

PRODUCCION DEL ENFISEMA PULMONAR EXPERIMENTAL EN EL PERRO ★

B. Vicens*, G. Palacios**, A. Sitges***, X. Rius***, J. Bofill*** y J. Reventós***

Introducción

La definición de enfisema se basa en la actualidad en una constatación anatomopatológica. Así, la O.M.S. define como enfisema a «una sobredistensión de los espacios aéreos, con rotura de los septos interalveolares»¹.

La producción experimental de tales alteraciones en el animal presenta un gran interés, tanto para el estudio de su patogenia como de una posible profilaxia y tratamiento de esta importante enfermedad degenerativa.

Uno de los métodos, entre los utilizados para la producción del enfisema experimental, al que más aten-

ción se presta en la actualidad es el que se basa en la destrucción del tejido elástico pulmonar mediante la administración local de enzimas proteolíticas dotadas de acción elastolítica. En efecto, la posibilidad de producir un cuadro similar al del enfisema centrolobulillar o panlobulillar mediante la administración de papaína fue demostrada en la rata por Gross y cols.² y por Johanson jr. y cols.³ y en el perro por Marco y cols.⁴ y por Pushpakom y cols.⁵. Un efecto similar al de la papaína fue logrado con la elastasa pancreática por Johanson jr. y cols.⁶; en el curso del mismo experimento dicho autor fracasó con la colagenasa clostridial y anteriormente Gross y cols.² habían fracasado con α -quimotripsina.

El objeto del presente trabajo es la reproducción del enfisema experimental en el perro mediante la administración de papaína, estandarizando una técnica que nos permita la reproductibilidad necesaria para ulteriores investigaciones.

Material y métodos

Doce perros bastardos, no escogidos, fueron sometidos al siguiente protocolo experimental:

Tras haber sido anestesiados mediante pentotal sódico a la dosis de 30 mg/kg de peso, se les colocó un tubo endotraqueal. En ocho de esos animales, se colocó un catéter en la arteria pulmonar por vía venosa y otro en la aorta por vía arterial, siendo conectados a un electromanómetro. En todos los animales se practicó en este momento una biopsia pulmonar por toracotomía. A continuación se inyectó por el tubo traqueal una solución de 2 mg/kg de peso, de papaína en 10 c.c. de suero salino fisiológico. Inmediatamente se conectó al tubo traqueal el respirador (Bomba de Starling), de forma que mediante éste se facilitase la llegada de la solución de papaína hasta el nivel alveolar. Semanalmente y durante tres semanas, bajo anestesia general se administró a dichos perros un aerosol de papaína, a la dosis de 2 mg/kg de peso, a través del tubo de intubación traqueal. Durante una semana se administró por vía intramuscular 1 millón de unidades de Penicilina y 1/2 gr de Estreptomina diariamente.

Al mes de la primera dosis, se les practicó una biopsia pulmonar mediante toracotomía, indistintamente en uno u otro pulmón y se tomaron las presiones en aorta y arteria pulmonar. De 4 a 6 meses después de la primera biopsia, se practicó una nueva biopsia en el pulmón contralateral.

★ Este trabajo ha sido realizado mediante la ayuda de la «Fundación María Francisca Roviralta» de Barcelona.

* Servicio de Asmatología y Alergia. Director: R. Frouchtman. Hospital de la Santa Cruz y S. Pablo.

** Cátedra de Histología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Barcelona.

*** Servicio de Cirugía Experimental. Director: J. Reventós. Hospital de la Santa Cruz y S. Pablo.

Resultados

a) *Anatomía patológica.* En ninguna de las biopsias practicadas previamente a la inhalación de papaína, se hallaron alteraciones anatómo-patológicas compatibles con el enfisema pulmonar.

En todos los animales en que realizó una biopsia pulmonar mediante toracotomía, al cabo de un mes de iniciado el tratamiento con papaína, macroscópicamente se encontró un parénquima pulmonar, eréctil similar al del enfisema hipertrófico del lactante, y microscópicamente se observaron lesiones enfisematosas, aunque la intensidad de las mismas varió de un animal a otro, sin que mediase causa diferencial alguna. Las lesiones enfisematosas predominaron en áreas subpleurales. También pudieron ser observadas otras lesiones histológicas, como edema y hemorragia intraalveolares y focos neumónicos (figuras 1, 2 y 3).

En las biopsias efectuadas tardíamente (4-6 meses después de practicada la segunda biopsia, tras la inhalación de papaína) también se observaron alteraciones anatómopatológicas de tipo enfisematoso de la misma intensidad a las halladas previamente. En alguna de estas biopsias tardías, existían también focos neumónicos y zonas de edema en regresión (véanse tabla I, y figura 4).

b) *Manometría* (Tabla II). A pesar de la relatividad propia de las manometrías en la arteria pulmonar, dado que en su medición interfieren una gran cantidad de factores (anestesia, shock operatorio, acción del respirador, etc.) pudo observarse una tendencia a la elevación de las presiones pulmonares principalmente en el grupo de perros explorados tardíamente sin que las presiones aórticas se modificaran.

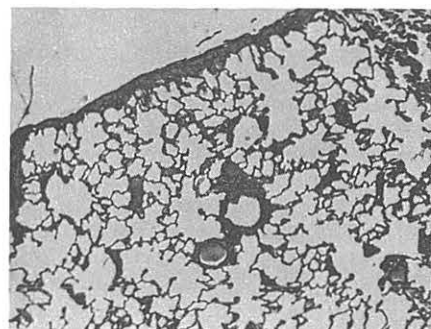


Figura 1. Imagen típica de enfisema pulmonar provocado por instilación traqueal de papaína, a las cuatro semanas. Obsérvese la localización subpleural con la ruptura de septos.

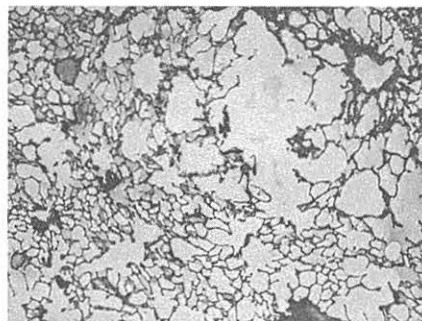


Figura 2. Otra imagen característica de enfisema producido por la instilación intratraqueal de papaína. Obsérvese el edema intra-alveolar.

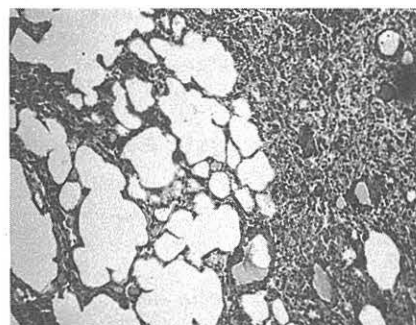


Figura 3. Imagen de enfisema pulmonar panlobulillar junto a una zona de atelectasia y neumonía.

TABLA I

Cronología de las inyecciones traqueales de papaína, relacionadas con el resultado anatómo-patológico de las biopsias pulmonares.

N.º	1.ª Inhal.	2.ª Inhal.	3.ª Inhal.	Biopsia previa papaína	1.ª Biopsia	2.ª Biopsia
692	5-X-71	13-X-71	20-X-71	5-X-71 Pulmón normal	25-X-71 Enfisema +++ Foco neumónico Edema. Hepatización	13-III-72 Enfisema +++ Atelectasia. Edema
693	8-X-71	14-X-71	20-X-71	8-X-71 Pulmón normal	28-X-71 Enfisema + En zonas subpleurales	14-III-72 Enfisema + En zonas subpleurales
697	18-X-71	25-X-71	31-X-71	18-X-71 Pulmón normal	6-XI-71 Enfisema +++ Quistes aéreos. Edema	7-XI-71 Fallece.
702	22-X-71	29-X-71	5-XI-71	22-X-71 Pulmón normal	12-XI-71 Enfisema + Infiltrados neumónicos. Edema.	9-III-71 Enfisema + subpleural
709	29-X-71	5-XI-71	12-XI-71	29-X-71 Pulmón normal	19-XI-71 Enfisema +++ Quistes. Atelectasia. Focos neumónicos	2-IV-72 Enfisema +++ Quistes. Edema
712	4-XI-71	11-XI-71	18-XI-71	4-XI-71 Pulmón normal	7-XII-71 Enfisema ++ Quistes. Edema. Focos neumónicos. Atelectasia	16-III-72 Enfisema ++ Quistes. Edema. Focos neumónicos en resolución. Atelectasia
713	5-XI-71	12-XI-71	19-XI-71	5-XI-71 Pulmón normal	6-XII-71 Enfisema +++ Sobre todo subpleural. Edema	13-III-72 Enfisema +++ Subpleural. Edema
721	12-XI-71	19-XI-71	27-XI-71 2-XII-71 16-XII-71	12-XI-71 Pulmón normal	16-XII-71 Enfisema ++ Sobre todo subpleural Atelectasia	1-VI-72 Enfisema ++ Atelectasia. Focos neumónicos en resolución
730	25-XI-71	1-XII-72	7-XII-72 14-XII-72 4-XII-72	Pulmón normal 25-XI-72	24-XII-72 Enfisema ++ Quistes aéreos. Focos neumónicos	23-III-72 Enfisema +++ Sobre todo subpleural
734	3-XII-71	9-XII-71	15-XII-71	3-XII-71 Pulmón normal	14-I-72 Enfisema + Edema	10-III-72 Enfisema +++ Edema
735	10-XII-72	15-XII-72	24-XII-72	10-XII-72 Pulmón normal	14-I-72 Enfisema +++ Zonas atelectásicas	10-III-72 Enfisema ++ subpleural. Foco neumónico en resolución
793	16-III-72	20-III-72	24-III-72	16-III-72 Pulmón normal	21-IV-72 Enfisema +++ Quistes aéreos. Atelectasia. Edema	1-IV-72 Enfisema +++ Quistes aéreos. Atelectasia

Excluyendo de la serie el perro n.º 712, que mostraba una clara hipertensión pulmonar de entrada, se obtuvieron los siguientes valores medios:

a. - Exploración precoz a las 4 semanas (6 casos).

Control antes de la papaína	Exploración precoz
A.A. 108/33	109/81
A.P. 29/8	30/14

b. - Exploración tardía después de los 3 meses (4 casos).

Control antes de la papaína	Exploración tardía
A.A. 120/60	121/78
A.P. 26/7	44/13

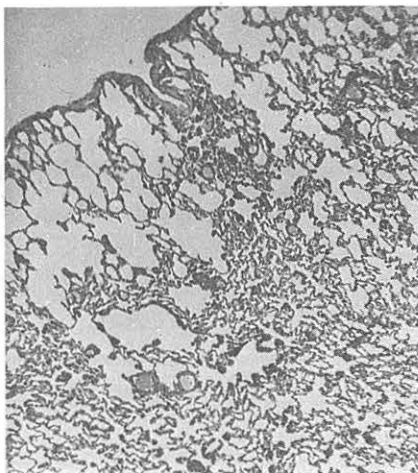


Figura 4. Imagen de enfisema pulmonar tras inhalación intratraqueal de papaína, a los 6 meses de haberse iniciado (3 inhalaciones en total, practicadas semanalmente durante 3 semanas consecutivas).

Discusión

Los métodos ensayados para intentar la producción del enfisema experimental en el animal de laboratorio han sido múltiples: obstrucción traqueal y sobredistensión pulmonar, inmovilización y descenso del diafragma⁷, alteración del tamaño y forma de la jaula torácica, sobredistensión de una zona por resección de la continua⁸, hipoxia crónica^{9,10}, broncoespasmo producido por eserina y pilocarpina¹⁰, alteración del lecho vascular pulmonar¹¹, insulto químico por polvo de nitrógeno¹², inhalación de polvo de cuarzo², exposición del tórax

a los rayos X¹³, sensibilización frente al propio tejido pulmonar¹⁴ y por destrucción química del tejido pulmonar mediante enzimas proteolíticas, α -quimotripsina² papaína^{2, 3, 4, 5}, colagenasa clostridial y elastasa pancreática⁶.

Sólo alguno de esos métodos se ha revelado realmente eficaces en la producción de lesiones anatomopatológicas similares a las del enfisema,

hipoxia crónica, alteración del lecho vascular pulmonar, inhalación de óxido de nitrógeno, exposición de los rayos X y administración intrapulmonar de papaína o elastasa pancreática.

El hecho de que sólo dos de los cuatro encimas proteolíticos ensayados hayan sido capaces de reproducir unas lesiones similares a las del enfisema, y que precisamente sean estos dos enzimas los únicos que presentan poder elastolítico, parece confirmar que la etiopatogenia en ese caso sea la elastolisis. No obstante se pueden oponer ciertos reparos a esa tesis ya que los perros tratados por Gross y cols.² con quimotripsina, no acusaron la aparición de signos de inflamación, lo que podría ser debido a que la α -quimotripsina hubiera sido neutralizada antes de que hubiera podido ejercer acción irritante alguna, si es que la tiene. Los resultados obtenidos in vitro con papaína, elastasa y colagenasa por Johanson jr.⁶ son difíciles de valorar ya que los mecanismos de respuesta del ser vivo estaban ausentes. En nuestros perros, las lesiones de neumonía eran tan evidentes, que creemos que el resultado anatomopatológico final podría deberse no sólo a la acción elastolítica de la papaína, sino a la resolución de la brutal neumonía química que se produce, y posiblemente a la degradación de la sustancia tensioactiva pulmonar con alteración de la estabilidad de los sacos alveolares.

Por otra parte, el que la acción prolongada de los rayos X, la inhalación de óxido de nitrógeno, la alteración del lecho vascular pulmonar y la hipoxia crónica sean capaces de producir lesiones similares a las del enfisema, insultos capaces de producir una inflamación del tejido pulmonar, sugiere que una inflamación aguda o crónica de los septos alveolares puede conducir a la aparición de enfisema.

Creemos pues, que el enfisema es una lesión a la que puede llegarse por diferentes caminos y que la producción experimental del mismo en el perro mediante la administración intrapulmonar de papaína, si bien no nos da ninguna luz sobre el discutido papel del déficit de α_1 -antitripsina en la génesis del enfisema esencial del hombre, evidentemente nos abre un camino para ulteriores estudios que tal vez puedan ser más resolutivos.

Reconocimiento. - Damos las gracias a la Srta. María Luisa Martínez, por habernos asistido en nuestros experimentos, y especialmente por haber practicado las inhalaciones de papaína en los perros.

TABLA II
Valores manométricos

N.º	Antes de la papaína	Después de la papaína	
		Precoz a las 4 semanas	Tardía después de 3 meses
693	A = 160/80 AP = 35/8	AP = 50/15	A = 175/90
709	A = 50/15 AP = 40/25	A = 85/60 AP = 50/20	—
712	A = 130/105 AP = 125/100	A = 170/80 AP = 105/80	—
713	A = 145/100 AP = 20/-5	A = 160/125 AP = 35/20	—
721	A = 160/100 AP = 20/12	—	A = 130/100 AP = 27/8
730	A = 60/10 AP = 10/5	A = 45/20 AP = 10/5	A = 123/70 AP = 35/20
734	A = 130/80 AP = 20/5	—	A = 92/62 AP = 55/5
735	A = 130/50 AP = 55/5	A = 92/62 AP = 65/10	A = 140/80 AP = 60/18
793	A = 110/50 AP = 15/5	A = 160/130 AP = 30/15	—
medias	A ... 110/80 AP ... 26/7	A ... 120/80 AP ... 40/18	A ... 120/50 AP ... 44/12

A = Presión en Aorta (mm de Hg).
AP = Presión en Arteria Pulmonar (mm de Hg).
* Medias, exceptuando el perro 712.

Resumen

En 12 perros bastardos fue provocado enfisema experimentalmente mediante la administración intratraqueal de papaína, ya sea por inyección directa, ya por aerosol, a dosis de 2 mg/kg de peso, semanalmente durante un mes. Transcurridas 5 semanas se procedió a la biopsia pulmonar, encontrándose enfisema en todos los casos, aunque en grado variable. No pudieron detectarse elevaciones conspicuas en la presión de la arteria pulmonar. Entre 4-6 meses tras haber cesado la inhalación de papaína volvió a practicarse una nueva biopsia pulmonar en el lado opuesto al que se había realizado la primera. Las lesiones enfisematosas persistían y eran del mismo grado que en la primera biopsia.

Summary

PULMONARY EMPHYSEMA PRODUCED EXPERIMENTALLY IN DOGS

Emphysema was provoked experimentally in twelve bastard dogs by means of the intratracheal administration of papain, both by direct injection and with aerosol, with doses of 2 mg per kilo of body weight per week over a period of one month. Five weeks afterwards a pulmonary biopsy was carried out and emphysema was found present in every case, although in varying degree. No conspicuous rise in the pressure of the pulmonary artery could be detected. Between four and six months after inhalation of the papain had ceased a further pulmonary biopsy was performed, this time on the opposite side to the previous one. The emphysematic lesions persisted, and in the same degree as on the first occasion.

BIBLIOGRAFIA

1. REPORT OF AN EXPERT COMMITTEE ON CHRONIC COR PULMONALE. W.H.O.: *Techn. rep. Serv.*, 213: 15, 1961.
2. GROSS, P., BABYAR, B.S., TOLKER, E.K., y KASCHAK, M.: Enzymatically Produced Pulmonary Emphysema. A Preliminary Report. *Jour. of Occupational Medicine.*, 6: 481, 1964.
3. JOHANSON, W.G. jr., PIERCE, A.K. y REYNOLDS, R.C.: The evolution of Papain Emphysema in the Rat. *J. Lab. Clin. Med.*, 78: 599, 1971.
4. MARCO, V., MERANZE, L.R., BENTIVOGLIO, G. y KIMBEL, Ph.: Papain induced Emphysema in the Dog. *Physiology.*, 526: 1.480, 1969.
5. PUSHPAKOM, R., HOGG, J.C., WOOLCOCK, A.J., MACKLEM, D.T. y THURLBECK, W.M.: Experimental Papain-Induced Emphysema in Dogs. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 102: 778, 1970.
6. JOHANSON, W.G. jr. y PIERCE, A.K.: Effects of Elastase Collagenase and Papain on Structure and Function of Rat Lungs in Vitro. *Jour. of Clin. Invest.*, 51: 288, 1972.
7. PAINE, J.R.: Studies in the Experimental production of pulmonary emphysema in animal. *Jour. Thor. Surg.*, 10: 150, 1940.
8. NISSEN, R.: Experimentelle Untersuchungen zur Theorie der Entstehung des Lungen Emphysems. *Deutsche Ztschr. f. Chir.*, 200: 177, 1927.
9. CAMPBELL, J.A.: Note on some pathological changes in the tissues during a tempted acclimatization to alterations of oxygen pressure in the air. *Brit. J. Exper. Path.*, 3: 347, 1927.
10. PRINZMETAL, M.: The relation of inspiratory distention of the lungs to emphysema. *J. Allergy*, 5: 493, 1933-1934.
11. WDKOWICZ, L. y ARMSTRONG, J.B.: The bronchial arteries in pulmonary emphysema. *Thorax*, 8: 46, 1953.
12. KLEINERMAN, J. y WRIGHT, G.W.: Experimental production of a lesions resembling human microbullons emphysema. *Fed. Proc.* 21: 439, 1962.
13. DE VILLIERS, A.J.: The morphologic changes induced in the lungs of hamsters and rats by external radiation (X-rays). A study of experimental carcinogenesis. Dissertation Submitted to the Graduate School of Public Health, University of Pittsburgh, in partial fulfillment of the requirements for the Degree of Doctor of Science. 1964.
14. CROWLE, F.: citado por EISEMAN, B., PETTY, T. y SILEN, W. (ref. 4).