeno, tasa de extracción de oxígeno, saturación mixta de oxígeno, pH arterial, PaO₂, PaCO₂, Hb, Hcto, BE, ácido láctico, glucosa, electrolitos.

- Vigilancia de temperatura y ritmo cardíaco con electrocardiograma (EKG)

8.2.4. Toma de muestras.

Las muestras de gases arteriales y venosos centrales se tomarán a través del sistema VAMP conectado a cada catéter. Se utilizan jeringas de gases arteriales heparinizadas para la toma de los gases arterial y venoso mixto.

La muestra para Hb se toma de la línea arterial, con un volumen de 1cm y se introducirá en un tubo tapa lila (EDTA). Antes de cada muestra el sistema VAMP debe ser lavado con 5 cm³ de sangre para evitar errores en las muestras.

8.2.5 Extracción y reemplazo de volumen sanguíneo (hemodilución normovolémica).

- La exanguinación y su respectivo recambio se realizará en 4 tiempos de 30 minutos de duración cada uno.
- Luego de completado el intercambio se esperan 30 minutos para la toma de muestras.
- La extracción y reemplazo se hará con relación 1 a 1.
- La extracción se realizará por la línea arterial hasta un volumen determinado según el nivel.
- EL reemplazo del volumen extraído se hará simultaneo a través de la yugular externa con solución HES 6% (Tetraspan®).
- Volumen sanguíneo total calculado del porcino es 80 cm³/kg.

8.2.6. Se realizarán 4 niveles de intercambio isovolémico.

8.2.6.1. Grupo A, hemodilución con HES.

- Intercambio 1: extracción del 40% del volumen sanguíneo (VS) en 30 minutos. Se realizará intercambio isovolémico en el mismo tiempo con HES 6% con FiO₂ de 21% (aire ambiente).
- Intercambio 2: extracción del 35% del VS en 30 minutos. Se realizará intercambio isovolémico en el mismo tiempo con HES 6% al FiO₂ de 21 % (aire ambiente).
- Intercambio 3: extracción del 35% del VS en 30 minutos. Intercambio con HES al FiO₂ de 100% (se coloca máscara facial en el hocico fijada con un arnés en el cuello).
- Intercambio 4: extracción de 35% del VS en 30 minutos. Intercambio con HES al FiO₂ de 100% (se coloca máscara facial en el hocico fijada con un arnés en el cuello).

8.2.6.2. Grupo B, hemodilución con HES + PFC.

- Intercambio 1: extracción del 40% del volumen sanguíneo (VS) en 30 minutos. Se realizará intercambio isovolémico en el mismo tiempo con HES 6% con FiO₂ de 21% (aire ambiente).
- Intercambio 2: extracción del 35% del VS en 30 minutos. Se realizará intercambio isovolémico en el mismo tiempo con HES 6% al FiO₂ de 21 % (aire ambiente).
- Intercambio 3: extracción del 35% del VS en 30 minutos. Intercambio con HES y PFC (proporción 80% y 20% respectivamente) al FiO₂ de 100% (se coloca máscara facial en el hocico fijada con un arnés en el cuello).
- Intercambio 4: extracción de 35% del VS en 30 minutos. Intercambio con HES y PFC (proporción 20% y 80% respectivamente) al FiO₂ de 100% (se coloca máscara facial en el hocico fijada con un arnés en el cuello).

8.2.7 Medición por 2 horas posterior al último intercambio.

Luego de finalizada la medición del último intercambio, se realizan 2 mediciones más. A la hora y a las 2 horas. Si el animal sobrevive se realiza eutanasia.

8.2.8. Eutanasia.

- Aplicar midazolam 0.2 mg/kg y a los 5 minutos aplicar potasio 2 meq/kg por vía intravenosa.

9. IMPLEMENTACIÓN MODELO DEFINIDO

El modelo definido, se implementó en los porcinos N17, N19, N20 y N22 a N23. A estos se les realizaron los 4 intercambios y la medición de las 2 horas posterior a la hemodilución. A continuación se presentan y analizan los resultados preliminares de este grupo de control.

9.1. Hallazgos hemodinámicos.

9.1.1. Frecuencia cardíaca (FC).

Se encontró aumento de la FC desde los primeros niveles de hemodilución (figura 27). A medida que disminuye el hematocrito, el contenido arterial de oxígeno disminuye y la FC aumenta para compensar el O₂ disminuido.

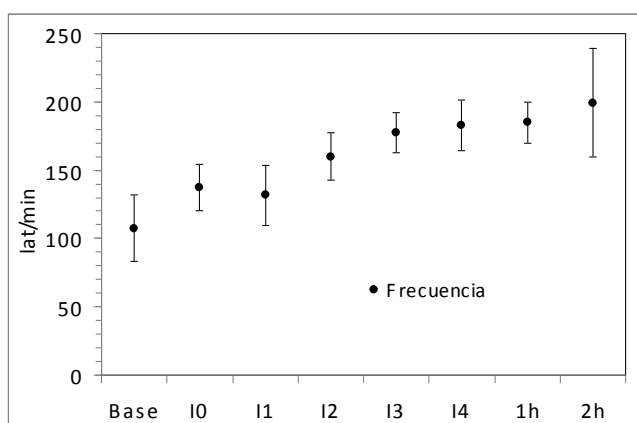


Figura 27. Frecuencia cardíaca (latido/minuto) respecto al tiempo. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar. Incluye porcinos N17, N19, N20 y N22 a N23.

9.1.2. Gasto cardíaco (GC).

Se encontró aumento del GC progresivo a medida que se realizan los intercambios (figura 28). El aumento del GC, se produce como mecanismo compensatorio y se asocia con el cambio de viscosidad sanguínea por la hemodilución. Sin embargo, este mecanismo compensatorio [25]. Sin embargo, durante las 2 horas posterior al intercambio 4 se observa disminución del GC sugiriendo disminución de en la contractilidad cardíaca secundaria a la hipoxia.

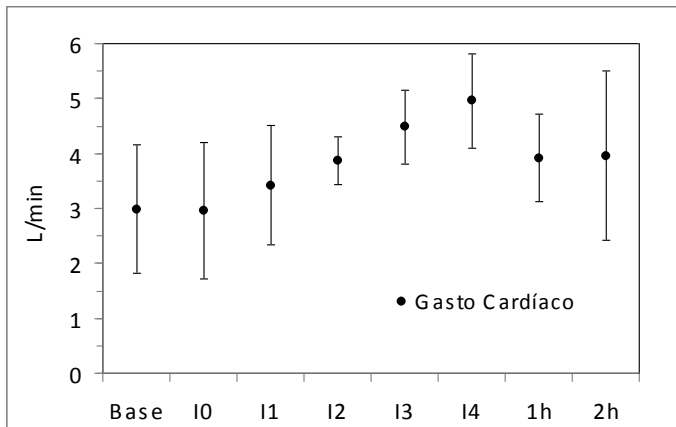


Figura 28. Gasto cardíaco (L/min) respecto al tiempo. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar. Incluye porcinos N17, N19, N20 y N22 a N23.

Se observa disminución del DO_2 a pesar del aumento del GC (figura 29), lo que evidencia que la caída del DO_2 en la hemodilución es secundaria principalmente a la disminución del contenido arterial de oxígeno por la pérdida de glóbulos rojos (figura 30) y no al GC como en choque.

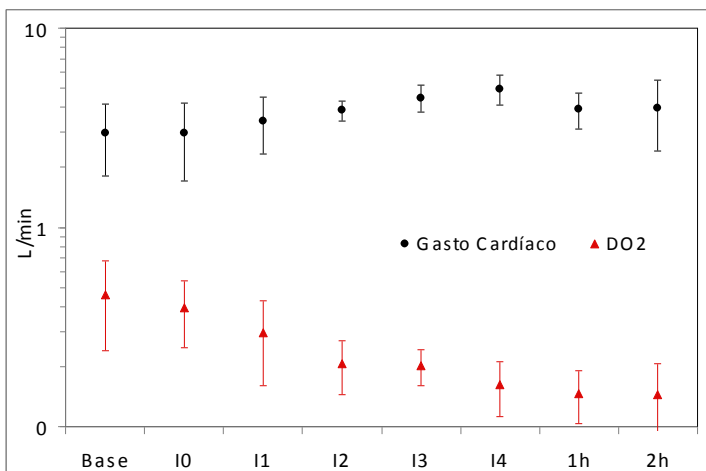


Figura 29. Gasto cardíaco (L/minuto) y DO_2 (ml O_2 /min) respecto al tiempo. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar. Incluye porcinos N17, N19, N20 y N22 a N23.

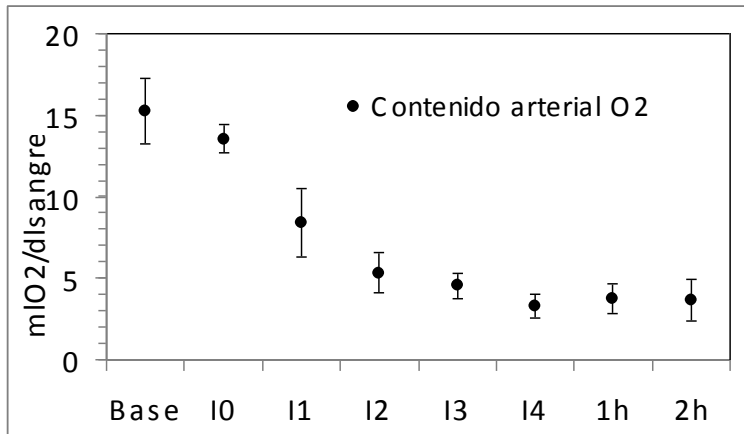


Figura 30. Contenido arterial de oxígeno (ml O₂/dl sangre) respecto al tiempo. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar. Incluye porcinos N17, N19, N20 y N22 a N23.

9.1.3. Presión venosa central (PVC).

Se observó que se mantiene dentro del rango considerado como normal (0-10mmhg) (tabla1, figura 31). La PVC es una de las presiones de llenado ventricular o fin de diástole, y es indicador de la precarga [6]. Con estos valores de PVC se puede interpretar que el animal está normovolémico.

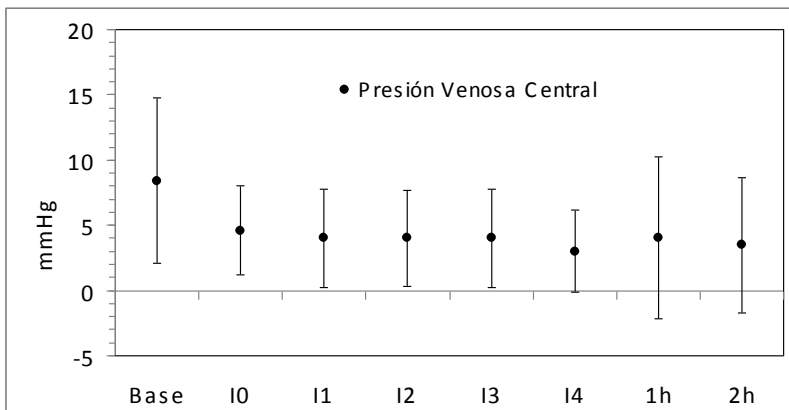


Figura 31. Presión venosa central (mmHg) respecto al tiempo. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar. Incluye porcinos N17, N19, N20 y N22 a N23.

9.1.4. Presión arterial.

La presión arterial media (PAM) se considera la presión de perfusión y se mantiene constante hasta los primeros 2 intercambios (I1-I2) (figura 32). Este mantenimiento de la PAM se mantiene a pesar de la disminución de la presión arterial de pulso (diferencia entre presión sistólica y diastólica) (figura). La disminución de la PAD se acompaña de aumento de la presión arterial sistólica (PAS) produciendo divergencia entre la PAS y PAD (figura 33-34).

El aumento de la PAS puede ser secundario al aumento del trabajo cardíaco como mecanismo compensatorio para mantener la presión de perfusión. Mientras que la disminución de la PAD se atribuye a la caída de la resistencia vascular sistémica (figura 35).

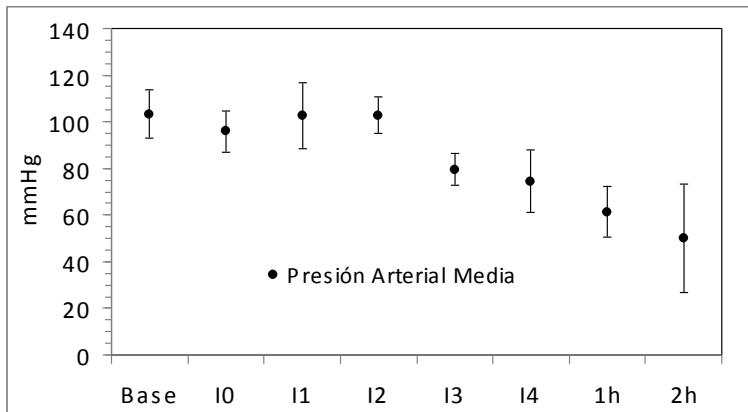


Figura 32. Presión arterial media (mmHg) respecto al tiempo. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar. Incluye porcinos N17, N19, N20 y N22 a N23.

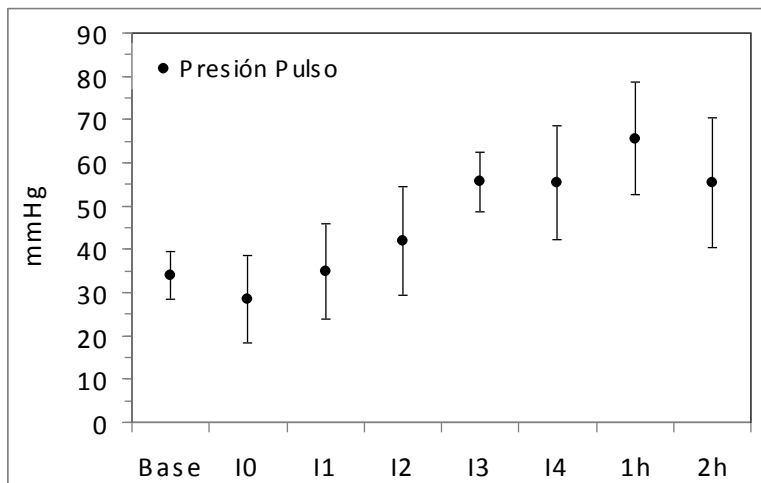


Figura 33. Presión de pulso (diferencia PAS y PAD) respecto al tiempo. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar. Incluye porcinos N17, N19, N20 y N22 a N23.

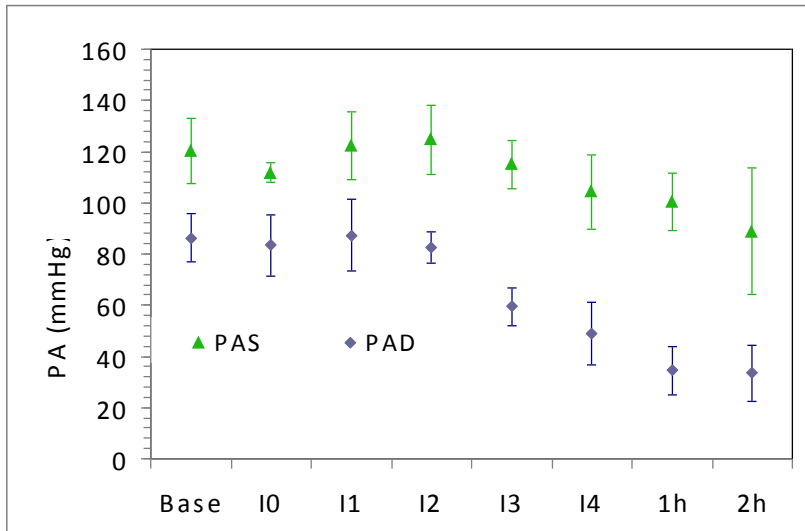


Figura 34. Presión arterial sistólica (PAS) y diastólica (PAD) respecto al tiempo. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar. Incluye porcinos N17, N19, N20 y N22 a N23.

9.1.5. Resistencia vascular sistémica.

Se observa disminución de la resistencia vascular periférica (figura 35). Esto se puede atribuir al cambio en la viscosidad sanguínea que hace que la presión ejercida por la sangre sobre las paredes vaso sea menor [26]. En las fases finales (I3-2h), donde se hace más notoria la caída de la RVS, puede verse sumado el efecto vasodilatador de los mediadores inflamatorios de la hipoxia tisular.

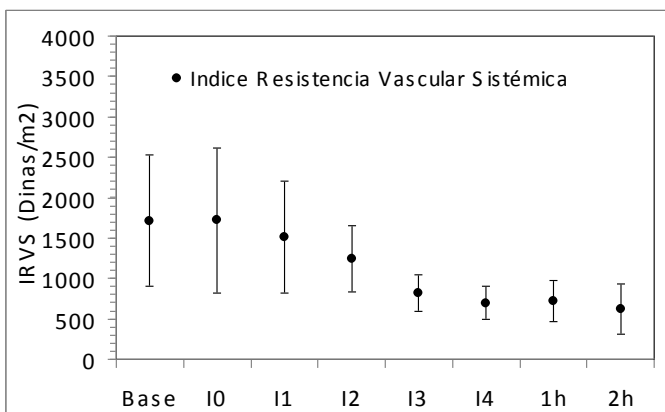


Figura 35. Índice de resistencia vascular sistémica (RVS/m²) respecto al tiempo. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar. Incluye porcinos N17, N19, N20 y N22 a N23.

9.2. Hallazgos metabolismo O₂

9.2.1. Estado acido-base.

La alcalosis marcada secundaria a hiperventilación que se encontró durante el despertar de los porcinos se mantuvo presente durante los 4 niveles de intercambio (I1-I4). Sin embargo, el pH cae durante las 2 horas posteriores a I4 (figura 36) manifestando un estado de acidosis.

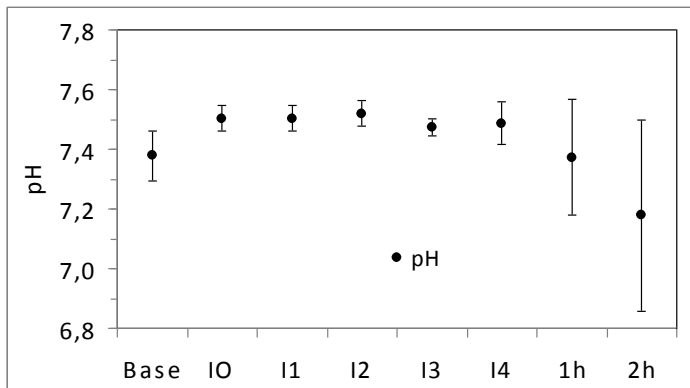


Figura 36. pH respecto al tiempo. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar. Incluye porcinos N17, N19, N20 y N22 a N23.

La figura 37 muestra los marcadores de acidosis encontrada durante las fases finales (1h-2h) es de tipo metabólica metabólica (PaCO₂ y HCO₃⁻ bajos).

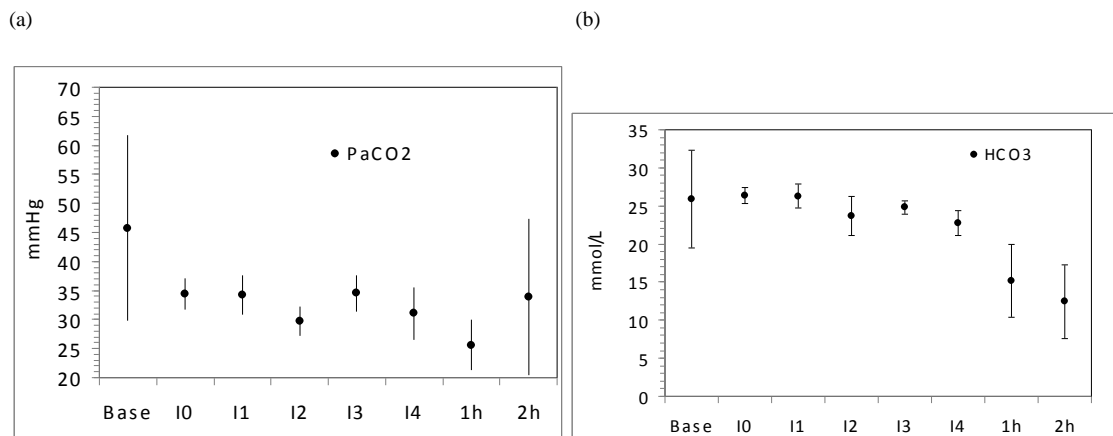
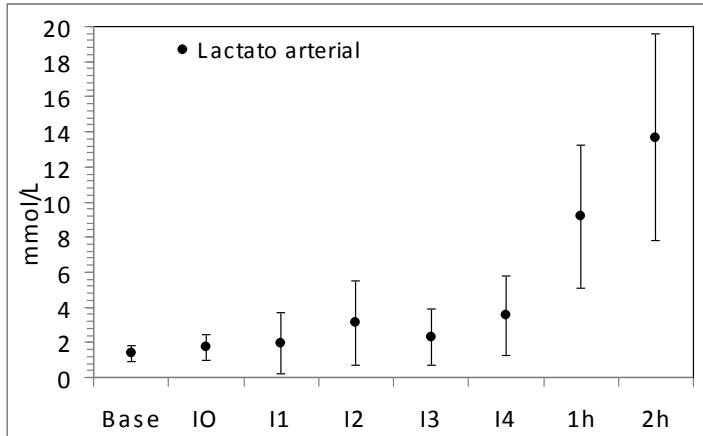


Figura 37. (a) PaCO₂ respecto al tiempo. (b) HCO₃⁻ respecto al tiempo. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar. Incluye porcinos N17, N19, N20 y N22 a N23.

9.2.2 Marcadores de Hipoxia celular.

Además de la disminución del pH, se presentó elevación de lactato sérico y disminución de Base exceso (BE) (figura 38). Estos valores indican la presencia de acidosis metabólica secundaria al metabolismo anaeróbico por hipoxia tisular.

(a)



(b)

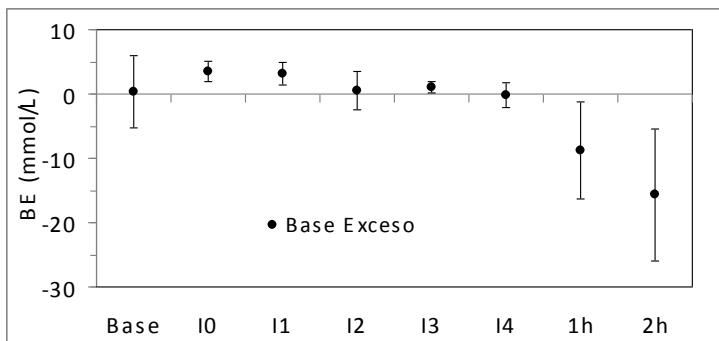


Figura 38. (a) Lactato respecto al tiempo. (b) Base exceso respecto al tiempo. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar. Incluye porcinos N17, N19, N20 y N22 a N23.

9.3. Comparación Modelo choque hemorrágico y hemodilución normovolémica.

9.3.1. Comparación Marcadores de hipoxia.

En los 2 modelos se observa elevación de los marcadores de hipoxia tisular como lactato y base exceso (figuras 39, 40).

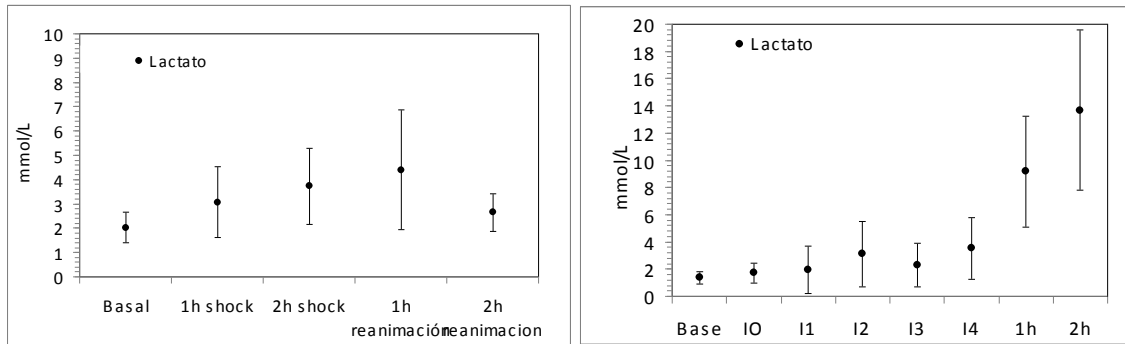


Figura 39. Lactato respecto al tiempo. (a) Modelo choque hemorrágico. Basal, medición basal; 1h y 2 h choque, 1 y 2 horas de choque; 1h y 2h, 1 y 2 horas de reanimación. (b) Modelo hemodilución normovolémica. Base, medición basal; IO, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar.

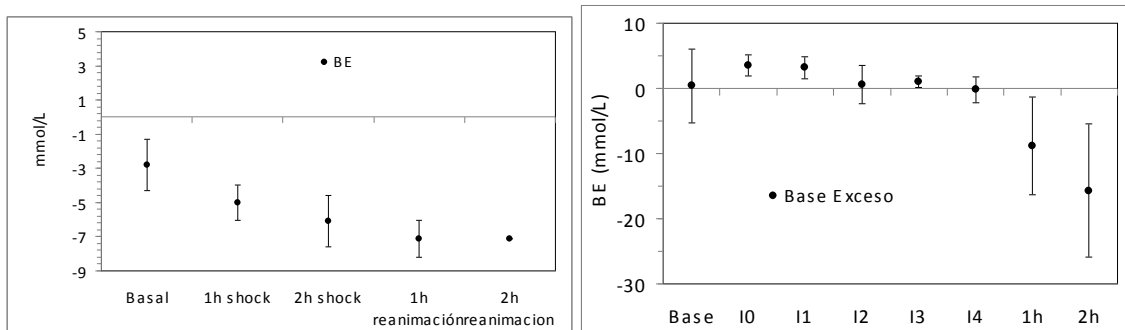


Figura 40. Base exceso respecto al tiempo. (a) Modelo choque hemorrágico. Basal, medición basal; 1h y 2 h choque, 1 y 2 horas de choque; 1h y 2h, 1 y 2 horas de reanimación. (b) Modelo hemodilución normovolémica. Base, medición basal; IO, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar.

También se manifiesta acidosis para los 2 modelos (figura 41).

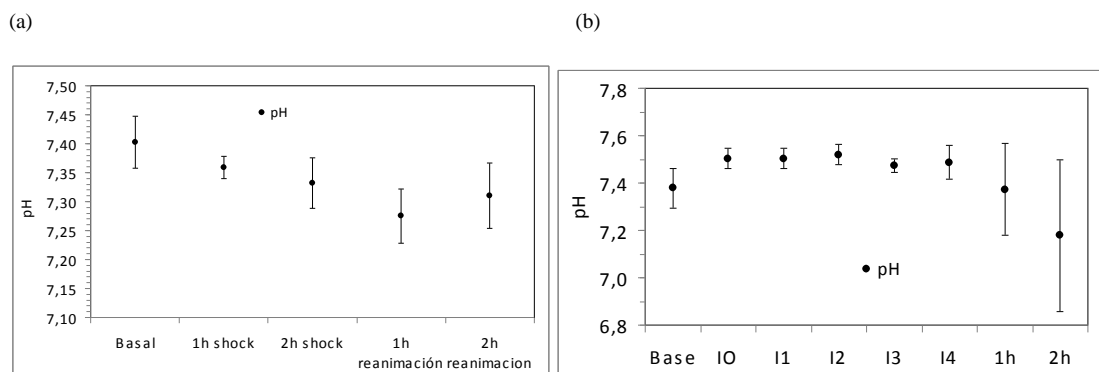


Figura 41. pH respecto al tiempo. (a) Modelo choque hemorrágico. Basal, medición basal; 1h y 2 h choque, 1 y 2 horas de choque; 1h y 2h, 1 y 2 horas de reanimación. (b) Modelo hemodilución normovolémica. Base, medición basal; IO, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar.

9.3.2. Comparación hemodinámica.

El GC disminuye en el choque mientras que el hemodilución aumenta (figura 42).

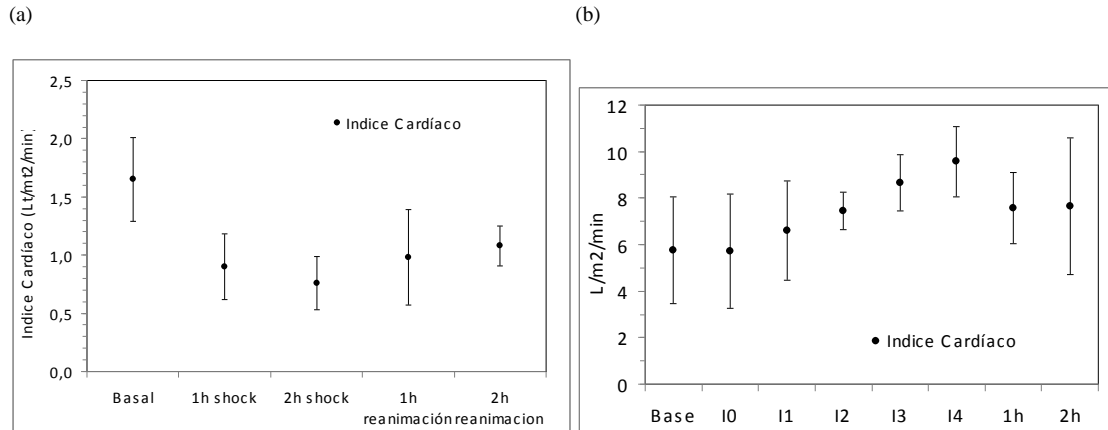


Figura 42. Índice cardíaco respecto al tiempo. (a) Modelo choque hemorrágico. Basal, medición basal; 1h y 2 h choque, 1 y 2 horas de choque; 1h y 2h, 1 y 2 horas de reanimación. (b) Modelo hemodilución normovolémica. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar.

La disminución del aporte de oxígeno (DO_2) en hemodilución no depende de la caída del gasto cardíaco como en choque hemorrágico (figura 43).

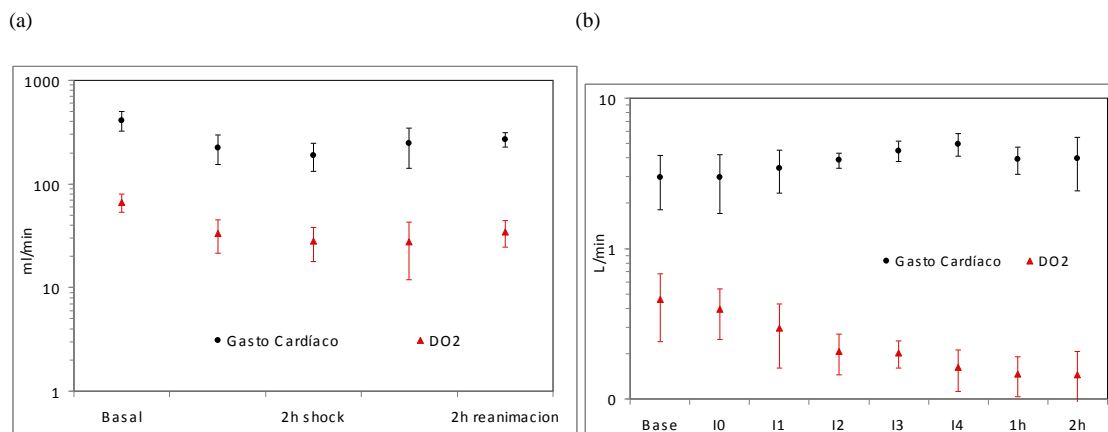
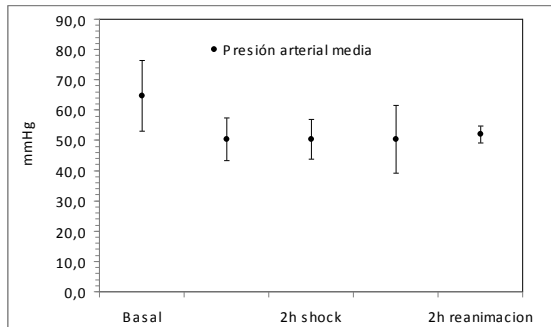


Figura 43. Relación gasto cardíaco y aporte de oxígeno (DO_2) respecto al tiempo. (a) Modelo choque hemorrágico. Basal, medición basal; 1h y 2 h choque, 1 y 2 horas de choque; 1h y 2h, 1 y 2 horas de reanimación. (b) Modelo hemodilución normovolémica. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar.

En el choque hemorrágico hay hipotensión mientras que en hemodilución se vuelven divergentes manteniendo la presión arterial media (figura 44).

(a)



(b)

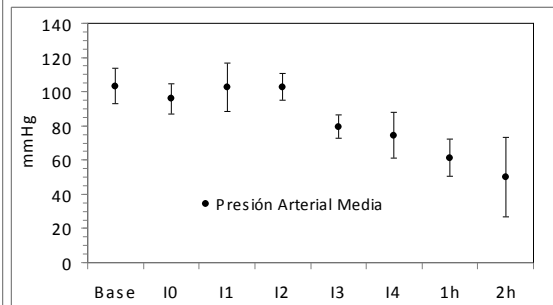
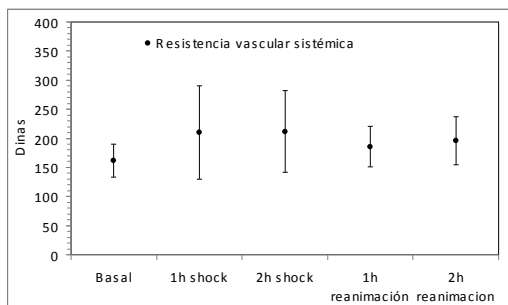


Figura 44. Presión arterial media (PAM) respecto al tiempo. (a) Modelo choque hemorrágico. Basal, medición basal; 1h y 2 h choque, 1 y 2 horas de choque; 1h y 2h, 1 y 2 horas de reanimación. (b) Modelo hemodilución normovolémica. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar.

La resistencia vascular sistémica aumenta en el choque hemorrágico como mecanismo compensatorio, mientras que el hemodilución disminuye por el cambio de viscosidad de sanguínea (figura 45).

(a)



(b)

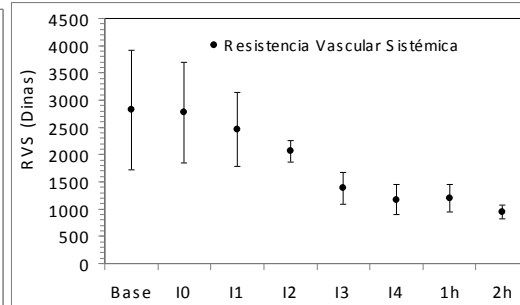


Figura 45. Resistencia vascular sistémica respecto al tiempo. (a) Modelo choque hemorrágico. Basal, medición basal; 1h y 2 h choque, 1 y 2 horas de choque; 1h y 2h, 1 y 2 horas de reanimación. (b) Modelo hemodilución normovolémica. Base, medición basal; I0, medición consciente 2 horas después de instrumentación; I1, intercambio 1; I2, intercambio 2; I3, intercambio 3; I4, intercambio 4; 1h, 1 hora después del intercambio 4; 2h, 2 horas después del intercambio 4. Valores en media +/- desviación estándar.

9.3.3 Resumen comparación.

El siguiente es un resumen de los principales hallazgos del choque hemorrágico y hemodilución normovolémica.

- Choque hemorrágico:
 - Aumento lactato.
 - Disminución pH y BE.
 - Disminución GC y aumento RVS.
 - Hipotensión.
 - DO_2 disminuido por bajo GC.

- Hemodilución consciente:
 - Marcadores de hipoxia iguales a modelo de choque.
 - Aumento GC.
 - Disminución RVS.
 - Presión arterial divergente.
 - DO_2 disminuido por bajo contenido arterial de oxígeno.

10. CONCLUSIONES

Se obtuvo un modelo experimental para evaluar la eficacia de diferentes soluciones de reanimación. Este modelo provee un mejor escenario para la determinación del transporte de oxígeno de un hemosustituto in vivo, la medición de variables secundarias a la hipoperfusión tisular y la posible intervención del PFC. El modelo de choque hemorrágico previo presenta variables de confusión que no permiten la adecuada evaluación del transporte de oxígeno del PFC. El modelo de hemodilución normovolémica extrema en porcinos conscientes, permite la evaluación del hemosustituto en una especie animal mayor pues solo se había realizado en especies pequeñas. Al realizar el modelo de hemodilución normovolémica extrema en porcinos conscientes se disminuyen las variables de confusión como la anestesia y se obtienen valores más cercanos a la realidad. Este modelo de hemodilución será base de la experimentación animal para la próxima evaluación de hemosustitutos en el Grupo de Ingeniería Biomédica de la Universidad de los Andes.

El modelo se debe realizar en porcinos de más de 16 kg de peso. Se deben realizar 4 hemodiluciones del 40% de la volemia de los porcinos y esperar 2 horas adicionales para evidenciar un claro aumento de los marcadores de hipoxia tisular. La técnica de inserción de los catéteres por disección y protocolo anestesia intravenosa están definidos, así como el volumen, nivel y tiempo de los intercambios. También están definidos los criterios de inclusión, exclusión y valores basales de los porcinos.

La metodología definida se está implementando. Sin embargo, el número de porcinos a quienes se les implementó la metodología estandarizada fue 7 de 23 en total. Esto hace que la muestra para los resultados sea pequeña. Muchos porcinos murieron de forma prematura por los múltiples intentos para insertar los catéteres por punción, así como por hemorragia durante la disección quirúrgica. También el cambio de metodología para medir gasto cardíaco hace que el número de porcinos para evaluar sea menor.

En los resultados hemodinámicos y metabólicos preliminares se ha visto que aunque los 2 modelos producen una hipoxia tisular, el comportamiento hemodinámico del choque hemorrágico y de la hemodilución normovolémica es muy diferente. El conocimiento propio de estos escenarios permitirá una mejor aplicación de los modelos e interpretación de los resultados cuando se administre el PFC. Sin embargo, se requiere un número mayor de experimentos para poder crear el grupo control y compararlo con el PFC.

Este modelo es producto del trabajo de un equipo multidisciplinario donde participaron ingenieros, médicos, hemodinamistas y veterinarios, lo cual hace parte fundamental de la investigación biomédica.

11. BIBLIOGRAFIA

1. Peden M, Sharma G, The injury chart book: a graphical overview of the global burden of injuries. Geneva: world health organization; 2002.
2. Krug E, Dahlberg L, World report on violence and health. Geneva: World Health Organization; 2004.
3. Forero L, González J, Datos para la vida. Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses. Bogotá, Colombia: Forensis, 2007.
4. Kauvar D, Lefering R, Wade C. Impact of hemorrhage on trauma outcome: an overview of epidemiology, clinical presentations, and therapeutic considerations. *J Trauma* 2006, 60 (Suppl.):S3-11.
5. Mantilla J, Puentes J, Hemorragia y trauma, avances del estudio Crash 2 en Colombia. *Hemorragia y trauma. Revista Colombiana de Cirugía* 2009, 24:175-83.
6. Ordoñez C. Cuidados intensivos y Trauma. Editorial distribuna, 2 edición, 2002. Capítulo Choque, página.3-44.
7. Cheryl H, Keith R, The evaluation and management of shock. *Clinics in Chest Medicine* 2003, 24: 775– 789.
8. Manual de soporte vital avanzado en trauma (ATLS).
9. Spiess B, Counts R. Perioperative transfusión medicine, Williams and Wilkings, 1998. Capítulo 10:157-168.
10. National heart lung and blood institute.
http://www.nhlbi.nih.gov/health/dci/Diseases/bt/bt_what.html
11. Hess J, Holcomb. Transfusion practice in military trauma. *Transfusion Medicine*, 2008, 18: 143–150.
12. Riess J, Oxygen Carriers, Raison d’Etre, Chemistry, and Some Physiology. 2001, *Chem.Rev.*, 101: 2797-2919.
13. Rincón I, Briceño J. Effects of Ringer’s lactate and oxyfluor as resuscitative fluids in a model of hemorrhagic shock in the rabbit. *ASAIO Transactions* 1997, 43:13.
14. Silva A, Gardeázabal T, Briceño J, Evaluación en un modelo animal de hemodilución normovolémica de un nuevo hemosustituto transportador de oxígeno basado en perfluorocarbonos: efectos de la viscosidad, osmolaridad, y concentración del perfluorocarbono en la emulsión. Abstract presentado en el día de la investigación de la Fundación Cardioinfantil, noviembre 2007.
15. Gardeazabal T, Briceno J, Advances on manufacturing and in vivo evaluation of PFC-based oxygen carriers. *ASAIO Journal* 2006, 52: 60A.

16. Clark L, Gollan F. Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure. *Science* 1966, 152:1755-1756.
17. “Desarrollo y fabricación de hemosustitutos portadores de oxígeno basados en perfluorocarbonos (Proyecto Colciencias 2239-08-049-99).
18. “Estudio del efecto de viscosidad, osmolaridad, concentración de lecitina y perfluorocarbono en la estabilidad de emulsiones transportadoras de oxígeno basadas en perfluorocarbono” (Proyecto Colciencias 2239-04-16303).
19. Ayala A, Wang P, Shock Models: Hemorrhage. *Surgical Research* 2001, 27:317-330.
20. Rincón I, Briceño J. Implementation of a model of hemorrhagic shock for evaluation of the safety of use of oxygen-carrying hemosubstitutes. *ASAIO Transactions* 1996, 42:3 (Suppl.).
21. Pachón D, Salazar L, Reanimación hipotensiva en choque hemorrágico de porcinos. Trabajo de grado en pregrado de Medicina, Mayo 2009. Universidad de los Andes.
22. Monk T, Acute Normovolemic Hemodilution. *Anesthesiology Clin N Am* 2005, 23: 271– 281.
23. Jones S, Whitten C. Influence of Crystalloid and Colloid Replacement Solutions on Hemodynamic Variables During Acute Normovolemic Hemodilution. *Journal of Clinical Anesthesia* 2004, 16:11–17.
24. Pape A, Hyperoxic ventilation increases the tolerance of acute normovolemic anemia in anesthetized pigs. *Crit Care Med* 2006, 34: 5.
25. Marchall H, Capone A, Effects of hemodilution on long-term survival in an uncontrolled hemorrhagic shock model in rats. *J. Trauma* 1997, 43: 673–679.
26. Weiskopf R, Viele M, Human cardiovascular and metabolic response to acute, severe isovolemic anemia. *JAMA* 1998, 279:217– 21.
27. Beckwith T, *Mechanical Measurements, Sixth Edition* 2007, capítulo 3.

12. ABREVIATURAS

PAS = presión arterial sistólica; PAM = presión arterial media ; PAD = presión arterial diastólica; PAP = presión arteria pulmonar; PVC = presión venosa central; PC = presión cuña.

FC = frecuencia cardíaca

Índice cardíaco = gasto cardíaco/m²

FiO₂ = fracción inspirada de oxígeno

PaCO₂ = presión arterial de CO₂

PaO₂ = presión arterial de O₂

Fr = unidad French, 0.3 mm

SG-CCO = catéter de termodilución Swan Ganz de gasto cardíaco continuo

ECO-TT = ecocardiograma transtorácico

HES = hydroxyetyl starch

Basal = variables medidas

I0 = intercambio 0, medidas tomadas con animal consciente antes de la hemodilución

I1 = intercambio 1, medidas tomadas 30 minutos de terminado el intercambio 1

I2 = intercambio 2, medidas tomadas 30 minutos de terminado el intercambio 2

I3 = intercambio 3, medidas tomadas 30 minutos de terminado el intercambio 3

I4 = intercambio 4, medidas tomadas 30 minutos de terminado el intercambio 4

1h = 1 hora, medidas tomadas 1 hora de terminado el intercambio 4

2h = 2 horas, medidas tomadas 1 hora de terminado el intercambio 4

EDTA = Ácido Etilen Diamino Tetracético (anticogulante)

VAMP = sistema de extensión rígida para toma de muestras de medición de presión invasiva (Baxter).

Dosis = mg/kg (miligramo de medicamento x cada kilogramo de peso)

Volemia = volumen sanguíneo total