



Universidad de Oviedo  
*Universidá d'Uviéu*  
*University of Oviedo*

**Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud**

Título de la tesis:

***“VENTILACIÓN DE ALTA FRECUENCIA OSCILATORIA CON  
FRECUENCIAS ELEVADAS Y VOLÚMENES TIDALES BAJOS COMO  
ESTRATEGIA DE PROTECCIÓN PULMONAR DE RECIÉN NACIDOS  
PREMATUROS”***

Nombre del Autor:

**Noelia González Pacheco**







Universidad de Oviedo  
 Universidá d'Uviéu  
 University of Oviedo

## RESUMEN DEL CONTENIDO DE TESIS DOCTORAL

1.- Título de la Tesis	
Español/Otro Idioma: "VENTILACIÓN DE ALTA FRECUENCIA OSCILATORIA CON FRECUENCIAS ELEVADAS Y VOLÚMENES TIDALES BAJOS COMO ESTRATEGIA DE PROTECCIÓN PULMONAR DE RECIÉN NACIDOS PREMATUROS"	Inglés: "USING HIGH FREQUENCIES WITH VERY LOW LUNG VOLUMES DURING HIGH-FREQUENCY OSCILLATORY VENTILATION TO PROTECT THE IMMATURE LUNG"
2.- Autor	
Nombre: Noelia González Pacheco	DNI/Pasaporte/NIE: -K
Programa de Doctorado: Doctorado en Ciencias de la Salud. Investigación en Enfermedades Pediátricas.	
Órgano responsable: Centro Internacional de Postgrado	

### RESUMEN (en español)

El daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica (VM) es una complicación grave debida, en parte, al empleo de volúmenes pulmonares elevados.

La ventilación de alta frecuencia oscilatoria (VAFO), que emplea volúmenes pulmonares infra-tidales, surgió como una prometedora estrategia de protección pulmonar en estudios animales; sin embargo, con los protocolos utilizados hasta el momento no ha sido posible demostrar en la clínica su potencial efecto beneficioso.

La incorporación del volumen garantizado (VG) en VAFO, gracias al ajuste independiente del volumen tidal (VThf) y la frecuencia, ha permitido desarrollar una nueva estrategia de protección pulmonar basada en el empleo de frecuencias muy altas (>15 Hz) para disminuir al máximo el VThf, manteniendo una ventilación adecuada y minimizando el volutrauma y el daño pulmonar asociado a la VM.

#### Objetivos:

1. Evaluar la factibilidad en la práctica clínica de esta nueva estrategia.
2. Evaluar la correlación  $DCO_2/PCO_2$  en VAFO con VG a lo largo de un rango de frecuencias crecientes, en diferentes situaciones respiratorias.
3. Demostrar que la instauración de esta estrategia de ventilación puede reducir el daño pulmonar.

#### Metodología:

1. Estudio descriptivo, prospectivo, en neonatos con insuficiencia respiratoria severa que precisaron soporte con VAFO. Inicialmente se programó el respirador con los parámetros clásicos (9-11 Hz). Tras comprobar una ventilación adecuada, se aumentó la frecuencia y se disminuyó el VThf, manteniendo una  $DCO_2$  constante. Se recogieron variables demográficas, clínicas, constantes hemodinámicas y gasométricas, comparando ambas situaciones.
2. Estudio experimental en lechones recién nacidos conectados a VAFO con VG a frecuencias crecientes (10-20 Hz) y VThf decrecientes, manteniendo una  $DCO_2$  constante. Con cada cambio se extrajo una gasometría para valorar la correlación  $DCO_2/PaCO_2$ , en 2 situaciones respiratorias: fisiológica y baja distensibilidad.
3. Estudio experimental en lechones recién nacidos con distrés respiratorio inducido y diferentes estrategias de ventilación: ventilación mecánica convencional (VMC) con parámetros de protección pulmonar, VAFO-10 Hz y VAFO- 20 Hz. El volumen tidal se ajustó para mantener normocapnia. Tras 12 horas de ventilación, se procedió al sacrificio de los animales para el estudio del patrón histológico, la detección de VEGF y expresión de genes de inflamación en tejido pulmonar.



**Resultados:**

1. Fue posible aumentar la frecuencia y disminuir el VThf en todos los pacientes, manteniendo una  $DCO_2$  similar, con cierta tendencia hacia la hiperventilación al alcanzar la máxima frecuencia.
2. Con el aumento de la frecuencia se objetivó una disminución lineal de  $PaCO_2$  a pesar de mantener una  $DCO_2$  constante, observando una diferencia significativa entre la  $PaCO_2$  inicial (10 Hz) y las obtenidas con 18 y 20 Hz, en ambas situaciones respiratorias. Se calculó una nueva ecuación de  $DCO_2$  para definir la relación  $DCO_2/PaCO_2$  observada.
3. Se objetivaron lesiones histológicas más evidentes y severas en los grupos de VMC (enfisema) y VAFO de 10 Hz con VThf elevados (infiltrado inflamatorio alveolar y consolidación parenquimatosa), en comparación al grupo de 20 Hz y VThf inferiores. No se observaron diferencias significativas ni en la detección de VEGF ni en la expresión de genes de inflamación entre grupos.

**Conclusiones:**

1. Es posible el uso de frecuencias muy elevadas, con el objetivo de reducir al máximo el VThf en VAFO con VG, manteniendo una ventilación adecuada y sin aparición de complicaciones.
2. La correlación  $DCO_2/PCO_2$  en un rango de frecuencias crecientes no es lineal, observándose una mayor eficacia de ventilación a frecuencias muy elevadas, a igualdad de  $DCO_2$ .
3. El uso de VThf muy bajos gracias al empleo de frecuencias elevadas en VAFO con VG, junto a un reclutamiento pulmonar óptimo, reduce la respuesta inflamatoria y el daño histológico pulmonar, pudiendo minimizar el daño pulmonar asociado a la VM en prematuros, en el periodo neonatal inmediato.

**RESUMEN (en Inglés)**

Ventilation induced lung injury (VILI) is a severe complication due in part to high lung volumes. High-frequency oscillatory ventilation (HFOV) uses infra-tidal lung volumes. It was developed as a promising lung protective ventilation technique in animal models; however, these positive effects were not reproduced consistently in the clinical trials. Thanks to the independent adjustment of high-frequency tidal volume (VThf) and frequency on HFOV combined with volume guarantee (VG), it has been possible to develop a new lung protective strategy based on the use of very high frequencies (>15 Hz) to reduce as much as possible the VThf, maintaining an adequate ventilation and minimizing volutrauma and VILI.

**Objectives:**

1. To evaluate the feasibility of using this new ventilation strategy in the clinical practice.
2. To examine the correlation  $DCO_2/PCO_2$  on HFOV combined with VG throughout increasing frequencies in two different respiratory conditions.
3. To verify that the use of this ventilation strategy may reduce lung damage.

**Methods:**

1. Newborn infants on HFOV due to severe respiratory insufficiency were prospectively included. After adequate ventilation was achieved using standard HFOV strategy (9-11 Hz), the frequency was increased while the VThf was gradually decreased, maintaining a constant  $DCO_2$ . Demographic characteristics, clinical course, patient's records and blood gas analysis were recorded. Initial and final situation were compared.
2. Neonatal animal model (six 2-day-old piglets). HFOV combined with VG was used. The frequency was increased from 10 to 20 Hz, and VThf was gradually decreased maintaining a constant  $DCO_2$ .  $PaCO_2$  was evaluated after each frequency and VThf change to evaluate  $DCO_2/PaCO_2$  correlation, in two different respiratory conditions, physiological and low compliance.
3. Experimental study in neonatal piglets with induced respiratory distress syndrome, ventilated with different ventilation strategies: conventional mechanical ventilation (CMV) using lung protective settings, HFOV-10 Hz and HFOV-20 Hz. Tidal volume was adjusted to normocapnia. After 12 hours of ventilation, animals were sacrificed for pulmonary histologic pattern study and VEGF and inflammatory genes expression quantification in the lung.



Universidad de Oviedo  
*Universidá d'Uviéu*  
*University of Oviedo*

#### RESUMEN (en Inglés)

**Results:**

1. It was possible to increase the frequency while decreasing the VThf in all the patients maintaining a similar  $DCO_2$ , with a tendency of a lower mean  $PCO_2$  after reaching the highest frequency.
2. A linear decrease in  $PaCO_2$  was observed throughout increasing frequencies in both respiratory conditions while maintaining a constant  $DCO_2$ , showing a significant difference between the initial  $PaCO_2$  (at 10 Hz) and the  $PaCO_2$  obtained at 18 and 20 Hz, in both respiratory conditions. A new  $DCO_2$  equation was calculated in order to better define the correlation between  $DCO_2$  and the observed  $PaCO_2$ .
3. More evident and more severe histological lesions were observed in CMV group (emphysema) and 10 Hz HFOV group with higher VThf (alveolar inflammatory infiltrate, as well as large areas of parenchyma consolidation) compared to 20 Hz HFOV group and very low VThf. No statistically differences were found between groups in VEGF and inflammatory genes expression.

**Conclusions:**

1. It is possible to use very high frequencies to decrease as much as possible delivered VThf during HFOV combined with VG, maintaining an adequate ventilation without complications.
2. The correlation between  $DCO_2$  and  $PCO_2$  throughout increasing frequencies is not linear, showing a greater  $CO_2$  elimination efficiency at higher frequencies, in spite of maintaining a constant  $DCO_2$ .
3. The use of very low tidal volume with increasing frequencies and an adequate lung volume recruitment in HFOV combined with VG reduces inflammatory response and lung histological damage. So, this new protective lung strategy may allow minimizing VILI in immature infants in the immediate neonatal period.

**SR. PRESIDENTE DE LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA DE DOCTORADO  
EN CIENCIAS DE LA SALUD**



## AGRADECIMIENTOS

A *Manuel Sánchez Luna*, la base de este proyecto y de mi experiencia con la Neonatología. Gracias por abrirme las puertas de la investigación, por tu confianza y apoyo constantes y por contagiarme la ilusión por esta especialidad tan bonita.

A *Fernando Santos Rodríguez*, por creer en el proyecto y darme la oportunidad de culminarlo.

A *Martín Santos y Paco Tendillo*, por acogerme en el laboratorio con tanto cariño y respeto, por su disponibilidad absoluta y ayuda interminable.

A *Cristina Orden*, por descubrir a mi lado este maravilloso mundo de la investigación.

A *Paz Chimenti y Cristina Arribas* por su inestimable ayuda con tantas horas de trabajo bien hecho.

A *Paula Palau y José Luis Jiménez*, por su ilusión por el proyecto y su dedicación en el procesamiento y análisis de las muestras.

A *Ester Sanz*, por emplear su tiempo libre en facilitar la lectura de esta tesis.

A *mis compañeros y amigos del Servicio de Neonatología*, por su colaboración en la parte clínica de este proyecto, por enseñarme y confirmar en mí; y muy especialmente por apoyarme durante estos últimos meses.

A *Jesús*, mi compañero de viaje, por estar siempre a mi lado, por ayudarme a crecer personal y profesionalmente.

A *mis hermanos, Álvaro y Alejandro*, mis dos imprescindibles, por su admiración y cariño, por protegerme y hacerme sentir que siempre podré contar con ellos.

A *Pili*, después de tantos años, casi como una hermana; a *Henar, Natalia, Carmen y Salvador*, por su cariño, siempre tan cercano y sus ánimos.

Y a mis tres pequeños, *Ana, Itziar y Dani*, por la energía que me transmiten con sus sonrisas y abrazos, por su inocencia y por enseñarme a centrarme en las cosas importantes de la vida.

Por último, a *mis amigos*, en especial a *Bea, Alberto y Carlos*, por hacerme sentir su admiración y por estar pendientes de mí durante todo este proyecto.

Sin todas estas personas esto habría sido imposible, gracias a cada uno de vosotros por aportar vuestro granito de arena para ayudarme a llegar hasta aquí.



*A mis padres, por su entrega y amor incondicional, por su paciencia absoluta, por dedicar su vida entera a sus hijos y sus nietos y por darme la oportunidad de ser quién soy.*



## ABREVIATURAS

*BAL*: lavado bronco-alveolar  
*C<sub>dyn</sub>*: complianza dinámica (distensibilidad)  
*CO<sub>2</sub>*: dióxido de carbono  
*CRF*: capacidad residual funcional  
*DAP*: ductus arterioso persistente  
*DBP*: displasia broncopulmonar  
*DCO<sub>2</sub>*: coeficiente de difusión de CO<sub>2</sub>  
*ECMO*: oxigenación por membrana extracorpórea  
*EG*: edad gestacional  
*EPM*: edad postmenstrual  
*FC*: frecuencia cardíaca  
*FiO<sub>2</sub>*: fracción inspirada de oxígeno  
*HIV*: hemorragia intraventricular  
*HLVS*: high lung volume strategy (estrategia de volumen pulmonar elevado)  
*Hz*: hercios  
*I:E*: inspiración : espiración  
*Il*: interleuquina.  
*LLVS*: low lung volume strategy (estrategia de volumen pulmonar bajo)  
*lpm*: latidos por minuto  
*LPV*: leucomalacia periventricular  
*LPVS*: lung protective ventilatory strategy (estrategia ventilatoria de protección pulmonar)  
*OLVS*: optimal lung volume strategy (estrategia de volumen pulmonar óptimo)  
*PaCO<sub>2</sub>*: presión parcial arterial de dióxido de carbono  
*PaO<sub>2</sub>*: presión parcial arterial de oxígeno  
*PEEP*: positive end expiratory pressure (presión positiva al final de la espiración)  
*PFA*: paraformaldehído  
*PIP*: presión inspiratoria pico  
*PMA*: presión media en la vía aérea  
*PRN*: peso de recién nacido  
*ROP*: retinopathy of prematurity (retinopatía de la prematuridad)  
*rpm*: respiraciones por minuto  
*SatO<sub>2</sub>*: saturación transcutánea de oxígeno  
*SDR*: síndrome de distrés respiratorio  
*SDRA*: síndrome de dificultad respiratoria aguda  
*TA*: tensión arterial  
*TAM*: tensión arterial media  
*TGF*: factor de crecimiento transformante  
*TNF*: factor de necrosis tumoral  
*UCIN*: unidad de cuidados intensivos neonatales  
*VAFO*: ventilación de alta frecuencia oscilatoria  
*VEGF*: vascular endothelial growth factor (factor de crecimiento del endotelio vascular)  
*VG*: volumen garantizado  
*VMC*: ventilación mecánica convencional  
*VT*: volumen tidal  
*VThf*: high frequency tidal volume (volumen tidal de alta frecuencia)  
 $\Delta P_{hf}$ : oscilación de presión alrededor de la presión media en la vía aérea



## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>19</b>
SÍNDROME DE DISTRÉS RESPIRATORIO. DBP. ....	21
VENTILACIÓN DE ALTA FRECUENCIA OSCILATORIA .....	22
ENSAYOS CLÍNICOS COMPARANDO VAFO FRENTE A VMC .....	23
FUNDAMENTOS DE LA VENTILACIÓN DE ALTA FRECUENCIA OSCILATORIA .....	31
ESTRATEGIAS DE OXIGENACIÓN Y VENTILACIÓN EN VAFO .....	37
VOLUMEN GARANTIZADO EN VAFO .....	39
ESTRATEGIA DE PROTECCIÓN PULMONAR EN VAFO .....	44
<b>ESTUDIOS</b> .....	<b>45</b>
USO DE FRECUENCIAS MUY ELEVADAS Y VOLÚMENES TIDALES MUY BAJOS EN VENTILACIÓN DE ALTA FRECUENCIA OSCILATORIA PARA PROTEGER EL PULMÓN INMATURO. ESTUDIO PILOTO .....	47
<i>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</i> .....	47
<i>MATERIAL Y MÉTODOS</i> .....	48
<i>RESULTADOS</i> .....	53
CORRELACIÓN DCO <sub>2</sub> /PaCO <sub>2</sub> EN VENTILACIÓN DE ALTA FRECUENCIA OSCILATORIA CON VOLUMEN GARANTIZADO A FRECUENCIAS CRECIENTES.....	59
<i>JUSTIFICACIÓN</i> .....	59
<i>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</i> .....	59
<i>MATERIAL Y MÉTODOS</i> .....	60
<i>RESULTADOS</i> .....	63
VENTILACIÓN MECÁNICA DE ALTA FRECUENCIA OSCILATORIA CON FRECUENCIAS ELEVADAS Y VOLÚMENES TÍDALES MUY BAJOS COMO ESTRATEGIA DE PROTECCIÓN PULMONAR EN EL SÍNDROME DE DISTRÉS RESPIRATORIO DE LECHONES RECIÉN NACIDOS .....	69
<i>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</i> .....	69
<i>MATERIAL Y MÉTODOS</i> .....	70
<i>RESULTADOS</i> .....	79
<i>RESPIRADOR</i> .....	89
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>91</b>
FACTIBILIDAD DE VENTILACIÓN CON FRECUENCIAS ELEVADAS Y VOLÚMENES TIDALES BAJOS. VG EN VAFO .....	93
EFICACIA DE VENTILACIÓN .....	101
PROTECCIÓN PULMONAR.....	107
<i>RECLUTAMIENTO PULMONAR ÓPTIMO</i> .....	107
<i>DISMINUCIÓN DEL DAÑO PULMONAR SECUNDARIO A SOBREDISTENSIÓN</i> .....	109
<i>ESTRATEGIA DE PROTECCIÓN PULMONAR EN RECIÉN NACIDOS PREMATUROS</i> .....	116
<i>ESTRATEGIA DE PROTECCIÓN PULMONAR PRECOZ</i> .....	117
<i>FACTOR DE CRECIMIENTO DEL ENDOTELIO VASCULAR</i> .....	118
LIMITACIONES.....	119
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>123</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>127</b>

<b>ANEXOS .....</b>	<b>141</b>
HOJA INFORMATIVA Y CONSENTIMIENTO INFORMADO ESTUDIO DE FACTIBILIDAD ...	143
DICTAMEN COMITÉ ÉTICO.....	147
MODELO ANIMAL .....	149
<b>PUBLICACIONES .....</b>	<b>151</b>

# INTRODUCCIÓN





## SÍNDROME DE DISTRÉS RESPIRATORIO. DISPLASIA BRONCOPULMONAR.

---

Gracias a los avances en el manejo de los recién nacidos prematuros, la supervivencia de los pretérminos más inmaduros ha aumentado a lo largo de los últimos años. Este aumento en la supervivencia ha ido acompañado de una disminución moderada de la morbilidad mayor asociada a la inmadurez, aunque con un aumento en la incidencia de displasia broncopulmonar (DBP). Esta patología continúa siendo la morbilidad más frecuente en este grupo de pacientes, afectando a más del 70% de los recién nacidos prematuros menores de 25 semanas en sus formas moderada-severa (1,2).

La DBP es una enfermedad de etiología multifactorial, caracterizada por una interrupción del crecimiento y desarrollo normal de la vascularización pulmonar y de la vía aérea, sobre la que actúan distintos factores como la respuesta inflamatoria pre y postnatal, la exposición al oxígeno y el daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica (3). La sobre-expansión alveolar secundaria al uso de volúmenes tidales elevados (*volutrauma*) con altas presiones inspiratorias positivas (*barotrauma*), así como el daño alveolar secundario al colapso repetido al final de la espiración (*atelectotrauma*), son los principales determinantes del *daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica* (4). De manera adicional, existen múltiples trabajos que demuestran que la propia sobredistensión alveolar estimula la liberación de citoquinas proinflamatorias, las cuales atraen a los leucocitos de la circulación periférica al pulmón, amplificando el daño pulmonar preexistente e interfiriendo en el proceso de alveolarización (*biotrauma*) (5,6).

El *daño pulmonar inducido o asociado a la ventilación mecánica* puede ser reducido mediante el uso de estrategias ventilatorias protectoras, basadas en la reducción de la magnitud y la duración de la ventilación mecánica, siempre y cuando no sea posible evitarla. Una de estas estrategias de ventilación consiste en el uso de frecuencias respiratorias elevadas con el objetivo de disminuir al máximo el volumen tidal (VT) y reducir de este modo el volutrauma y la liberación de mediadores inflamatorios, manteniendo un intercambio gaseoso adecuado (7,8).

### VENTILACIÓN DE ALTA FRECUENCIA OSCILATORIA

La **ventilación de alta frecuencia oscilatoria (VAFO)** surgió a finales de los años 70 como una nueva técnica de ventilación mecánica basada en el empleo de volúmenes tidales inferiores al espacio muerto anatómico ( $<2,7$  ml/kg), entregados a frecuencias respiratorias supra-fisiológicas ( $> 3$  hercios (Hz) = 180 ciclos/min; 1 Hz = 60 ciclos/min), mediante un circuito que mantiene una presión de distensión continua sobre la vía aérea (9–11).

A diferencia de la ventilación mecánica convencional (VMC), la VAFO demostró una mayor eficiencia en el intercambio gaseoso con valores inferiores de presión pico a nivel alveolar, mínimas variaciones en las presiones y volúmenes alveolares, manteniendo un volumen pulmonar relativamente constante por encima de su capacidad residual funcional (CRF); minimizando así los efectos del volutrauma, barotrauma (12) y atelectotrauma. De esta manera, se mostró como una técnica prometedora de protección pulmonar en estudios animales (13,14).

## ENSAYOS CLÍNICOS COMPARANDO VAFO FRENTE A VMC

---

El primer ensayo clínico multicéntrico, controlado y aleatorizado diseñado para comparar la eficacia y seguridad de la VAFO frente a la VMC en el síndrome de distrés respiratorio (SDR) del prematuro fue realizado en 1986 por el grupo "HIFI" (15). Incluyó un total de 673 recién nacidos prematuros con insuficiencia respiratoria susceptible de ventilación mecánica en las primeras 24 horas de vida. No sólo no encontraron diferencias significativas en la incidencia de DBP, mortalidad o necesidad de ventilación mecánica a los 28 días de vida, sino que observaron una mayor tasa de complicaciones neurológicas en el grupo de VAFO, como la hemorragia intraventricular (HIV) severa, grados III-IV, y la leucomalacia periventricular (LPV). Este ensayo fue posteriormente criticado debido a que había sido llevado a cabo en la era "pre-surfactante", utilizando presiones medias en la vía aérea bajas, sin establecer previamente una estrategia de reclutamiento pulmonar y debido también a la escasa experiencia en esta nueva técnica de ventilación mecánica de la mayoría de los centros participantes (16-18). Las complicaciones neurológicas observadas fueron secundarias, fundamentalmente, al efecto de la hipocapnia en el cerebro inmaduro del recién nacido prematuro, poniendo de manifiesto la mayor potencia en el aclaramiento de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) de la VAFO y pudiendo haber sido evitada mediante la monitorización estrecha de los niveles de CO<sub>2</sub> en estos pacientes (17).

En la segunda fase del estudio fueron evaluadas a largo plazo las secuelas respiratorias y neurológicas de los supervivientes, no observando diferencias estadísticamente significativas en la valoración de la función pulmonar a los 9 meses de edad postmenstrual (EPM) entre ambos grupos (VAFO y VMC) (19); tampoco observaron diferencias significativas en la evaluación del neurodesarrollo a los 18 meses de EPM, exceptuando un aumento sutil del déficit neurológico en el grupo de VAFO, en relación a la mayor proporción de supervivientes con HIV severa observada en el seguimiento de este grupo (20).

Debido a la controversia originada en relación a los resultados del estudio HIFI, durante los años 90 se llevaron a cabo otros ensayos clínicos controlados y aleatorizados, la mayoría multicéntricos, en Europa, Estados Unidos y Asia (21-27). Las conclusiones de estos

estudios fueron muy heterogéneas, no pudiendo reproducir consistentemente los efectos positivos de la VAFO observados en experimentación animal (*Tabla 1*). A diferencia del estudio HIFI, en la mayoría de los ensayos se llevó a cabo una estrategia de “volumen pulmonar óptimo”, realizando inicialmente, tras el paso a VAFO, una maniobra de reclutamiento pulmonar mediante el aumento progresivo de la presión media en la vía aérea (PMA) hasta conseguir una mejoría en la oxigenación; con una única excepción, el ensayo clínico de Rettwitz-Volk et al (25).

**Tabla 1.** Ensayos clínicos controlados y aleatorizados realizados durante los años 90 con el objetivo de comparar la seguridad y eficacia de la ventilación de alta frecuencia oscilatoria en relación a la ventilación mecánica convencional.

Estudio	N	Surfactante	EG (ss)	PRN (g)	Inicio VAFO (hdv)	Resultados (VAFO vs VMC)
Clark 1992	83	0%	28	1.100	8	< DBP a los 30 ddv y 36 ss
Ogawa 1993	92	78%	29	1.250	2	No diferencias
Gerstmann 1996	125	100%	30	1.500	3	< DBP a los 30 ddv
Rettwitz-Volk 1998	96	100%	28	1.100	1	No diferencias
Thome 1999	284	70%	27	850	1	No diferencias
Plavka 1999	37	67%	26	835	<0,5	< DBP a las 36 ss

EG: edad gestacional media (ss: semanas); PRN: peso de recién nacido medio (g: gramos); Inicio VAFO: media de inicio de VAFO en horas de vida (hdv); DBP: displasia broncopulmonar; ddv: días de vida.

Solo uno de estos grupos, el de Gerstmann et al. (28), publicó en un segundo tiempo el resultado del seguimiento de los supervivientes del estudio. Dichos autores concluyeron que la disminución en la morbilidad pulmonar neonatal objetivada con el uso precoz de VAFO y con una estrategia de reclutamiento pulmonar, junto a la administración de surfactante, se asociaba a menor disfunción pulmonar a largo plazo (a los 6 años de edad).

Con el objetivo de analizar la relación descrita por el grupo HIFI entre el riesgo aumentado de HIV y LPV y la asistencia ventilatoria con VAFO, a finales de los años 90 se publicó un

meta-análisis de 9 ensayos clínicos que comparaban ventilación de alta frecuencia (5 VAFO (15,21–24) y 4 tipo jet) con VMC. No fueron detectadas diferencias en la incidencia de HIV de cualquier grado ni de HIV severa entre ambas modalidades de ventilación; tampoco en la incidencia de LPV al excluir el estudio HIFI. De este modo, concluyeron que la estrategia de tratamiento y ventilación jugaba un papel de mayor importancia que la propia modalidad de ventilación en el riesgo de lesión neurológica aguda (29).

Para evitar la heterogeneidad entre los ensayos clínicos realizados, desde principios del siglo XXI fueron apareciendo meta-análisis por subgrupos y análisis de meta-regresión (16,30–33). Estos estudios analizaron las posibles diferencias en el efecto de la VAFO en función de: las características de los pacientes incluidos (edad gestacional (EG), peso de recién nacido (PRN), adecuado o bajo peso para la edad gestacional); la patología y medicación perinatal (corioamnionitis, administración de corticoides antenatales) y postnatal (administración de surfactante exógeno, corticoides postnatales...); la severidad de la enfermedad pulmonar en el momento de la aleatorización; las horas de vida al inicio de la VAFO incluyendo el tiempo de VMC previo al inicio de VAFO; la definición de DBP; y el tipo de respirador y estrategia ventilatoria tanto en VAFO como en VMC, introduciendo el concepto de *estrategia de protección pulmonar* (16,31).

✓ En **VAFO** se definieron 2 estrategias de ventilación:

- *LLVS* (“*low lung volume strategy*” = *estrategia de volumen pulmonar bajo*): PMA baja con fracción inspirada de oxígeno (FiO<sub>2</sub>) elevada.
- *HLVS* (“*high lung volume strategy*” = *estrategia de volumen pulmonar elevado*) u *OLVS* (“*optimal lung volume strategy*” = *estrategia de volumen pulmonar óptimo*): uso de una PMA mayor que la utilizada en VMC durante la fase inicial de estabilización, con el objetivo de conseguir el reclutamiento de los alveolos colapsados, mejorando la oxigenación como resultado del aumento de la superficie pulmonar de intercambio gaseoso y la disminución del cortocircuito intrapulmonar derecha-izquierda. Esta estrategia se fundamenta en dos principios básicos: utilizar una PMA inicial 1-2 cm H<sub>2</sub>O

superior a la que se precisaba en VMC y descender la  $FiO_2$  antes de empezar a disminuir la PMA.

- ✓ En VMC, la estrategia de protección pulmonar (LPVS: “*lung protective ventilatory strategy*”) se estableció con el uso inicial de una presión positiva al final de la espiración (PEEP)  $\geq 4$  cm H<sub>2</sub>O para evitar el atelectotrauma, una presión parcial arterial de CO<sub>2</sub> (PaCO<sub>2</sub>) objetivo  $\geq 40$  mm Hg, limitando el volumen tidal a 6-7 ml/kg mediante el uso de frecuencias respiratorias altas ( $\geq 60$  rpm) y un tiempo inspiratorio inferior a 0.5 segundos para evitar la espiración espontánea durante la fase inspiratoria.

A continuación se resumen los resultados de algunos de estos meta-análisis y análisis de meta-regresión de ensayos clínicos controlados y aleatorizados diseñados para evaluar la eficacia y seguridad del uso electivo de VAFO frente a VMC en el SDR del prematuro.

- El *meta-análisis de Thome UH et al. (2005)* (31) incluyó 17 ensayos clínicos controlados y aleatorizados que comparaban el uso electivo (primeras 24 horas de vida) de VAFO frente a VMC en recién nacidos prematuros que precisaron ventilación mecánica, fundamentalmente como consecuencia del SDR del prematuro (3.776 pacientes). Estos autores llegaron a la conclusión de que la optimización de la estrategia de ventilación en ambas modalidades daba lugar a resultados similares en cuanto a morbilidad pulmonar a corto plazo, no pudiendo recomendar el uso electivo de VAFO frente a VMC debido al riesgo aumentado de fuga aérea y el mayor coste de los respiradores de VAFO.
- El *análisis de meta-regresión de Bollen CW et al. (2007)* (32) englobó 15 ensayos clínicos controlados y aleatorizados sobre el uso electivo (primeras 24 horas de vida) de VAFO frente a VMC en el SDR del prematuro (EG < 36 semanas y PRN < 2.000 g); no encontraron diferencias significativas en el desarrollo de DBP o mortalidad entre ambas modalidades de ventilación al analizar por subgrupos de pacientes con mayor riesgo de DBP (prematuros extremos) o en función del tiempo de VMC previo al inicio de

VAFO. Como en el caso anterior, los autores concluyeron que las diferencias en los resultados de los ensayos clínicos analizados eran debidas fundamentalmente a la estrategia de ventilación empleada, más que a la modalidad de la misma.

- En el año 2009 fue publicado el *meta-análisis de datos de pacientes individuales del grupo de estudio para la prevención del daño pulmonar inducido por la ventilación mecánica (PreVILIG)* (16,34), incluyendo un total de 10 ensayos clínicos controlados y aleatorizados diseñados para evaluar la efectividad y seguridad del uso electivo de VAFO frente a VMC en prematuros (EG < 35 semanas y/o PRN < 2.000 g) con insuficiencia respiratoria subsidiaria de ventilación mecánica secundaria a SDR (3.229 pacientes). De nuevo, no encontraron diferencias estadísticamente significativas en la incidencia de DBP (necesidad de oxígeno a las 36 semanas de EPM), mortalidad o lesión neurológica severa (HIV III-IV o LPV) entre ambas modalidades. Cabe destacar que observaron un riesgo aumentado de fuga aérea de cualquier grado (fundamentalmente enfisema intersticial) en el grupo de VAFO, no existiendo diferencias estadísticamente significativas en la incidencia de fuga aérea severa, con repercusión clínica. Por el contrario, el uso de VAFO se asoció a una menor tasa de cierre quirúrgico del ductus arterioso persistente (DAP) y de retinopatía de la prematuridad (ROP) moderada-severa (grado  $\geq 2$ ), en probable relación al descenso rápido de FiO<sub>2</sub> tras la maniobra de reclutamiento pulmonar en esta modalidad, a diferencia del descenso más lento observado en el grupo de VMC.

En el análisis por subgrupos solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en relación al tiempo transcurrido desde la intubación hasta la randomización e inicio de la modalidad ventilatoria asignada; de modo que, el grupo de prematuros aleatorizados a las 1-4 horas de la intubación parecían beneficiarse significativamente de la VAFO en comparación con aquellos randomizados en la primera hora tras la intubación y después de 4 horas de la misma (reflejando el tiempo de VMC antes de iniciar la VAFO). Estudios en animales sugieren que el inicio precoz de la VAFO es crítico en la prevención del daño pulmonar (35); sin embargo, las condiciones controladas en animales son difícilmente reproducibles en neonatos. Por otro lado, el inicio precoz de la VAFO en los ensayos clínicos analizados no siempre

estuvo relacionado con la severidad de la insuficiencia respiratoria, como en los estudios animales. En relación a este último punto, cabe destacar el resultado de dos de los ensayos clínicos incluidos en el meta-análisis.

- ✓ El 65% de los neonatos aleatorizados en la primera hora tras la intubación procedían del *ensayo clínico multicéntrico del grupo británico "UKOS" (2002)* (36), en el que se incluyeron todos los recién nacidos prematuros menores de 29 semanas de EG que precisaron intubación endotraqueal en la reanimación, independientemente de la severidad de su enfermedad pulmonar. No encontraron diferencias significativas en la incidencia de DBP, mortalidad ni lesión cerebral severa entre VMC y VAFO; sin embargo, observaron cómo el uso de distintos respiradores de alta frecuencia podía condicionar una diferente incidencia de complicaciones.
  
- ✓ El 55% del subgrupo de neonatos aleatorizados a las 1-4 horas de la intubación procedían del *ensayo clínico multicéntrico de Courtney et al. (2002)* (37), en el que fueron incluidos aquellos prematuros de 601 a 1200 g. que, después de haber recibido la primera dosis de surfactante, precisaron VMC con  $FiO_2 \geq 0,25$  y PMA  $\geq 6$  cm H<sub>2</sub>O durante las primeras 4 horas de vida y con perspectivas de requerir ventilación mecánica en las siguientes 24 horas. A diferencia del grupo británico, utilizaron un rango de frecuencias superior (10-15 Hz vs 10 Hz), observando una disminución significativa en los días de vida hasta la extubación definitiva en el grupo de VAFO, con aumento de la tasa de supervivencia sin necesidades de oxígeno suplementario a las 36 semanas de EPM y sin aumento en la incidencia de complicaciones neurológicas; así, concluyeron que la VAFO ofrecía un pequeño pero significativo beneficio en centros con experiencia en esta modalidad, en este grupo de prematuros de muy bajo peso.

Es preciso señalar que, a pesar de que inicialmente el grupo británico no encontró diferencias significativas a corto y medio plazo entre ambas modalidades de

ventilación (incidencia de DBP y seguimiento al año y 2 años de EPM) (38,39), en el seguimiento a largo plazo de los supervivientes del estudio sí se observó una mejor función pulmonar, evaluada entre los 11 y 14 años de edad, en el grupo que recibió VAFO (40). En la evaluación del neurodesarrollo solo se detectaron diferencias estadísticamente significativas en las habilidades viso-espaciales, nuevamente a favor del grupo tratado con VAFO.

- La última *revisión Cochrane (2015)* (33) sobre el uso electivo (primeras 12 horas de vida) de VAFO frente a VMC en la insuficiencia respiratoria secundaria al SDR del prematuro incluyó un total de 19 ensayos clínicos (4.096 pacientes). Entre sus resultados destaca la reducción escasa, aunque significativa, en la necesidad de oxígeno a los 28-30 días de vida, así como en la incidencia de DBP a las 36-37 semanas de EPM observada a favor de la VAFO en el subgrupo de ensayos clínicos en los que se llevó a cabo una estrategia de reclutamiento pulmonar en esta modalidad. Del mismo modo, se objetivó una disminución significativa de DBP a las 36-37 semanas de EPM en las siguientes situaciones: en ausencia de administración exógena de surfactante, con el uso de osciladores de pistón frente a los interruptores de flujo, en el subgrupo en que la aleatorización se realizó entre las 2 y 6 horas de vida (acorde a las observaciones del grupo *PreVILIG*) (16) y, fundamentalmente cuando no se utilizó una estrategia de protección pulmonar en VMC.

En el análisis global, no observaron diferencias entre ambas modalidades de ventilación ni en la tasa de mortalidad, ni en la incidencia de HIV, HIV severa o LPV; aunque en el análisis del subgrupo de ensayos que no utilizaron una estrategia de reclutamiento pulmonar en VAFO sí se objetivó un aumento en la incidencia de esta patología.

Por último, señalar el descenso significativo en la incidencia de ROP grado  $\geq 2$  a favor de la VAFO, pero con un ligero aumento en el riesgo de fuga aérea en este grupo, que no se mantuvo al analizar únicamente la fuga aérea severa.

El análisis de los resultados de los ensayos clínicos y meta-análisis que han evaluado los efectos del uso de la VAFO en la incidencia de DBP sugiere que la mejoría en los resultados obtenidos en los estudios más recientes podría estar relacionada con los siguientes factores:

la administración de surfactante exógeno, el empleo de estrategias de “volumen pulmonar óptimo” en VAFO y protección pulmonar en VMC, la experiencia de cada centro con los respiradores y protocolos empleados, y la selección de los pacientes candidatos a beneficiarse de esta modalidad de ventilación. Estos son: los prematuros de menor edad gestacional y la insuficiencia respiratoria progresiva en las primeras horas de vida refractaria a VMC y sugestiva, por lo tanto, de enfermedad pulmonar moderada-severa; coincidiendo así con la hipótesis de Froese et al. (17) sobre las indicaciones de VAFO en estos pacientes.

Es posible que la ausencia de resultados concluyentes sea debida, en gran parte, a la elevada heterogeneidad en la metodología de los diferentes ensayos, fundamentalmente en relación a los equipos, la estrategia ventilatoria y los parámetros utilizados, así como al empleo de respiradores que no medían los volúmenes pulmonares entregados, siendo estos el resultado de la oscilación de presión alrededor de la PMA ( $\Delta P_{hf}$ ) y la frecuencia programadas. Como consecuencia, se han empleado en muchos casos volúmenes tidales de alta frecuencia ( $V_{Thf}$ ) superiores al espacio muerto anatómico (41), anulando así el potencial efecto protector de la VAFO frente a la VMC; algo que ya fue apreciado en el ensayo UKOS.

Por último, y de cara al diseño de nuevos ensayos clínicos en el futuro, resaltar que, a pesar de los múltiples ensayos clínicos diseñados para evaluar la efectividad y seguridad de la VAFO en el SDR del prematuro, muy pocos grupos han publicado posteriormente los resultados de su seguimiento a medio-largo plazo, siendo en la mayoría de las ocasiones prometedores (28,40).

## FUNDAMENTOS DE LA VENTILACIÓN DE ALTA FRECUENCIA OSCILATORIA

---

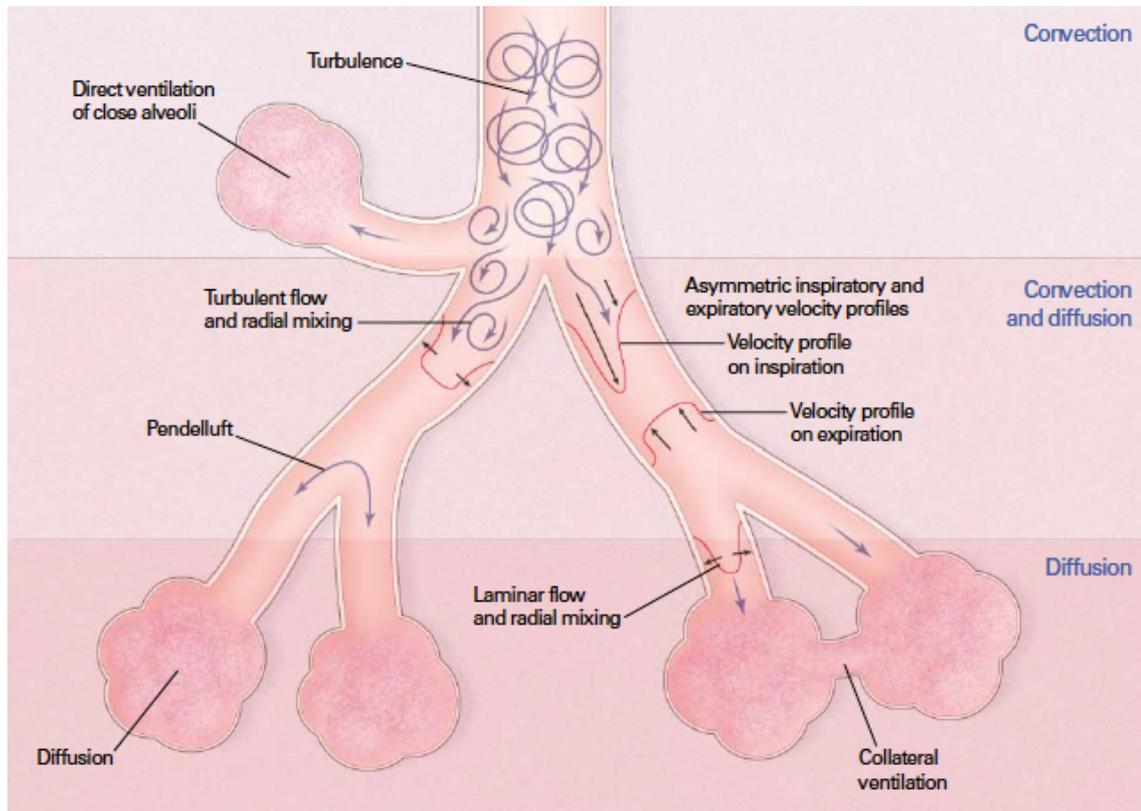
Existen diferentes fenómenos que afectan al transporte e intercambio gaseoso en VAFO, dependientes de dos mecanismos básicos: *convección* (transporte gaseoso dependiente del “bulk flow”) y *difusión molecular* (mezcla de moléculas de dos gases diferentes debido al movimiento browniano); o de la combinación de ambos (*Fig. 1*) (42–46):

1. *Ventilación alveolar directa de alveolos principales (“bulk convection”)*. Las unidades alveolares más próximas a la carina (fundamentalmente las localizadas en el lóbulo superior derecho) son directamente ventiladas, a diferencia del resto de áreas del pulmón que no tienen contacto directo con el oxígeno en la primera insuflación. Este mecanismo es dependiente del volumen tidal que reciben estas unidades alveolares, siendo este superior al espacio muerto “regional” y favoreciendo de esta manera el transporte e intercambio gaseoso. De este modo, el uso de VThf inferiores al 50-75% del espacio muerto, disminuye drásticamente la contribución de la ventilación alveolar directa al intercambio gaseoso.
2. *Pendelluft*. La existencia de constantes de tiempo heterogéneas en diferentes unidades alveolares, como consecuencia de diferencias en su resistencia y complianza, favorece el intercambio gaseoso entre unidades alveolares paralelas, y con ello, una mayor uniformidad en la concentración de gases entre diferentes áreas del pulmón. Al final de la inspiración, el aire fluye desde unidades alveolares con constantes de tiempo inferiores (“rápidas”) que están empezando a vaciarse, hacia otras unidades alveolares más “lentas” (con constantes de tiempo más largas) que aún siguen en fase de llenado. Del mismo modo, al final de la espiración, se produce un flujo de aire desde las unidades alveolares lentas, que aún no han terminado de vaciarse, hacia otras más rápidas, que están listas para iniciar el llenado.
3. *Flujos inspiratorios y espiratorios con perfiles de velocidad asimétricos*. Debido a la asimetría en sus perfiles de velocidad, en la región inmediatamente distal a una

bifurcación del árbol bronquial, el gas rico en oxígeno es impulsado hacia el alveolo por la región interior de la vía aérea, mientras que el gas alveolar, pobre en oxígeno, es eficientemente aclarado hacia la vía aérea proximal por la región externa de la misma.

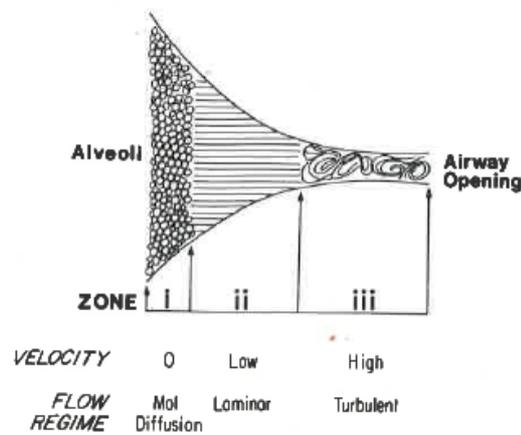
4. **Flujo inspiratorio turbulento en la vía aérea superior.** Durante la fase inspiratoria, en la vía aérea de mayor calibre se crea un flujo turbulento, en forma de “remolino”, que permite el transporte rápido de oxígeno por su superficie. Este flujo inspiratorio turbulento en la vía aérea superior favorece el intercambio lateral de oxígeno por *convección* (“radial convective mixing”). Durante la fase espiratoria, este fenómeno disminuye, permitiendo la eliminación de CO<sub>2</sub>.
5. **Flujo laminar en las ramificaciones secundarias del árbol bronquial,** que favorece el transporte lateral por *difusión* (dispersión laminar de Taylor). Por debajo de esta zona, el flujo desacelera para asegurar la difusión molecular óptima del gas en la región pulmonar distal, hasta hacerse prácticamente nulo a nivel alveolar (área de intercambio gaseoso de la membrana alveolo-capilar).
6. **Intercambio gaseoso “cardiogénico”.** Las contracciones rítmicas del corazón favorecen la mezcla periférica de gas al promover la generación de un flujo de gas sincrónico en el parénquima pulmonar adyacente. Este flujo oscilatorio en la vía aérea es directamente proporcional a la diferencia en la presión parcial del gas entre la vía aérea y el alveolo, contribuyendo de manera importante al transporte de oxígeno, y sin embargo, siendo despreciable su efecto sobre el transporte de CO<sub>2</sub> (47).

**Figura 1.** Mecanismos de transporte e intercambio gaseoso en VAFO, adaptado de Slutsky et al. (43).



En base a lo descrito, conceptualmente el pulmón se puede dividir en 3 zonas: la *región alveolar*, donde la velocidad del flujo de gas es prácticamente cero (como consecuencia de su elevada área transversal en relación con otras zonas del pulmón) y la *difusión molecular* es el principal mecanismo de intercambio gaseoso; la *vía aérea inferior*, con flujo de gas lento y laminar, que favorece la *dispersión laminar*; y la *vía aérea superior*, con flujo de gas elevado y turbulento, en la que predominan los mecanismos de *convección* (Fig. 2).

**Figura 2.** Mecanismos de transporte e intercambio gaseoso en VAFO en las diferentes regiones pulmonares, adaptado de Slutsky et al. (42).

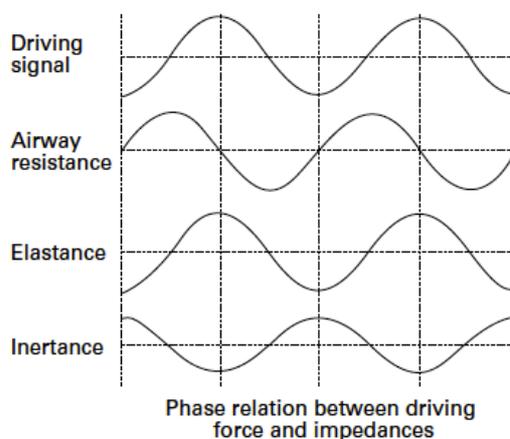


Estos mecanismos de transporte e intercambio gaseoso se ven influidos por el  $V_{Thf}$  y la frecuencia; de este modo, los mecanismos de difusión dependen mayoritariamente del producto  $V_{Thf} \times f$  (a frecuencias elevadas y  $V_{Thf}$  bajos), mientras que los de convección dependen fundamentalmente del  $V_{Thf}$  (a  $V_{Thf}$  elevados). Así, al aumentar el  $V_{Thf}$ , existe una transición progresiva en el mecanismo de transporte gaseoso, pasando de la difusión molecular y la dispersión laminar, dependientes únicamente del producto  $V_{Thf} \times f$ , a la convección, con ventilación alveolar directa, dependiente del  $V_{Thf}$  (44,48,49).

A  $V_{Thf} \times f$  constante, el aumento del  $V_{Thf}$  (con disminución proporcional de la frecuencia) mejora la ventilación regional de las áreas basales, desde las zonas más centrales, sin cambios en la ventilación de la región apical. Por el contrario, el aumento del producto  $V_{Thf} \times f$  a  $V_{Thf}$  constante, aumenta la ventilación global sin afectar a la distribución regional de la misma. El hecho de que el aumento del  $V_{Thf} \times f$  a  $V_{Thf}$  constante resulte en cambios proporcionales en todas las regiones del pulmón indica que, independientemente del mecanismo, la magnitud del transporte de gas regional en VAFO es directamente proporcional a la frecuencia (48).

La *impedancia del sistema respiratorio* representa una barrera mecánica al flujo, la cual debe ser superada para generar una ventilación tidal. Así pues, cuanto mayor sea la impedancia, mayor será la amplitud de la onda de presión necesaria para generar un flujo. La impedancia depende de la *resistencia* del sistema respiratorio (fundamentalmente de la vía aérea), la *elastancia* (inversa de la complianza), y la *inertancia* (la fuerza necesaria para provocar la aceleración/deceleración del tejido del sistema respiratorio) (Fig. 3). La magnitud de la impedancia debida a la inertancia es directamente proporcional a la frecuencia oscilatoria; de modo que, a mayor frecuencia, mayor será la magnitud de la inertancia. Así, durante la VMC, la inertancia es un componente despreciable y, sin embargo, durante la VAFO su magnitud aumenta (50,51).

**Figura 3.** Relación entre los componentes de la impedancia del sistema respiratorio y la señal de conducción secundaria a los cambios en la posición del pistón, adaptado de Lee et al. (51).



La señal de conducción se encuentra desfasada 90 grados en relación al flujo y a la resistencia de la vía aérea. La elastancia se encuentra en fase con la señal de conducción y la inertancia, sin embargo, se opone a la misma, desfasada 180 grados con la elastancia y la señal de conducción.

Se denomina *frecuencia de resonancia* del sistema respiratorio a aquella frecuencia a la cual la magnitud de la impedancia es mínima, debido a que la inertancia y la elastancia se igualan en magnitud y se anulan mutuamente, teniendo que superar únicamente la resistencia de la vía aérea; de esta manera, la onda de presión necesaria para generar un flujo será también mínima.

La *frecuencia de resonancia* marca la transición entre un comportamiento del sistema respiratorio predominantemente elástico (a frecuencias inferiores a la frecuencia de resonancia) y un flujo dependiente de la inercia (por encima de la misma). En el rango de frecuencias superior a la frecuencia de resonancia predominan los mecanismos de transporte e intercambio gaseoso dependientes de la frecuencia, que favorecen una distribución de la ventilación más heterogénea, con zonas sobre distendidas y zonas colapsadas (49,51,52). De este modo, el uso de frecuencias inferiores a la frecuencia de resonancia requerirá  $V_{Thf}$  superiores con el consiguiente riesgo de volutrauma, mientras que las frecuencias superiores a la frecuencia de resonancia favorecerán una distribución de la ventilación más heterogénea; siendo óptima la ventilación a una frecuencia muy próxima a la frecuencia de resonancia (49).

## ESTRATEGIAS DE OXIGENACIÓN Y VENTILACIÓN EN VAFO

---

La *oxigenación* en VAFO depende fundamentalmente de la presión de distensión (PMA) y de la  $FiO_2$  (53,54). La PMA óptima es la necesaria para superar la presión de cierre alveolar y conseguir el reclutamiento de la mayoría de las unidades alveolares. Un adecuado reclutamiento alveolar disminuye la impedancia del sistema respiratorio, permitiendo que el volumen entregado a cualquier presión y frecuencia sea superior. Desde un punto de vista clínico se considera que se ha alcanzado el reclutamiento alveolar cuando el paciente presenta una presión parcial arterial de oxígeno ( $PaO_2$ ) adecuada con  $FiO_2$  de 0,3-0,4, el parénquima pulmonar ocupa en la radiografía de tórax 8-9 espacios intercostales y no existen signos de compromiso cardiocirculatorio (estrategia de *volumen pulmonar óptimo*).

El  $V_{Thf}$  y la frecuencia han sido relacionados con el *aclaramiento de  $CO_2$*  desde los trabajos iniciales de VAFO (11,55). El *coeficiente de difusión de  $CO_2$*  ( $DCO_2$ ), marcador del lavado de  $CO_2$ , es una función lineal del producto entre el cuadrado del  $V_{Thf}$  y la frecuencia ( $f$ ), de modo que:

$$DCO_2 = V_{Thf}^2 \times f$$

De esta ecuación se deduce que el aclaramiento de  $CO_2$  depende mucho más del  $V_{Thf}$  que de la frecuencia (46) y que, tanto el aumento de la frecuencia manteniendo un  $V_{Thf}$  fijo, como el aumento del  $V_{Thf}$  con una frecuencia fija, conllevan un aumento en el lavado de  $CO_2$  (9,54).

El  $V_{Thf}$  es directamente proporcional a la amplitud de la onda de gas generada en cada ciclo (que depende de la amplitud de la oscilación que genera un cambio de presión:  $\Delta P_{hf}$ ) y al tiempo inspiratorio, e inversamente proporcional a la frecuencia de oscilación (56). Por ello, en los respiradores de alta frecuencia clásicos que no permiten mantener un  $V_{Thf}$  fijo (*Dräger Babylog 8000@*, *SensorMedics 3100A@*, *SLE 2000@...*), el aumento de la frecuencia conduce al descenso del  $V_{Thf}$  y, por lo tanto, de la  $DCO_2$ , con la consiguiente disminución de la ventilación (57,58), existiendo una relación inversa entre la frecuencia y la  $DCO_2$ . De

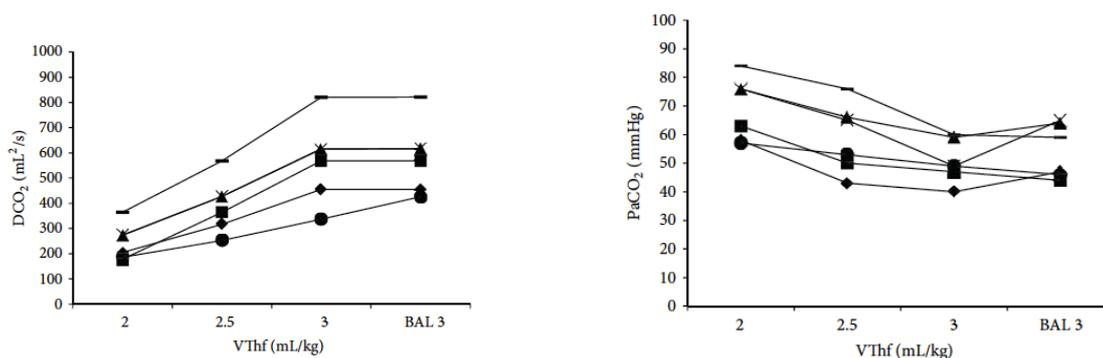
modo que, tradicionalmente, para mejorar el lavado de CO<sub>2</sub>, ha sido necesario aumentar  $\Delta Phf$  o disminuir la frecuencia, con el objetivo final de aumentar el VThf.

## VOLUMEN GARANTIZADO EN VAFO

Desde la aparición en los últimos años de una nueva generación de respiradores que han incorporado la modalidad de *volumen garantizado* (VG) a la VAFO, es posible mantener un VThf fijo, permitiendo el ajuste independiente del VThf y de la frecuencia.

En base a esto, Sánchez Luna et al. empezaron a desarrollar una nueva línea de investigación en 2013, demostrando en un *modelo animal neonatal* (lechones recién nacidos) que es posible mantener un VThf fijo a pesar de los cambios en la dinámica respiratoria, manteniendo así la PaCO<sub>2</sub> mucho más estable y permitiendo un ajuste más fino de la misma. Por otro lado, gracias a este modelo animal también fue posible demostrar que los cambios en el VThf tienen un efecto directo en el lavado de CO<sub>2</sub>; de modo que, el aumento del VThf a frecuencia constante (10 Hz), dio lugar a un aumento paralelo de la DCO<sub>2</sub>, con el consiguiente descenso en la PaCO<sub>2</sub> (Fig. 4) (59).

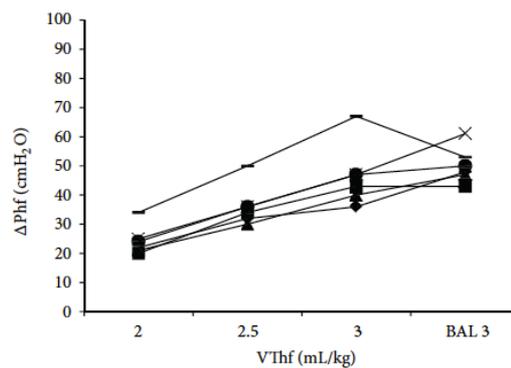
**Figura 4.** Evolución del coeficiente de difusión de CO<sub>2</sub> (DCO<sub>2</sub>) y la presión parcial arterial de CO<sub>2</sub> (PaCO<sub>2</sub>) con el aumento del volumen tidal de alta frecuencia (VThf) a frecuencia constante, antes y después de realizar un lavado bronco-alveolar (BAL) (59).



Cambios en la DCO<sub>2</sub> y PaCO<sub>2</sub> con el aumento del VThf a frecuencia constante (2, 2.5 y 3 ml/kg) en situación basal; posteriormente se realizó un lavado bronco-alveolar para inducir un SDR por depleción de surfactante pulmonar, manteniendo tras el mismo el VThf en 3 ml/kg (BAL 3), para comprobar el comportamiento de la DCO<sub>2</sub> y la PaCO<sub>2</sub> tras el cambio de distensibilidad.

La estabilidad del  $V_{Thf}$  se consiguió mediante el ajuste automático de  $\Delta P_{hf}$  por parte del respirador; de esta manera, con el aumento del  $V_{Thf}$  a frecuencia constante se observó un aumento progresivo de  $\Delta P_{hf}$  en el respirador (Fig. 5).

**Figura 5.** Evolución de la oscilación de presión alrededor de la PMA ( $\Delta P_{hf}$ ) con el aumento del volumen tidal de alta frecuencia ( $V_{Thf}$ ) a frecuencia constante, antes y después de realizar un lavado bronco-alveolar (BAL) (59).

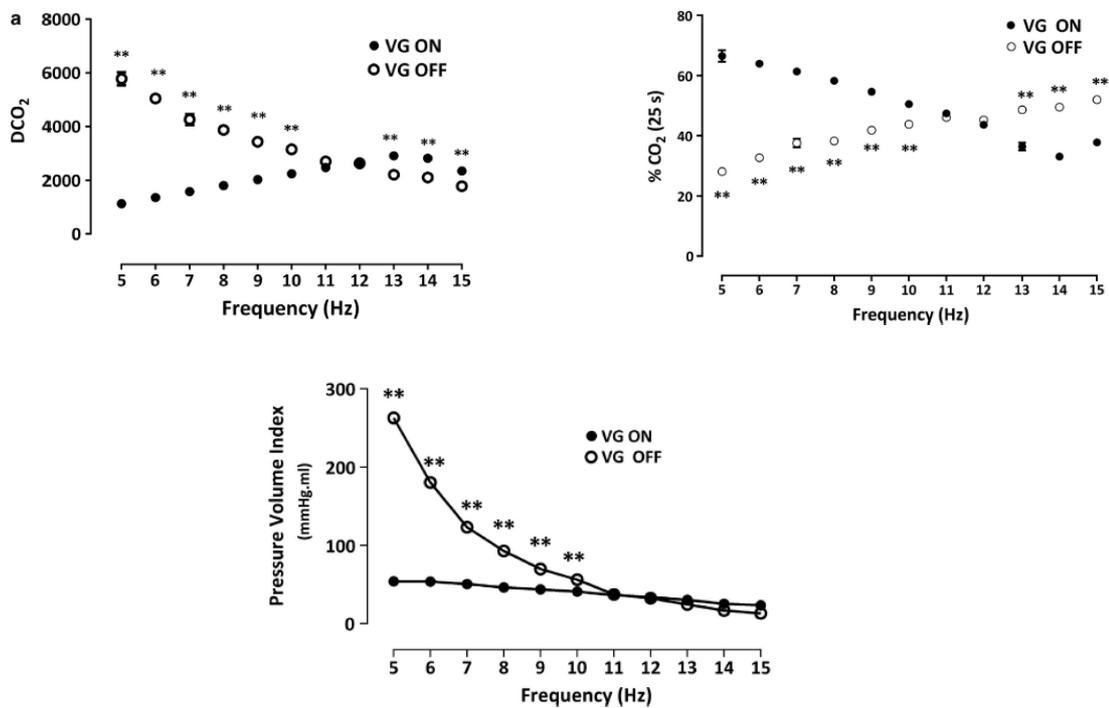


Tras realizar el lavado bronco-alveolar (BAL 3),  $\Delta P_{hf}$  aumentó en tres animales, se mantuvo estable en uno de ellos y disminuyó en los otros dos; mientras el  $V_{Thf}$  se mantuvo constante en todos ellos.

El siguiente trabajo dentro de esta línea de investigación, fue un estudio experimental con un *modelo de pulmón artificial* al que se conectó una infusión continua de  $CO_2$  para valorar la eficacia de la ventilación, y en el que se colocaron 3 transductores para medir la presión a distintos niveles (porción distal del tubo endotraqueal, tráquea y parénquima pulmonar). Este modelo permitió demostrar una relación directamente proporcional entre la frecuencia y el aclaramiento de  $CO_2$ ; de modo que el aumento de la frecuencia a  $V_{Thf}$  constante, se acompañó de un aumento paralelo de la  $DCO_2$ , con el consiguiente descenso en la  $PaCO_2$  (a diferencia de lo que ocurre con los respiradores clásicos sin VG) (Fig. 6). Como ocurría con el aumento del  $V_{Thf}$  a frecuencia constante, al aumentar la frecuencia manteniendo un  $V_{Thf}$  fijo se objetivó un aumento de  $\Delta P_{hf}$  en el respirador. Esta elevación de  $\Delta P_{hf}$  podría transmitirse al alveolo, resultando en un aumento del daño pulmonar (barotrauma); sin embargo, a pesar del aumento proximal de  $\Delta P_{hf}$ , se observó una disminución en la transmisión distal de la curva de amplitud, de modo que a frecuencias próximas a 15 Hz, la presión transmitida a los alveolos fue prácticamente insignificante. Como medida de

daño pulmonar, incluyendo el barotrauma y el volutrauma, fue descrito el índice presión-volumen (producto del volumen por la presión transmitida al pulmón), observando una disminución estadísticamente significativa del mismo en el grupo en que se empleó VThf garantizado con frecuencias crecientes, con respecto a las mediciones realizadas sin VG (Fig. 6) (60).

**Figura 6.** Cálculo del coeficiente de difusión de CO<sub>2</sub> (DCO<sub>2</sub>), eficacia del aclaramiento de CO<sub>2</sub> (%CO<sub>2</sub> 25s) e índice presión-volumen ( $\Delta P_{hf} \times V_{Thf}$ ) con el aumento de la frecuencia a volumen tidal de alta frecuencia (VThf) constante, con y sin volumen garantizado (VG) (60).

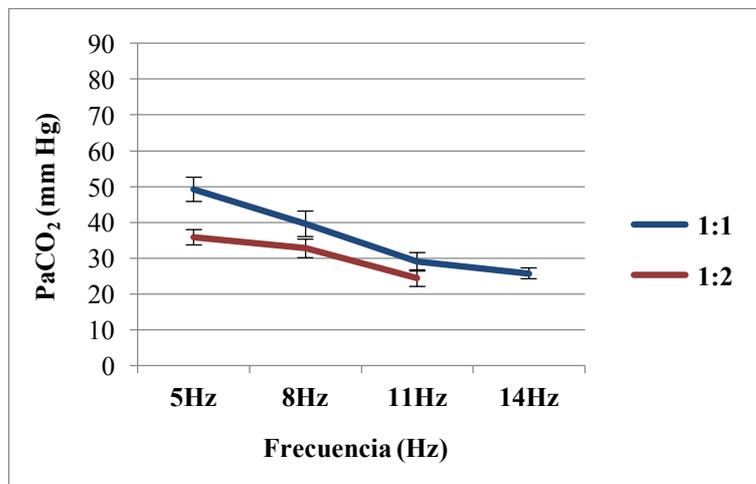


%CO<sub>2</sub> 25s: porcentaje de CO<sub>2</sub> que permanece en el pulmón a los 25 segundos del inicio de la ventilación.

\*\* p<0.01 en la comparación del valor con y sin VG para la misma frecuencia.

Por último, utilizando de nuevo el *modelo animal neonatal* para estudiar el efecto de la relación *inspiración:expiración (I:E)* en la ventilación en VAFO con VG, demostramos una mayor eficacia en el aclaramiento de CO<sub>2</sub> al utilizar una relación I:E 1:2 en comparación con 1:1 a pesar de mantener el mismo VThf garantizado. Estas diferencias fueron observadas fundamentalmente a frecuencias bajas, disminuyendo al aumentar la frecuencia (Fig. 7) (61).

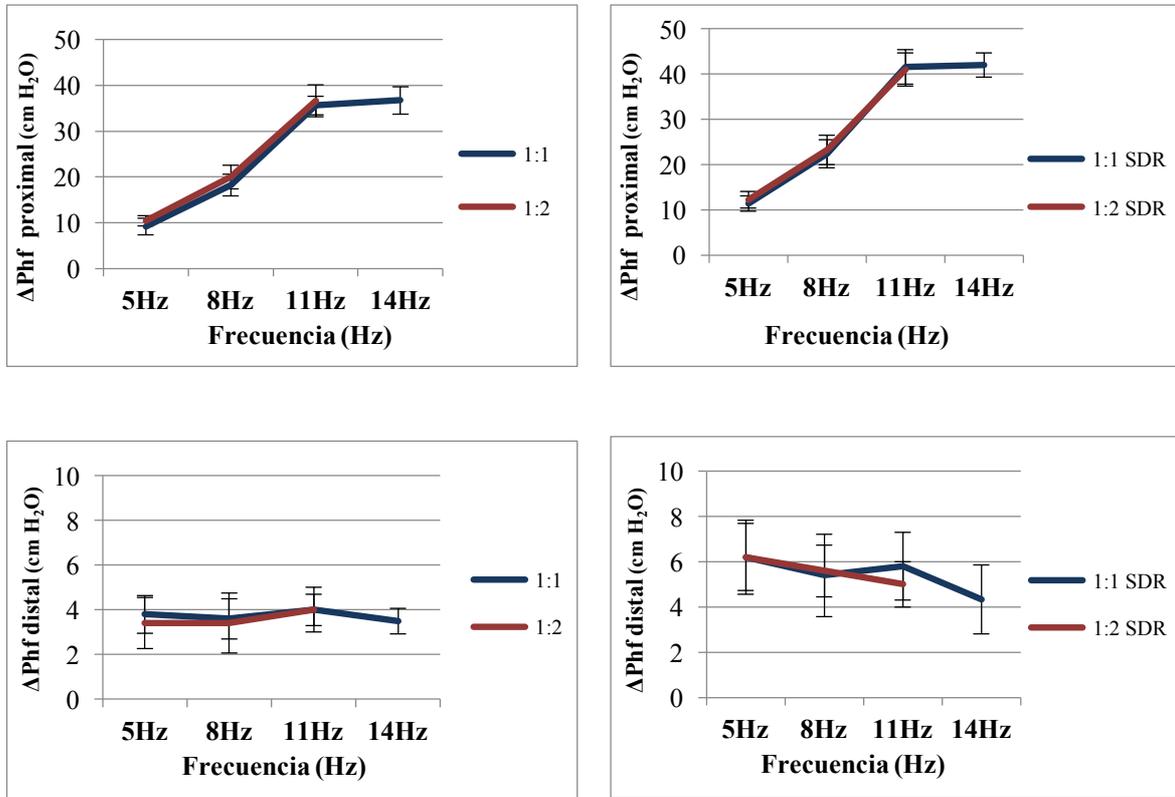
**Figura 7.** Medición de la presión parcial arterial de CO<sub>2</sub> (PaCO<sub>2</sub>) al aumentar la frecuencia a volumen tidal de alta frecuencia constante, con relación inspiración:espiración 1:1 y 1:2.



La ausencia del valor de PaCO<sub>2</sub> con la relación I:E 1:2 a 14 Hz es debida a la incapacidad del respirador para alcanzar el VThf garantizado.

Por otro lado, colocando 2 transductores de presión, uno proximal (en la conexión del respirador al tubo endotraqueal) y otro distal (a nivel de la carina), comprobamos que a pesar del aumento proximal de  $\Delta Phf$  con el aumento de la frecuencia a VThf fijo, el valor de  $\Delta Phf$  a nivel distal permanecía estable en situación basal, o incluso disminuía en situación de baja distensibilidad (tras realizar un lavado bronco-alveolar -BAL- para inducir un SDR por depleción de surfactante pulmonar); sin existir diferencias entre ambas relaciones I:E (Fig. 8). Sin embargo, sí se encontraron diferencias en la medición de la PMA distal, que en ambos casos fue ligeramente superior a la PMA proximal, y fundamentalmente con la relación 1:1, pudiendo traducir esto un mayor riesgo de atrapamiento aéreo con esta relación I:E.

**Figura 8.** Medición de  $\Delta Phf$  proximal (conexión respirador-tubo endotraqueal) y distal (carina) a frecuencias crecientes y volumen tidal de alta frecuencia fijo, con relación inspiración: espiración 1:1 y 1:2 en situación basal (izquierda) y de baja distensibilidad (derecha).



En relación con los resultados observados concluimos que la relación I:E 1:2 parece ser la mejor elección en VAFO con VG, siempre y cuando el respirador pueda mantener el VThf fijado a cualquier frecuencia, al presentar una mayor eficacia en el aclaramiento de CO<sub>2</sub>, minimizando el riesgo de atrapamiento aéreo.

### ESTRATEGIA DE PROTECCIÓN PULMONAR EN VAFO

Basándonos en los resultados de estos primeros estudios, y gracias a la posibilidad de mantener un  $V_{Thf}$  fijo con la incorporación del VG en VAFO, empezamos a trabajar en una nueva y potencial estrategia de protección pulmonar, mediante el empleo de frecuencias muy altas, superiores a las utilizadas clásicamente ( $>10-15$  Hz) (17,51), con el objetivo de disminuir al máximo el  $V_{Thf}$ , manteniendo una ventilación adecuada e intentando minimizar el efecto del volutrauma y el daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica en el pulmón inmaduro del recién nacido prematuro.

## ESTUDIOS





## USO DE FRECUENCIAS MUY ELEVADAS Y VOLÚMENES TIDALES MUY BAJOS EN VENTILACIÓN DE ALTA FRECUENCIA OSCILATORIA PARA PROTEGER EL PULMÓN INMADURO. ESTUDIO PILOTO (62)

---

### HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

#### *Hipótesis operativa.*

1. Es posible mantener una ventilación adecuada en neonatos en VAFO con VG mediante el uso de frecuencias muy elevadas y VThf muy bajos como potencial estrategia de protección pulmonar, manteniendo una DCO<sub>2</sub> constante.
2. El empleo de frecuencias muy altas y VThf muy bajos en neonatos en VAFO con VG no asocia complicaciones y permite mantener una estabilidad hemodinámica.

#### *Hipótesis nula.*

1. No es posible mantener una ventilación adecuada en neonatos en VAFO con VG mediante el uso de frecuencias muy elevadas y VThf muy bajos como potencial estrategia de protección pulmonar, manteniendo una DCO<sub>2</sub> constante.
2. El empleo de frecuencias muy altas y VThf muy bajos en VAFO con VG asocia complicaciones, no permitiendo mantener una estabilidad hemodinámica.

El *objetivo principal* del estudio fue evaluar la factibilidad del uso en la práctica clínica de una nueva estrategia de VAFO basada en el empleo de frecuencias muy altas con el objetivo de disminuir al máximo el VThf, intentando minimizar el daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica y garantizando una ventilación adecuada.

El *objetivo secundario* fue definir la mayor frecuencia y el menor VThf alcanzados en función de la edad gestacional y del peso de recién nacido.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Diseño del estudio.** Estudio descriptivo, prospectivo, de factibilidad de una nueva estrategia de VAFO demostrada previamente en un modelo experimental, en la práctica clínica.

**Sujetos de estudio.** Recién nacidos con insuficiencia respiratoria severa que precisaron soporte respiratorio con VAFO entre Junio de 2014 y Marzo de 2015, independientemente de su edad gestacional, días desde el nacimiento y edad postmenstrual.

En todos los casos, el inicio de la VAFO se realizó, siguiendo la práctica clínica habitual de la unidad, como terapia de rescate en las siguientes situaciones: insuficiencia respiratoria severa refractaria a VMC, escape aéreo (enfisema intersticial, neumotórax o neumomediastino), hipertensión pulmonar persistente del recién nacido con fracaso de la VMC, hemorragia pulmonar o atelectasia. Fue definida la insuficiencia respiratoria severa refractaria a VMC con valores de  $\text{PaO}_2 < 50$  mm Hg o saturación transcutánea de oxígeno ( $\text{SatO}_2$ )  $< 90\%$  con  $\text{FiO}_2 \geq 60\%$  y/o  $\text{PaCO}_2 > 60$  mm Hg con presión inspiratoria pico (PIP) superior a: 18 cm H<sub>2</sub>O en neonatos con peso inferior a 750 g, 20 cm H<sub>2</sub>O entre 750-999 g, 25 cm H<sub>2</sub>O entre 1.000-1.499 g y 28 cm H<sub>2</sub>O en pacientes con peso superior a 1.499 g. En recién nacidos prematuros con SDR, el fracaso de la VMC fue definido tras la administración de una dosis inicial de surfactante.

Fueron considerados criterios de exclusión las malformaciones congénitas severas (incluida la hernia diafragmática congénita), la inestabilidad hemodinámica definida por necesidad de soporte inotrópico superior a dopamina 10 mcg/kg/min y la insuficiencia respiratoria severa refractaria a VAFO, con indicación de iniciar oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO).

El estudio fue aprobado por el Comité Ético del Hospital General Universitario Gregorio Marañón, obteniéndose el consentimiento informado de los padres o tutores previo a la inclusión de los pacientes en el estudio.

*Estrategia de ventilación.* Tras el paso de ventilación mecánica convencional a *ventilación de alta frecuencia oscilatoria* se realizó una maniobra de reclutamiento pulmonar, siguiendo la práctica clínica habitual, comenzando con una PMA inicial 1-2 cm H<sub>2</sub>O por encima de la que precisaba en VMC (o la misma en pacientes con escape aéreo) y la misma FiO<sub>2</sub>. A continuación, se aumentó progresivamente la PMA (1-2 cm H<sub>2</sub>O cada 2 minutos) hasta alcanzar la presión crítica de apertura pulmonar, definida como la presión necesaria para alcanzar un reclutamiento alveolar efectivo, reflejado por un descenso en las necesidades de oxígeno, sin signos de compromiso cardiocirculatorio. Una vez que la FiO<sub>2</sub> pudo ser disminuida por debajo de 0,4 en recién nacidos prematuros y 0,6 en recién nacidos a término, manteniendo una SatO<sub>2</sub> de 90-95%, se disminuyó la PMA de la misma manera (1-2 cm H<sub>2</sub>O cada 2 minutos) hasta objetivar un descenso en la SatO<sub>2</sub> por debajo de 90%, definiendo así la presión crítica de cierre pulmonar. Por último, la PMA se aumentó de nuevo hasta la presión crítica de apertura ya conocida, fijándose finalmente 2 cm H<sub>2</sub>O por encima de la presión crítica de cierre, definiéndose aquí la PMA óptima o presión mínima con la que se mantiene el reclutamiento de la mayor parte de las unidades alveolares pulmonares (estrategia de *volumen pulmonar óptimo*). Tras finalizar esta maniobra, se comprobó un reclutamiento pulmonar óptimo mediante la realización de una radiografía de tórax.

Una vez alcanzado el reclutamiento pulmonar, y con el objetivo de conseguir una adecuada ventilación, se programaron los siguientes parámetros en el respirador: frecuencia respiratoria de 11 Hz en neonatos con peso inferior a 1.000 g, 10 Hz entre 1.000-1.500 g y 9 Hz en > 1.500 g; relación I:E 1:1; y  $\Delta P_{hf}$  entre 15-30 cm H<sub>2</sub>O, para conseguir una oscilación torácica simétrica hasta el ombligo y un VThf de  $1,5 \pm 0,5$  ml/kg.

Tras alcanzar un VThf teórico adecuado y un periodo de estabilización de 15-30 minutos, se extrajo una gasometría para la evaluación de la ventilación y oxigenación. El objetivo de la gasometría arterial, en función de la EG y el peso, fue:

- ✓ EG < 32 semanas y/o peso < 1.500 g: pH 7,25-7,45, PaO<sub>2</sub> 50-60 mm Hg y PaCO<sub>2</sub> 40-55 mm Hg.

- ✓ EG > 32 semanas y/o peso > 1.500 g: pH 7,30-7,45, PaO<sub>2</sub> 50-70 mm Hg y PaCO<sub>2</sub> 40-55 mm Hg.

Solo se dispuso de gases arteriales cuando, según el manejo clínico habitual y debido a la inestabilidad del paciente, fue necesario canalizar un acceso arterial para monitorización invasiva de la tensión arterial (TA) y la PaO<sub>2</sub>. En caso de no disponer de gasometría arterial, el objetivo de PaCO<sub>2</sub> en sangre capilar arterializada fue 40-55 mm Hg y en sangre venosa 45-60 mm Hg. Así mismo, la monitorización de la oxigenación se realizó mediante SatO<sub>2</sub> preductal, definiéndose los valores objetivo entre 90-95%.

En aquellos casos en los que no se logró una ventilación adecuada según los valores objetivo, se modificó  $\Delta\text{Phf}$  hasta alcanzar el rango de PaCO<sub>2</sub> previamente descrito. En ese momento, se anotó el coeficiente de difusión de CO<sub>2</sub>, pasando a considerarse ese valor como la DCO<sub>2</sub> objetivo para cada paciente; asimismo, se activó el volumen garantizado, fijándose el VThf con el que el paciente estaba bien ventilado y deslimitándose  $\Delta\text{Phf}$  10-20 puntos por encima del valor previamente programado, con el objetivo de permitir el ajuste automático por parte del respirador para alcanzar el VThf garantizado. A partir de ese momento, se fue aumentando progresivamente la frecuencia y disminuyendo proporcionalmente el VThf para mantener constante la DCO<sub>2</sub> y con ello una adecuada ventilación, hasta alcanzar el valor máximo de frecuencia en cada paciente (definido como la frecuencia por encima de la cual no es posible alcanzar el VThf garantizado necesario para mantener la DCO<sub>2</sub> inicial). Finalmente, y después de un periodo de estabilización tras realizar los cambios en los parámetros del respirador, se realizó una última gasometría para evaluar la ventilación.

Una vez extraída esta última gasometría, acabó la participación del paciente en el estudio, siendo manejado a partir de ese momento según la práctica clínica habitual. Ambas situaciones fueron comparadas.

Durante todo el procedimiento se mantuvo una monitorización continua de la frecuencia cardíaca (FC) y la SatO<sub>2</sub> preductal, así como de la TA invasiva, cuando fue posible disponer de ella; en caso contrario, se realizó una monitorización intermitente de la TA no invasiva.

**Recogida de datos.** Los datos recogidos para el estudio incluyeron: características demográficas de los pacientes (EG, peso al nacimiento, peso al inicio de la VAFO y sexo), antecedentes perinatales (corioamnionitis, administración prenatal de corticoides y número de dosis), características clínicas (administración de surfactante exógeno y número de dosis, edad cronológica en el momento de la intubación y el inicio de VAFO, indicación para iniciar VAFO), parámetros iniciales y finales de VAFO (PMA inicial, presión crítica de apertura pulmonar, VThf, frecuencia,  $\Delta\text{Phf}$ , DCO<sub>2</sub> y FiO<sub>2</sub>), constantes hemodinámicas y respiratorias (FC, TA y SatO<sub>2</sub> preductal), gasometría inicial y final (pH, PaCO<sub>2</sub> y PaO<sub>2</sub>, esta última solo en caso de gasometría arterial) y complicaciones (fuga aérea, inestabilidad hemodinámica con necesidad de expansión de volumen o uso de inotrópicos...).

Las muestras de sangre fueron analizadas inmediatamente tras su extracción (analizador de gases y pH GEM Premier 4000®, I.L., WERFEN, España).  $\Delta\text{Phf}$  y DCO<sub>2</sub>, calculado como  $V\text{Thf}^2 \times f$  (ml<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>), fueron obtenidos del software del respirador (VentView 2.n software, Dräger, Lübeck, Germany). Los datos del respirador fueron exportados mediante la conexión USB del respirador *Babylog VN500®* para su análisis.

**Análisis estadístico y cálculo del tamaño muestral.** Al tratarse de un estudio piloto en el que no se buscaron diferencias significativas, sino demostrar exclusivamente la posibilidad de mantener constante la DCO<sub>2</sub> y con ello una ventilación adecuada a pesar de modificar los parámetros del respirador según nuestra estrategia de ventilación, no fue preciso el cálculo del tamaño muestral, siendo estimada una población de 20-25 pacientes.

El análisis estadístico de los datos fue realizado mediante el programa SPSS v.22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU.).

*Estadística descriptiva.* Se agruparon y presentaron los datos como media  $\pm$  desviación estándar o mediana en el caso de las variables cuantitativas y frecuencia absoluta y porcentajes en las variables cualitativas.

*Estadística analítica.* La diferencia entre los parámetros iniciales y finales fue analizada utilizando un test t-Student para datos apareados, previa confirmación de una distribución normal. Finalmente se realizó un análisis de regresión lineal simple para estudiar la relación entre el  $V_{Thf}$  y la frecuencia y entre ambos parámetros y la  $PCO_2$ . La significación estadística se estableció en  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Se incluyeron un total de 23 recién nacidos que necesitaron soporte respiratorio con VAFO según las indicaciones previamente descritas, entre Junio de 2014 y Marzo de 2015. Las características demográficas y clínicas se presentan a continuación (Tabla 2).

**Tabla 2.** Características demográficas y clínicas de los pacientes.

<b>Edad gestacional (semanas) *</b>	28,83 ± 4,69 / 27,40
< 32 semanas	19 (82,6%)
≥ 32 semanas	4 (17,4%)
<b>Edad cronológica al inicio de VAFO (días) *</b>	5,52 ± 13,76 / 0
<b>Peso de recién nacido (gramos) *</b>	1.113,78 ± 823,98 / 790,00
<b>Peso al inicio de VAFO (gramos) *</b>	1.211,35 ± 938,53 / 830,00
< 1.000 g.	14 (60,9%)
1.000-2.000 g.	6 (26,1%)
> 2.000 g.	3 (13,0%)
<b>Sexo</b>	Varones: 15 (65,2%) / Mujeres: 8 (34,8%)
<b>Corioamnionitis</b>	2 (8,7%)
<b>Administración prenatal de corticoides:</b>	
No	6 (26,1%)
Incompleta	6 (26,1%)
Completa	11 (47,8%)
<b>Tratamiento con surfactante</b>	22 (95,7%)
<b>Número de dosis:</b>	
1	9 (39,1%)
2	10 (43,5%)
3	3 (13,0%)
<b>Indicación de VAFO:</b>	
< 32 semanas	SDR: 15 (65,2%) Neumotórax: 2 (8,7%) Cirugía abdominal: 2 (8,7%)
≥ 32 semanas	Hipertensión pulmonar primaria: 1 (4,3%) Neumonía: 1 (4,3%) Síndrome de aspiración meconial: 2 (8,7%)

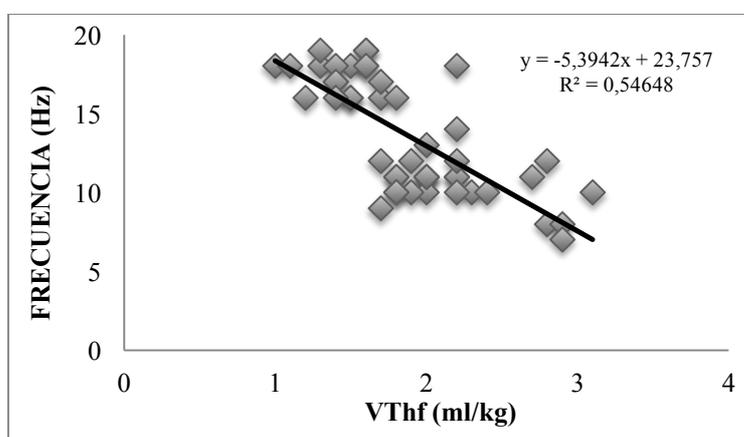
SDR: síndrome de distrés respiratorio relacionado con la prematuridad. \* media ± desviación estándar / mediana.

La mediana de duración de VMC antes del inicio de la VAFO fue de 3,00 horas. La indicación de VAFO fue la insuficiencia respiratoria severa secundaria al SDR relacionado con la prematuridad (65,2%), la cirugía abdominal (8,7%) y el neumotórax (8,7%) en los

recién nacidos con EG inferior a 32 semanas; y la hipertensión pulmonar persistente secundaria a hipertensión pulmonar primaria (4,3%), neumonía (4,3%) o síndrome de aspiración meconial (8,7%) a partir de las 32 semanas.

La PMA inicial media fue  $11,6 \pm 3,0$  cm H<sub>2</sub>O y la presión crítica de apertura pulmonar media  $13,6 \pm 4,0$  cm H<sub>2</sub>O. Fue posible aumentar la frecuencia y disminuir proporcionalmente el VThf en todos los pacientes (Fig. 9), manteniendo una DCO<sub>2</sub> similar (no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la DCO<sub>2</sub> inicial y final).

**Figura 9.** Frecuencia y volumen tidal de alta frecuencia (VThf) inicial y final.



Los parámetros iniciales y finales de VAFO se muestran a continuación (Tabla 3).

**Tabla 3.** Parámetros iniciales y finales de VAFO y constantes hemodinámicas, respiratorias y PaCO<sub>2</sub>, presentados como media  $\pm$  desviación estándar.

Parámetros respirador	Inicial	Final	<i>p</i>
PMA (cm H <sub>2</sub> O)	13,56 $\pm$ 4,03		
Relación I:E	1:1		
Frecuencia (Hz)	10,39 $\pm$ 1,41	16,70 $\pm$ 2,20	0,000
VThf (ml/kg)	2,20 $\pm$ 0,44	1,59 $\pm$ 0,36	0,000
$\Delta$ Phf (cm H <sub>2</sub> O)	21,86 $\pm$ 8,69	22,00 $\pm$ 8,64	0,915
DCO <sub>2</sub> (ml <sup>2</sup> /seg)	141,09 $\pm$ 271,98	119,13 $\pm$ 223,86	0,129
FiO <sub>2</sub> (%)	47,87 $\pm$ 22,31	37,91 $\pm$ 16,06	0,020
<b>Constantes</b>			
TAM (mm Hg)	36,04 $\pm$ 10,59	37,26 $\pm$ 7,94	0,492
FC (lpm)	143,43 $\pm$ 20,51	140,57 $\pm$ 15,48	0,424
SatO <sub>2</sub> (%)	90,70 $\pm$ 5,84	93,35 $\pm$ 2,90	0,030
PCO <sub>2</sub> (mm Hg)	51,22 $\pm$ 10,19	46,04 $\pm$ 6,52	0,013

PMA: presión media en la vía aérea; VThf: volumen tidal de alta frecuencia;  $\Delta$ Phf: oscilación de presión alrededor de la PMA; DCO<sub>2</sub>: coeficiencia de difusión de CO<sub>2</sub>; FiO<sub>2</sub>: fracción inspirada de oxígeno; TAM: tensión arterial media; FC: frecuencia cardíaca (lpm: latidos por minuto); SatO<sub>2</sub>: saturación transcutánea de oxígeno; PCO<sub>2</sub>: presión parcial de dióxido de carbono.

La frecuencia máxima alcanzada en función del peso de cada paciente fue: 19 Hz (rango: 16-19) en recién nacidos con peso inferior a 1.000 g, 18 Hz (rango: 16-18) entre 1.000-2.000 g y 14 Hz (rango: 10-14) en neonatos con peso superior a 2.000 gr (o recién nacidos a término). En la *Tabla 4* se muestran los parámetros iniciales y finales del respirador en función del peso del paciente.

**Tabla 4.** *Parámetros iniciales y finales de VAFO y constantes hemodinámicas, respiratorias y PaCO<sub>2</sub> en función del peso, presentados como media  $\pm$  desviación estándar.*

**A. Peso < 1.000 gramos (N: 14)**

Parámetros respirador	Inicial	Final	p
<b>PMA (cm H<sub>2</sub>O)</b>	<b>11,79 <math>\pm</math> 1,98</b>		
<b>Frecuencia (Hz)</b>	<b>11,00 <math>\pm</math> 0,96</b>	<b>17,71 <math>\pm</math> 0,99</b>	<b>0,000</b>
<b>VThf (ml/kg)</b>	<b>2,06 <math>\pm</math> 0,33</b>	<b>1,46 <math>\pm</math> 0,29</b>	<b>0,000</b>
<b><math>\Delta</math>Phf (cm H<sub>2</sub>O)</b>	<b>18,31 <math>\pm</math> 6,36</b>	<b>16,46 <math>\pm</math> 4,99</b>	<b>0,175</b>
<b>DCO<sub>2</sub> (ml<sup>2</sup>/seg)</b>	<b>23,36 <math>\pm</math> 9,91</b>	<b>18,50 <math>\pm</math> 7,52</b>	<b>0,047</b>
<b>FiO<sub>2</sub> (%)</b>	<b>41,21 <math>\pm</math> 19,20</b>	<b>32,79 <math>\pm</math> 12,69</b>	<b>0,186</b>
<b>Constantes</b>			
<b>SatO<sub>2</sub> (%)</b>	<b>89,71 <math>\pm</math> 6,32</b>	<b>93,29 <math>\pm</math> 1,90</b>	<b>0,049</b>
<b>PCO<sub>2</sub> (mm Hg)</b>	<b>54,93 <math>\pm</math> 9,73</b>	<b>45,93 <math>\pm</math> 7,53</b>	<b>0,002</b>

**B. Peso entre 1.000 y 2.000 gramos (N: 6)**

Parámetros respirador	Inicial	Final	p
<b>PMA (cm H<sub>2</sub>O)</b>	<b>13,33 <math>\pm</math> 1,97</b>		
<b>Frecuencia (Hz)</b>	<b>10,00 <math>\pm</math> 1,26</b>	<b>16,67 <math>\pm</math> 1,03</b>	<b>0,000</b>
<b>VThf (ml/kg)</b>	<b>2,15 <math>\pm</math> 0,43</b>	<b>1,57 <math>\pm</math> 0,16</b>	<b>0,007</b>
<b><math>\Delta</math>Phf (cm H<sub>2</sub>O)</b>	<b>23,17 <math>\pm</math> 9,06</b>	<b>26,83 <math>\pm</math> 4,53</b>	<b>0,288</b>
<b>DCO<sub>2</sub> (ml<sup>2</sup>/seg)</b>	<b>82,83 <math>\pm</math> 25,23</b>	<b>74,33 <math>\pm</math> 24,44</b>	<b>0,177</b>
<b>FiO<sub>2</sub> (%)</b>	<b>57,83 <math>\pm</math> 26,38</b>	<b>45,50 <math>\pm</math> 21,79</b>	<b>0,088</b>
<b>Constantes</b>			
<b>SatO<sub>2</sub> (%)</b>	<b>90,50 <math>\pm</math> 4,28</b>	<b>93,00 <math>\pm</math> 4,05</b>	<b>0,131</b>
<b>PCO<sub>2</sub> (mm Hg)</b>	<b>48,17 <math>\pm</math> 6,85</b>	<b>46,67 <math>\pm</math> 6,15</b>	<b>0,394</b>

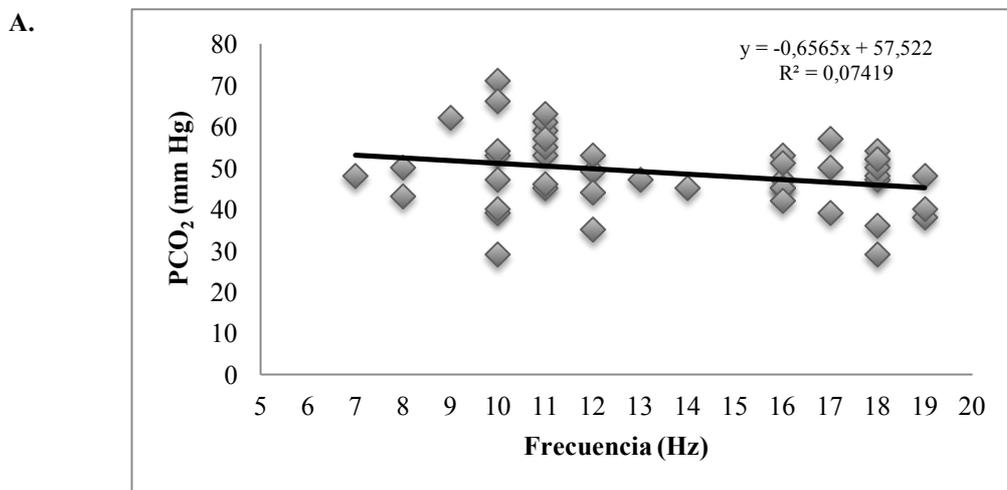
C. *Peso > 2.000 gramos (N: 3)*

Parámetros respirador	Inicial	Final	<i>p</i>
<b>PMA</b> (cm H <sub>2</sub> O)	<b>22,33 ± 2,52</b>		
<b>Frecuencia</b> (Hz)	<b>8,33 ± 1,53</b>	<b>12,00 ± 2,00</b>	<i>0,008</i>
<b>VThf</b> (ml/kg)	<b>2,93 ± 0,15</b>	<b>2,27 ± 0,11</b>	<i>0,031</i>
<b>ΔPhf</b> (cm H <sub>2</sub> O)	<b>34,67 ± 3,51</b>	<b>36,33 ± 2,31</b>	<i>0,662</i>
<b>DCO<sub>2</sub></b> (ml <sup>2</sup> /seg)	<b>807,00 ± 197,73</b>	<b>678,33 ± 58,38</b>	<i>0,318</i>
<b>FiO<sub>2</sub></b> (%)	<b>59,00 ± 23,30</b>	<b>46,67 ± 11,55</b>	<i>0,230</i>
<b>Constantes</b>			
<b>SatO<sub>2</sub></b> (%)	<b>95,67 ± 5,13</b>	<b>94,33 ± 5,13</b>	<i>0,697</i>
<b>PCO<sub>2</sub></b> (mm Hg)	<b>40,00 ± 9,85</b>	<b>45,33 ± 1,53</b>	<i>0,425</i>

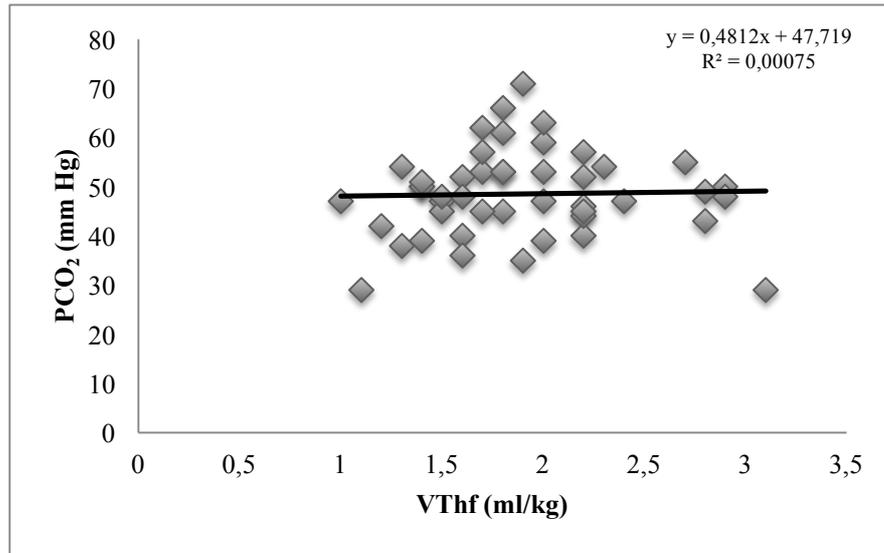
PMA: presión media en la vía aérea; VThf: volumen tidal de alta frecuencia; ΔPhf: oscilación de presión alrededor de la PMA; DCO<sub>2</sub>: coeficiencia de difusión de CO<sub>2</sub>; FiO<sub>2</sub>: fracción inspirada de oxígeno; SatO<sub>2</sub>: saturación transcutánea de oxígeno; PCO<sub>2</sub>: presión parcial de dióxido de carbono.

Manteniendo una DCO<sub>2</sub> similar, todos los pacientes permanecieron bien ventilados, observándose incluso cierta tendencia hacia la hiperventilación, siendo la PCO<sub>2</sub> media obtenida con la máxima frecuencia inferior a la PCO<sub>2</sub> inicial con los parámetros clásicos (46,04 ± 6,52 mm Hg vs 51,22 ± 10,19 mm Hg); sin embargo, no observamos una relación estadísticamente significativa entre la PCO<sub>2</sub> y la frecuencia o el VThf (Fig. 10).

**Figura 10.** Relación entre la PCO<sub>2</sub> y la frecuencia respiratoria inicial y final (A) y el volumen tidal de alta frecuencia (VThf) inicial y final (B).



B.



En contra de lo esperado,  $\Delta\text{Phf}$  no aumentó en el grupo de recién nacidos con peso inferior a 1.000 g, e incluso se objetivó un ligero descenso con la frecuencia máxima (*Tabla 4*). En los otros grupos,  $\Delta\text{Phf}$  aumentó aunque no de manera estadísticamente significativa.

No se observaron complicaciones en ninguno de los pacientes durante el procedimiento, manteniéndose constantes la tensión arterial y la frecuencia cardíaca a pesar de aumentar la frecuencia respiratoria y disminuir el VTthf (*Tabla 3*).



## CORRELACIÓN $DCO_2/PaCO_2$ EN VENTILACIÓN DE ALTA FRECUENCIA OSCILATORIA CON VOLUMEN GARANTIZADO A FRECUENCIAS CRECIENTES

---

### JUSTIFICACIÓN

A pesar de existir múltiples estudios sobre la relación entre la  $DCO_2$  y el aclaramiento de  $CO_2$ , no existe experiencia en el comportamiento de los mismos a frecuencias muy superiores a las empleadas en la práctica clínica habitual (>10-15 Hz) en VAFO con volumen garantizado. En el estudio de factibilidad realizado en la práctica clínica (62), a pesar de mantener una  $DCO_2$  constante, observamos una tendencia hacia la hiperventilación con frecuencias muy elevadas, superiores a 15 Hz.

### HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

**Hipótesis operativa.** La eficacia en el aclaramiento de  $CO_2$  a frecuencias muy elevadas (>15 Hz) en VAFO con VG es superior a la observada con las frecuencias clásicas (10-15 Hz) e igualdad de  $DCO_2$ , no existiendo una correlación lineal entre la  $DCO_2$  y la  $PaCO_2$  a esas frecuencias.

**Hipótesis nula.** La eficacia en el aclaramiento de  $CO_2$  a frecuencias muy elevadas (>15 Hz) en VAFO con VG no es superior a la observada con las frecuencias clásicas (10-15 Hz) e igualdad de  $DCO_2$ , existiendo una correlación lineal entre la  $DCO_2$  y la  $PaCO_2$  a esas frecuencias.

El **objetivo del estudio** fue conocer la correlación  $DCO_2/PaCO_2$  en VAFO con VG a lo largo de un rango de frecuencias crecientes, de 10 a 20 Hz, y en dos situaciones respiratorias, una fisiológica y otra de baja distensibilidad, obtenida tras el lavado bronco-alveolar con suero salino fisiológico.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Sujetos de estudio.** Estudio experimental con 6 lechones Landrace-Large White de 24-48 horas de vida. Todos los procedimientos realizados en animales dentro de este proyecto fueron aprobados por el Comité Ético de Experimentación Animal del Hospital Universitario Puerta de Hierro (CEEA: 004P/2017) y realizados en los términos autorizados por la normativa europea acerca de la manipulación de animales de experimentación (2010/63/UE) y el Real Decreto 53/2013, de 1 de Febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia.

**Anestesia.** La inducción de la anestesia general fue realizada con sevoflurano 8% en oxígeno, administrado a través de mascarilla. Posteriormente y, durante el resto del procedimiento, se mantuvo a los animales sedo-analgesiados mediante una infusión intravenosa continua de propofol (5-15 mg/kg/h), utilizando la morfina intravenosa en bolos (1 mg/Kg) como analgesia intraoperatoria y el rocuronio intravenoso como relajante muscular (1,5 mg/kg), con el objetivo de mejorar el análisis de la mecánica pulmonar sin interferencia de la actividad muscular respiratoria.

**Protocolo experimental.** Una vez logrado un adecuado nivel de anestesia, se procedió a la intubación endotraqueal de los lechones por traqueostomía y ligadura traqueal para anular la posible fuga aérea, con un tubo endotraqueal de 3 mm de diámetro; asimismo, se procedió a la canalización por disección de la vena yugular interna derecha (catéter de polietileno 24G) para la infusión continua de suero glucosado 5% (10 ml/kg/h) y administración de fármacos, y de la arteria carótida ipsilateral (catéter de polietileno 20G) para la monitorización continua de la presión arterial invasiva y extracción de gasometrías arteriales.

A continuación, los lechones fueron conectados al respirador (*Babylog VN500®*, Dräger, Lübeck, Alemania), ajustado en *ventilación de alta frecuencia oscilatoria* con volumen garantizado, con los siguientes parámetros iniciales: PMA de 10 cm H<sub>2</sub>O, FiO<sub>2</sub> de 0,4,

relación I:E de 1:1, frecuencia respiratoria de 10 Hz y el VThf garantizado necesario para conseguir una PaCO<sub>2</sub> de 50-60 mm Hg. ΔPhf fue deslimitado al máximo para permitir el ajuste automático por parte del respirador, para alcanzar el VThf garantizado.

Tras un período de estabilización inicial de 20 minutos, fue extraída una gasometría arterial, realizando los cambios oportunos en el VThf garantizado para alcanzar la PaCO<sub>2</sub> objetivo, con períodos de estabilización entre cambios siempre de 20 minutos. Una vez alcanzada dicha PaCO<sub>2</sub>, fue anotada y fijada la DCO<sub>2</sub> como la “DCO<sub>2</sub> objetivo” para cada animal. Posteriormente, se fue aumentando la frecuencia de 2 en 2 Hz cada 20 minutos hasta un máximo de 20 Hz, disminuyendo proporcionalmente el VThf garantizado para mantener constante la DCO<sub>2</sub> objetivo; finalmente se disminuyó de nuevo la frecuencia a 10 Hz, aumentando el VThf al valor inicial. A los 20 minutos de cada cambio de frecuencia fue extraída una gasometría arterial, anotando los cambios en la PaCO<sub>2</sub>, así como la DCO<sub>2</sub> y el VThf garantizado.

Tras la extracción de la última gasometría arterial con 10 Hz, se procedió a realizar un lavado bronco-alveolar con 3 alícuotas de 10 ml/kg de suero salino fisiológico calentado a temperatura corporal (38°C), con el objetivo de inducir un SDR como consecuencia de la depleción del surfactante pulmonar. Para asegurar una re-expansión alveolar adecuada y evitar la aparición de atelectasias, tras el lavado bronco-alveolar, fue realizada una maniobra de reclutamiento pulmonar. Inicialmente se aumentó la FiO<sub>2</sub> a 1, para posteriormente aumentar la PMA de 10 a 25 cm H<sub>2</sub>O en 3 estadios de 1 minuto cada uno; a continuación, se disminuyó la FiO<sub>2</sub> hasta 0,4 y la PMA de 2 en 2 cm H<sub>2</sub>O cada 30 segundos hasta 12 cm H<sub>2</sub>O o 2 puntos por encima de la presión crítica de cierre (definida por el descenso de la SatO<sub>2</sub> por debajo del 90%). Una vez realizada la maniobra de reclutamiento pulmonar, fue repetido el experimento con la misma metodología, pero en situación de baja distensibilidad, aumentando la frecuencia de 10 a 20 Hz y terminando de nuevo con el descenso de la misma a la situación inicial (10 Hz), con la extracción de las gasometrías correspondientes.

Finalmente se procedió al sacrificio de los animales mediante sobredosis anestésica con propofol, seguido de un bolo intravenoso de cloruro potásico de 50 mg/Kg.

Con el objetivo de medir la complianza dinámica ( $C_{dyn}$ ) de los animales durante el procedimiento, fueron conectados puntualmente a VMC en modalidad PSV con volumen garantizado de 6 ml/kg, frecuencia respiratoria de 40 rpm y PEEP de 5 cm H<sub>2</sub>O, en situación basal tras la realización de la traqueostomía, antes y después del lavado bronco-alveolar y al final del experimento, previo al sacrificio de los animales.

Durante todo el procedimiento se mantuvo una monitorización continua del electrocardiograma y la frecuencia cardíaca (mediante la colocación de electrodos en la piel de los lechones), así como de la SatO<sub>2</sub> (mediante un pulsioxímetro colocado en la pata) y la temperatura rectal (mantenida en  $38 \pm 0,2$  °C). Las muestras de sangre arterial fueron analizadas inmediatamente tras su extracción (analizador de gases y pH GEM Premier 3000®, I.L., WERFEN, España).  $\Delta Phf$  y DCO<sub>2</sub>, calculado como  $V_{Thf}^2 \times f$  (ml<sup>2</sup>/seg), fueron obtenidos del software del respirador (VentView 2.n software, Dräger, Lübeck, Alemania). Los datos del respirador fueron exportados mediante la conexión USB del respirador para su análisis.

***Análisis estadístico y cálculo del tamaño muestral.*** Basándonos en estudios previos de nuestro grupo (59) se consideró apropiado un tamaño muestral de 6 animales.

El análisis estadístico de los datos fue realizado mediante el programa SPSS v.20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU.). La significación estadística se estableció en  $p < 0,05$ .

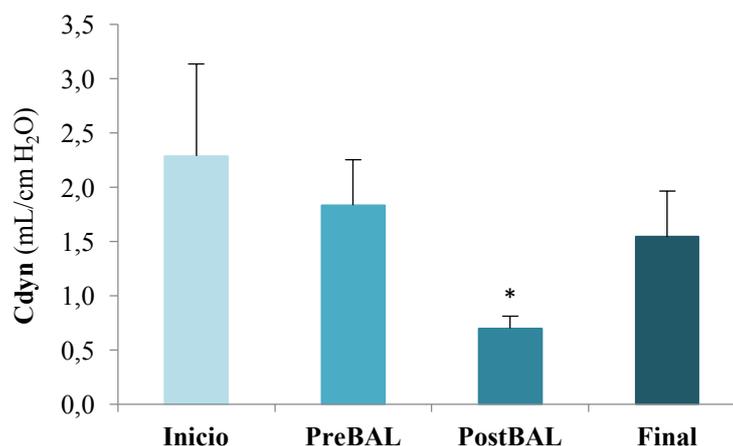
*Estadística descriptiva.* Los datos fueron agrupados y resumidos como media  $\pm$  desviación estándar.

*Estadística analítica.* Tras la confirmación de una distribución normal (utilizando una prueba de normalidad de Shapiro-Wilk), los parámetros fueron analizados mediante un análisis de varianza para medidas repetidas (ANOVA), seguido de un test de Tukey para comparaciones múltiples. Asimismo, se realizó un análisis de regresión lineal para analizar la relación entre la frecuencia y la PaCO<sub>2</sub>. Finalmente, y mediante un programa informático, se calculó una nueva ecuación de DCO<sub>2</sub> para definir la correlación entre la DCO<sub>2</sub> y la PaCO<sub>2</sub> observada a cada frecuencia.

## RESULTADOS

El peso corporal medio ( $\pm$  desviación estándar) de los 6 lechones incluidos en el estudio fue de  $1,56 \pm 0,19$  kg. Todos los animales se mantuvieron estables desde el punto de vista hemodinámico, tolerando adecuadamente el procedimiento. La complianza dinámica medida en situación basal, antes y después del lavado bronco-alveolar y al final del procedimiento se muestra en la siguiente figura, pudiendo observar una reducción significativa de la misma tras el lavado bronco-alveolar ( $p=0,004$ ) (Fig.11).

**Figura 11.** Complianza dinámica pulmonar ( $C_{dyn}$ ) en situación basal (inicio), antes del lavado bronco-alveolar (PreBAL), después del lavado bronco-alveolar (PostBAL) y al final del estudio.



\* $C_{dyn}$  fue significativamente menor tras el lavado bronco-alveolar (postBAL) en comparación con la medición previa al lavado (preBAL) ( $p=0,004$ ).

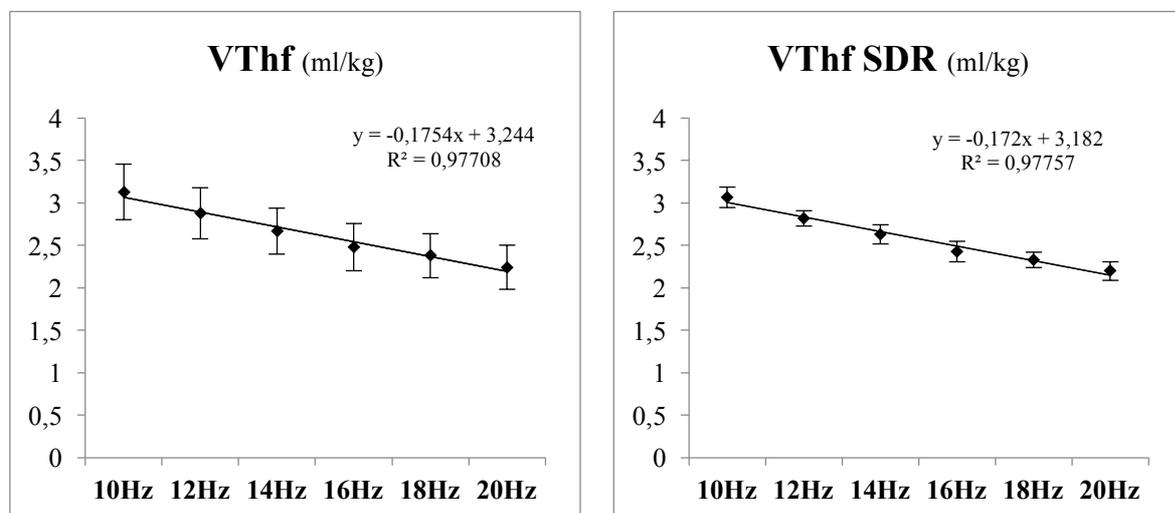
El VThf garantizado se fue disminuyendo progresivamente a lo largo del estudio, a medida que se fue aumentando la frecuencia de 10 a 20 Hz, manteniendo estable la  $DCO_2$  objetivo fijada al inicio del estudio en cada animal (Tabla 5 y Fig. 12). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el VThf necesario para alcanzar la  $PaCO_2$  objetivo ni en los valores de  $PaCO_2$  medidos a cada frecuencia entre ambas situaciones respiratorias (Tabla 5).

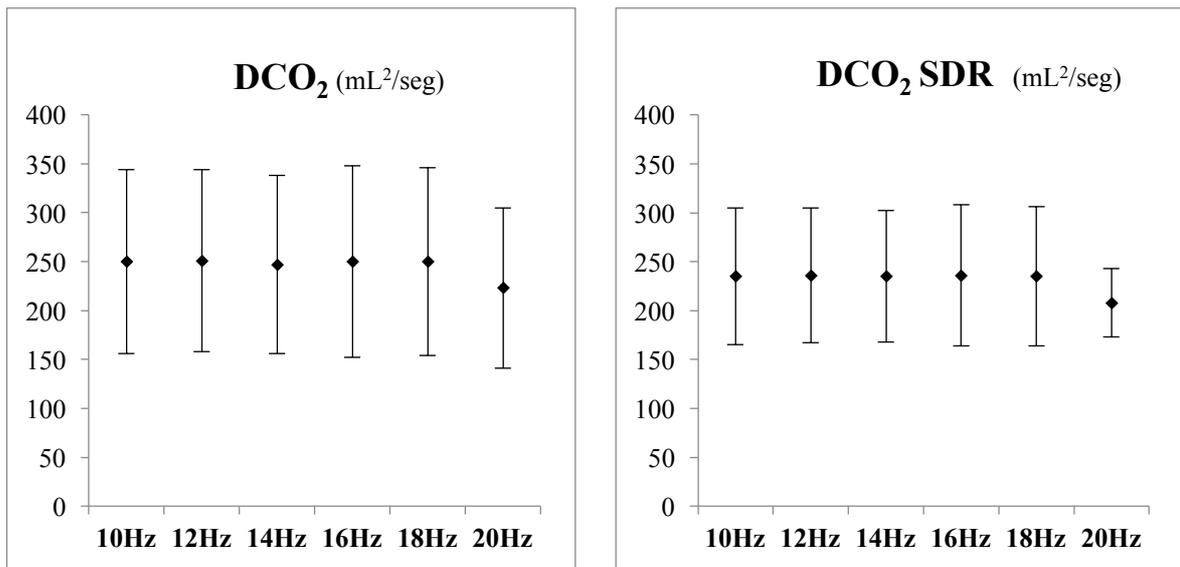
**Tabla 5.** Volumen tidal de alta frecuencia (VThf) ajustado al peso (media  $\pm$  desviación estándar-SD), presión parcial arterial de CO<sub>2</sub> (PaCO<sub>2</sub>) (media  $\pm$  desviación estándar-SD), coeficiente de difusión de CO<sub>2</sub> (DCO<sub>2</sub>) y coeficiente de difusión de CO<sub>2</sub> corregido (cDCO<sub>2</sub>) para cada cambio de frecuencia, en situación fisiológica y en situación de baja complianza (SDR).

	10Hz	12Hz	14Hz	16Hz	18Hz	20Hz
VThf (ml/kg)	<b>3,13</b>	<b>2,88</b>	<b>2,67</b>	<b>2,48</b>	<b>2,38</b>	<b>2,24</b>
SD	0,33	0,30	0,27	0,28	0,26	0,26
PaCO <sub>2</sub> (mm Hg)	<b>54</b>	<b>52</b>	<b>51</b>	<b>47</b>	<b>43</b>	<b>39</b>
SD	5	3	3	4	4	2
p					0,001	0,000
DCO <sub>2</sub> (mL <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	<b>240</b>	<b>245</b>	<b>245</b>	<b>241</b>	<b>251</b>	<b>244</b>
cDCO <sub>2</sub> (mL <sup>1,78</sup> s <sup>-1,15</sup> )	<b>239</b>	<b>255</b>	<b>266</b>	<b>271</b>	<b>290</b>	<b>290</b>
VThf SDR (ml/kg)	<b>3,07</b>	<b>2,82</b>	<b>2,63</b>	<b>2,43</b>	<b>2,33</b>	<b>2,20</b>
SD	0,12	0,09	0,11	0,12	0,09	0,11
PaCO <sub>2</sub> SDR (mm Hg)	<b>57</b>	<b>54</b>	<b>52</b>	<b>50</b>	<b>46</b>	<b>42</b>
SD	4	3	6	5	5	5
P					0,007	0,000
DCO <sub>2</sub> SDR (mL <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	<b>229</b>	<b>232</b>	<b>235</b>	<b>231</b>	<b>238</b>	<b>235</b>
cDCO <sub>2</sub> SDR (mL <sup>1,78</sup> s <sup>-1,15</sup> )	<b>229</b>	<b>243</b>	<b>256</b>	<b>261</b>	<b>276</b>	<b>281</b>

\*p: significación estadística de la diferencia de PaCO<sub>2</sub> entre esa frecuencia y la obtenida con 10 Hz.  
SDR: síndrome de distrés respiratorio.

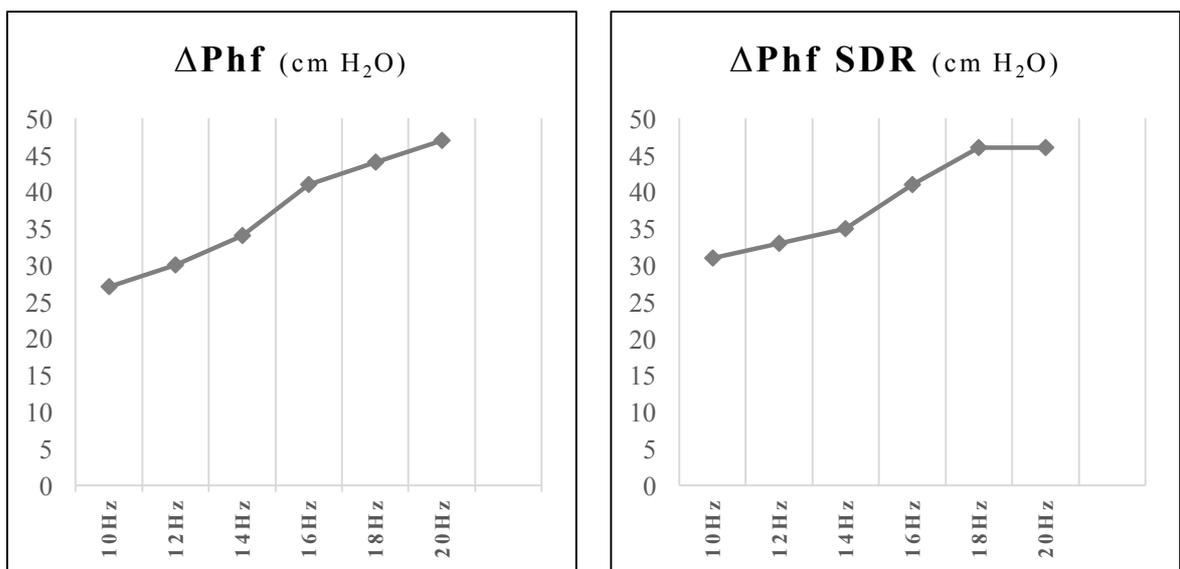
**Figura 12.** Volumen tidal de alta frecuencia (VThf) ajustado al peso y coeficiente de difusión de CO<sub>2</sub> (DCO<sub>2</sub>) a frecuencias crecientes, en situación fisiológica y de baja complianza (SDR).





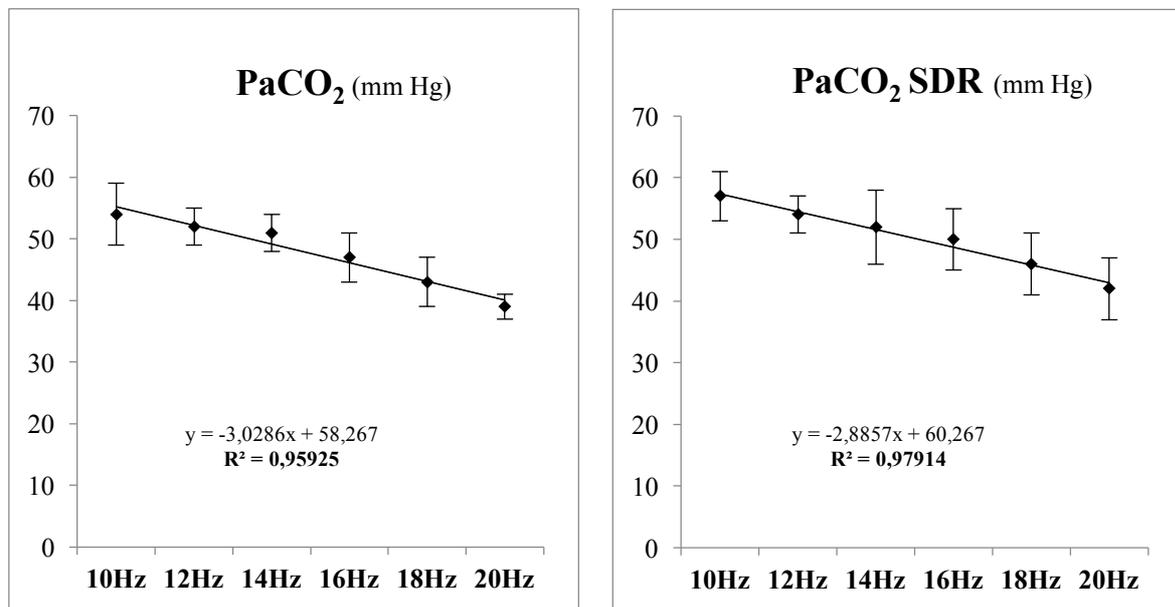
A medida que se fue aumentando la frecuencia, fue necesario un aumento de  $\Delta P_{hf}$  en el respirador para mantener el VT<sub>hf</sub> garantizado (Fig. 13).

**Figura 13.** Delta de presión ajustado por el respirador a frecuencias crecientes, en situación fisiológica ( $\Delta P_{hf}$ ) y de baja complianza ( $\Delta P_{hf}$  SDR).



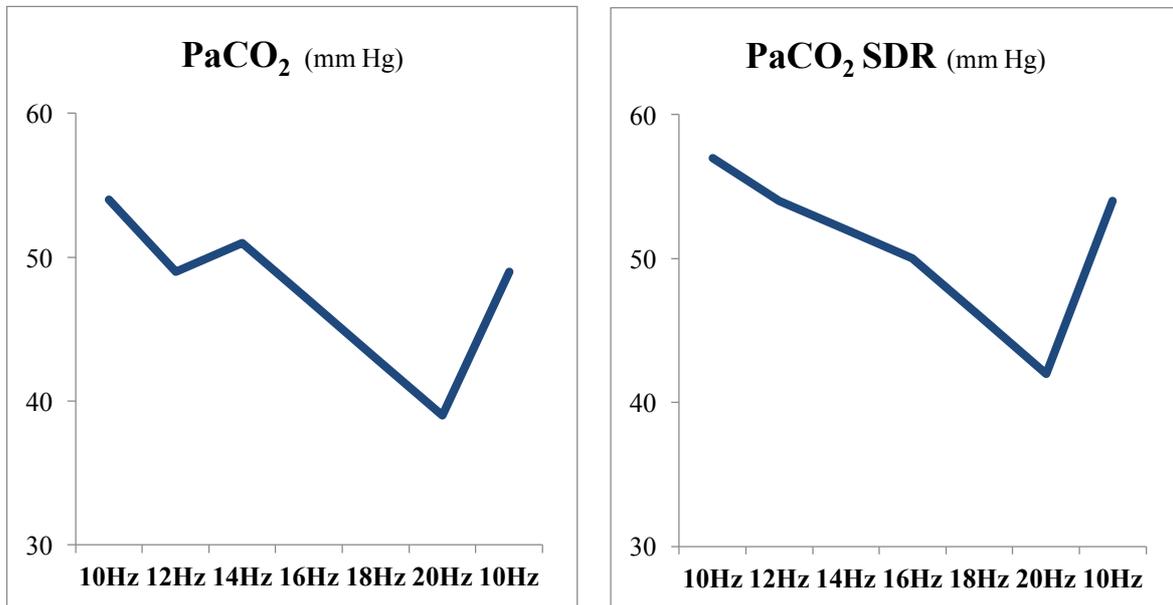
Con el aumento de la frecuencia se objetivó un descenso lineal de PaCO<sub>2</sub>, tanto en situación fisiológica como en situación de baja complianza, con una R<sup>2</sup> muy próxima a 1 (Fig. 14). Así mismo, se observó una diferencia estadísticamente significativa entre la PaCO<sub>2</sub> inicial, con 10 Hz, y las obtenidas con 18 y 20 Hz en ambas situaciones respiratorias (Tabla 5).

**Figura 14.** Presión parcial arterial de CO<sub>2</sub> a frecuencias crecientes, en situación fisiológica (PaCO<sub>2</sub>) y en situación de baja complianza (PaCO<sub>2</sub> SDR).



Finalmente, al disminuir de nuevo la frecuencia a 10 Hz al final del experimento se observó un aumento en la PaCO<sub>2</sub>, tanto en situación fisiológica como a baja complianza (Fig. 15).

**Figura 15.** Presión parcial arterial de CO<sub>2</sub> a frecuencias crecientes, de 10 a 20 Hz, y descenso final a 10 Hz, en situación fisiológica (PaCO<sub>2</sub>) y en situación de baja complianza (PaCO<sub>2</sub> SDR).

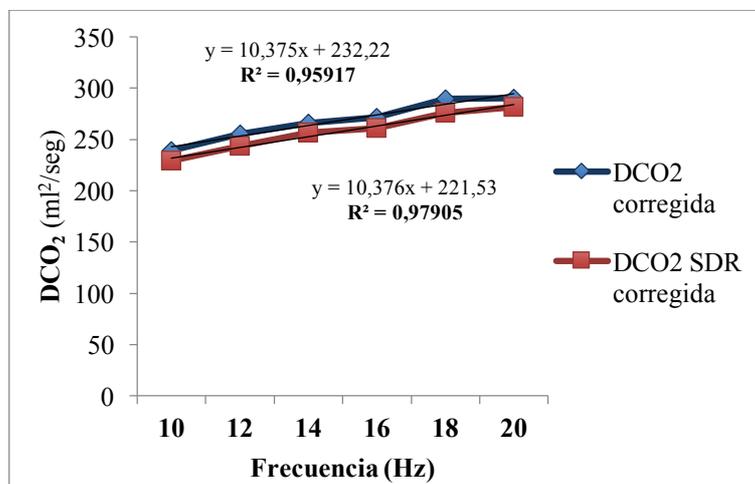


Utilizando un programa informático, y teniendo en cuenta la tendencia de la PaCO<sub>2</sub> con el aumento de la frecuencia, se calculó una nueva ecuación de DCO<sub>2</sub> para definir la relación entre la DCO<sub>2</sub> y la PaCO<sub>2</sub> observada:

$$DCO_{2 \text{ corregida}} = VThf^{1,78} \times f^{1,15}$$

Mediante el uso de esta nueva ecuación de DCO<sub>2</sub> observamos un aumento lineal de la misma a frecuencias crecientes, paralelamente al descenso observado en la PaCO<sub>2</sub> (Tabla 5 y Fig. 16).

**Figura 16.** Coeficiente de difusión de CO<sub>2</sub> corregido a frecuencias crecientes, en situación fisiológica (DCO<sub>2</sub> corregida) y de baja complianza (DCO<sub>2</sub> SDR corregida).



## VENTILACIÓN MECÁNICA DE ALTA FRECUENCIA OSCILATORIA CON FRECUENCIAS ELEVADAS Y VOLÚMENES TÍDALES MUY BAJOS COMO ESTRATEGIA DE PROTECCIÓN PULMONAR EN EL SÍNDROME DE DISTRÉS RESPIRATORIO DE LECHONES RECIÉN NACIDOS (63)

### HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

#### *Hipótesis operativas.*

1. El empleo de la VAFO con VG en un modelo experimental de SDR en lechones recién nacidos, en comparación con una estrategia de protección pulmonar en VMC, disminuye la reacción inflamatoria y la alteración histopatológica del pulmón.
2. El uso de frecuencias muy elevadas en VAFO para disminuir al máximo el VThf, manteniendo una ventilación adecuada (DCO<sub>2</sub> y PaCO<sub>2</sub> constantes) en un modelo experimental de SDR en lechones recién nacidos, disminuye la reacción inflamatoria y la alteración histopatológica del pulmón.

#### *Hipótesis nulas.*

1. El empleo de la VAFO con VG en un modelo experimental de SDR en lechones recién nacidos, en comparación con una estrategia de protección pulmonar en VMC, no disminuye la reacción inflamatoria ni la alteración histopatológica del pulmón.
2. El uso de frecuencias muy elevadas en VAFO para disminuir al máximo el VThf, manteniendo una ventilación adecuada (DCO<sub>2</sub> y PaCO<sub>2</sub> constantes) en un modelo experimental de SDR en lechones recién nacidos, no disminuye la reacción inflamatoria ni la alteración histopatológica del pulmón.

El *objetivo del estudio* fue demostrar que la implantación de una nueva estrategia de ventilación de alta frecuencia oscilatoria basada en el uso de frecuencias mayores a las empleadas en la práctica clínica habitual con el objetivo de disminuir al máximo el VThf, disminuye el daño pulmonar agudo asociado a la ventilación mecánica, reduciendo la alteración de la arquitectura del pulmón y los cambios inflamatorios que tienen lugar en el mismo, comparado con las estrategias clásicas de VAFO y VMC.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Sujetos de estudio.** Estudio experimental con 16 lechones Landrace-Large White de 24-48 horas de vida, divididos en 4 grupos (4 animales por grupo). Todos los procedimientos realizados en animales dentro de este proyecto fueron aprobados por el Comité Ético de Experimentación Animal del Hospital Universitario Puerta de Hierro (CEEA: 004P/2017) y realizados en los términos autorizados por la normativa europea acerca de la manipulación de animales de experimentación (2010/63/UE) y el Real Decreto 53/2013, de 1 de Febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia.

**Anestesia.** La inducción de la anestesia general fue realizada con sevoflurano 8% en oxígeno, administrado a través de mascarilla. Posteriormente y, durante el resto del procedimiento, se mantuvo a los animales sedoanalgesiados mediante una infusión intravenosa continua de propofol (5-15 mg/kg/h), utilizando la morfina intravenosa en bolos (1 mg/Kg) como analgesia intraoperatoria y el rocuronio intravenoso como relajante muscular (1,5 mg/kg), con el objetivo de mejorar el análisis de la mecánica pulmonar sin interferencia de la actividad muscular respiratoria.

**Protocolo experimental.** Una vez logrado un adecuado nivel de anestesia, se procedió a la intubación endotraqueal de los lechones por traqueostomía con un tubo endotraqueal de 3 mm de diámetro y a la ligadura traqueal para anular la posible fuga aérea; asimismo, se procedió a la canalización, por disección, de la vena yugular interna derecha (catéter de polietileno 24G) para la infusión continua de suero glucosado 5% (10 ml/kg/h) y administración de fármacos, y de la arteria carótida ipsilateral (catéter de polietileno 20G) para la monitorización continua de la presión arterial invasiva, a través de un transductor de presión calibrado, y extracción de gasometrías arteriales.

A continuación, los lechones fueron conectados al respirador (*Babylog VN500®*, Dräger, Lübeck, Germany), ajustado en *ventilación mecánica convencional* en modalidad PSV con

volumen garantizado, con los siguientes parámetros iniciales: PEEP de 5-6 cm H<sub>2</sub>O, FiO<sub>2</sub> 0,3-0,4 para mantener una SatO<sub>2</sub> de 90-95%, frecuencia respiratoria de 40-60 rpm y un VT garantizado de 6-7 ml/kg para conseguir una PaCO<sub>2</sub> de 45-60 mm Hg. La PIP fue deslimitada para permitir el ajuste automático por parte del respirador para alcanzar el VT garantizado.

Tras un período de estabilización inicial de 60 minutos, se realizó un lavado bronco-alveolar con 3 alícuotas de 10 ml/kg de suero salino fisiológico calentado a temperatura corporal (38°C), con el objetivo de inducir un SDR secundario a la depleción del surfactante pulmonar. Antes y después del BAL, fue anotada la C<sub>dyn</sub> pulmonar para verificar la disminución de la misma y, por lo tanto, el distrés respiratorio. Posteriormente se aumentó la FiO<sub>2</sub> a 1, modificando en ese momento la modalidad del respirador a *ventilación de alta frecuencia oscilatoria* para realizar una maniobra de reclutamiento pulmonar, con el objetivo de asegurar una adecuada re-expansión alveolar. Inicialmente se aumentó la PMA de 10 a 25 cm H<sub>2</sub>O en 3 estadios de 1 minuto cada uno; a continuación, se disminuyó la FiO<sub>2</sub> hasta 0,4 y la PMA de 2 en 2 cm H<sub>2</sub>O cada 30 segundos hasta 10 cm H<sub>2</sub>O o 2 puntos por encima de la presión crítica de cierre (definida por el descenso en la SatO<sub>2</sub> por debajo del 90%). Finalmente, cada lechón fue asignado aleatoriamente a uno de los 4 grupos de estudio (3 grupos de VAFO y 1 grupo de VMC), ajustando según el mismo los parámetros del respirador.

1. *Grupo de VMC*: Los animales asignados a este grupo fueron ventilados en *ventilación mecánica convencional*, en modalidad PSV con volumen garantizado con los parámetros previamente descritos, ajustados para conseguir la PaCO<sub>2</sub> objetivo de 45-60 mm Hg.
2. *Grupos de VAFO (VAFO 5Hz, VAFO 10 Hz y VAFO 20 Hz)*: Los animales asignados a los otros tres grupos de estudio fueron ventilados en *ventilación de alta frecuencia oscilatoria* con volumen garantizado, con los siguientes parámetros: PMA de 10 cm H<sub>2</sub>O, FiO<sub>2</sub> de 0,3-0,4 para SatO<sub>2</sub> de 90-95%, relación I:E 1:1, frecuencia respiratoria de 5, 10 o 20 Hz (según el grupo correspondiente)

y el VThf garantizado necesario para conseguir la PaCO<sub>2</sub> objetivo de 45-60 mm Hg. ΔPhf fue deslimitado al máximo para permitir el ajuste automático por parte del respirador para alcanzar el VThf garantizado.

Para la medición de la presión en la vía aérea distal se insertó en la tráquea de los lechones un catéter de polietileno de 20G, inmediatamente por debajo del punto de inserción del tubo endotraqueal y en paralelo al mismo, progresándolo para dejar su punta aproximadamente a nivel de la carina. Dicho catéter fue conectado a un transductor de presión para el registro de la PMA (PMA<sub>t</sub>) y ΔPhf (ΔPhf<sub>t</sub>) a nivel de la tráquea. Durante todo el procedimiento se mantuvo una monitorización continua del electrocardiograma y la frecuencia cardíaca (mediante la colocación de electrodos en la piel de los lechones), así como de la SatO<sub>2</sub> (mediante un pulsioxímetro colocado en la pata) y la temperatura rectal (mantenida entre 36-38°C). Así mismo, se realizó una talla vesical para evitar la aparición de globo vesical. La temperatura, pulsioximetría, frecuencia cardíaca, tensión arterial y presión en la vía aérea fueron registradas de manera continua en un monitor cardiovascular (Infinity Delta XL®, Dräger, Lübeck, Alemania). Se realizaron extracciones seriadas de sangre a través del catéter arterial, para el análisis del pH, la PaO<sub>2</sub> y la PaCO<sub>2</sub> (analizador de gases y pH GEM Premier 3000®, WERFEN, España). Los datos del respirador fueron exportados mediante la conexión USB del mismo para su análisis.

Tras 12 horas de ventilación según la estrategia asignada a cada grupo de lechones, asegurando una adecuada ventilación y oxigenación durante todo el procedimiento, se realizó una última medición de Cdyn utilizando los parámetros anteriormente descritos en VMC y se procedió al sacrificio de los animales mediante sobredosis anestésica de propofol seguida de un bolo intravenoso de cloruro potásico (50 mg/kg). Tras el mismo, se realizó una esternotomía media; los pulmones fueron explantados y separados en bloque para la realización de estudios histológicos y medición de factores estimulantes de crecimiento y de marcadores inflamatorios.

*Fijación y procesamiento de los pulmones.* Tras la extracción de los pulmones en bloque se procedió, inicialmente, a la expansión de los pulmones mediante la infusión de suero salino fisiológico a través del tubo endotraqueal a una presión de 20 cm H<sub>2</sub>O. A continuación, se canalizó el tronco de la arteria pulmonar con un catéter de polietileno para perfundir ambos pulmones con suero salino fisiológico, previa sección de la orejuela izquierda para favorecer el drenaje. Posteriormente, se ligó y seccionó el hilio pulmonar izquierdo, para la extracción de muestras de tejido pulmonar para ADN (congeladas a -80°C para posibles estudios futuros) y ARN (congeladas a -80°C en RNA Later hasta su posterior procesamiento). Por último, se perfundió y fijó el pulmón derecho con paraformaldehído al 4% (PFA 4%) a través de la arteria pulmonar ipsilateral y se extrajeron pequeñas muestras de tejido pulmonar de distintas regiones del lóbulo medio derecho (superior, medio e inferior en relación a la posición mantenida por los animales en decúbito supino), almacenadas en PFA 4% a 4°C, para el estudio histológico e inmunohistoquímico.

*Estudio histológico pulmonar.* Las muestras recogidas para el estudio histológico pulmonar, prefijadas en PFA 4%, se incluyeron en parafina mediante el paso por alcoholes de grado creciente, dos baños de xilol y uno de parafina, para finalmente ser colocadas en un molde de parafina; posteriormente se cortaron mediante un microtomo y se procesaron para su tinción. Para el desparafinado de las muestras se utilizaron 2 baños de xileno y 3 de alcoholes en sentido decreciente (100%, 90% y 70%) y posteriormente se tiñeron con hematoxilina y eosina. Durante el proceso de deshidratación posterior a la tinción con eosina se utilizaron de nuevo alcoholes en solución creciente (70%, 96% y 100%) y xileno. Se montaron con DPX.

Con la hematoxilina-eosina se trató de determinar la presencia de lesiones histológicas en los tejidos estudiados. La tinción de hematoxilina-eosina tiñe las estructuras ácidas (basófilas) en tonos azul y púrpura, por acción de la hematoxilina, y las estructuras básicas (acidófilas) en tonos rosas, por acción de la eosina.

El daño histológico pulmonar fue cuantificado mediante un score predefinido por nuestro grupo, incluyendo cinco variables (inflamación, edema, hemorragia, atelectasia y

enfisema), graduadas cada una de ellas para cuantificar la severidad del daño pulmonar, según se muestra en la *Tabla 6*, con un score total entre 0 y 20. Los patólogos fueron ciegos respecto al grupo correspondiente a cada muestra evaluada.

*Tabla 6. Score predefinido de daño histológico pulmonar.*

INFLAMACIÓN	0	No se observan lesiones o los cambios observados entran dentro de la normalidad.
	1	Infiltrado inflamatorio leve de la pared alveolar con engrosamiento de esta.
	2	Infiltrado medio de células inflamatorias en la pared y en la luz alveolar.
	3	Infiltrado moderado de células inflamatorias difuso en el parénquima de tipo focal.
	4	Infiltrado severo de células inflamatorias difuso en la mayoría del parénquima analizado.
HEMORRAGIA, ATELECTASIA, EDEMA, ENFISEMA.	0	No se observan lesiones o los cambios observados entran dentro de la normalidad.
	1	Escasos pero superan los considerados normales.
	2	Las lesiones son identificables pero con una severidad media.
	3	Lesiones moderadas que aún pueden incrementar en severidad.
	4	Las lesiones son muy graves y ocupan la mayoría del tejido analizado.

*Inmunohistoquímica para detección de VEGF.* Las muestras extraídas para el estudio inmunohistoquímico, también prefijadas en PFA 4%, se incluyeron en OCT, previo lavado con un tampón fosfato salino (PBS 1X) y paso gradual por sucrosa 30%. Posteriormente fueron congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Tras el tratamiento de los portaobjetos con polilisina, como adhesivo para fijar las secciones al mismo, y su posterior lavado con PBS, se realizaron cortes de 7 micras de grosor con el criostato. A continuación, los cortes fueron fijados en acetona. Una vez secos, se volvieron a congelar a  $-80^{\circ}\text{C}$  para su conservación hasta la realización del análisis conjunto de todas las muestras de los animales del estudio.

Debido a la escasa autofluorescencia del pulmón, fue necesario realizar una *inmunofluorescencia indirecta*, utilizando un anticuerpo primario (AC1: AC policlonal anti-VEGF, Ref: ABIN191867, Antibodies-online) y otro secundario (AC2: AC anti-IgG Fluorescein FITC, Ref: 711-097-003, Jackson InmunoResearch) para la detección del *factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF)*. Tras permeabilizar los cortes en PBT 1X (PBS

al 0,1% tritón), se añadió suero porcino filtrado y desactivado al 10%; posteriormente se añadió el AC1, y tras el lavado repetido con PBT 1X, el AC2.

Finalmente, las muestras tratadas fueron analizadas mediante *microscopía confocal*. Este instrumento permite realizar cortes ópticos finos, utilizando una fuente de luz potente (láser) que ilumina la muestra punto por punto mediante el escaneo o barrido de la misma, eliminando la luz procedente de los planos no enfocados. Así mismo, permite la obtención de fotografías y la cuantificación de la fluorescencia resultante del conjunto de la muestra (Image J).

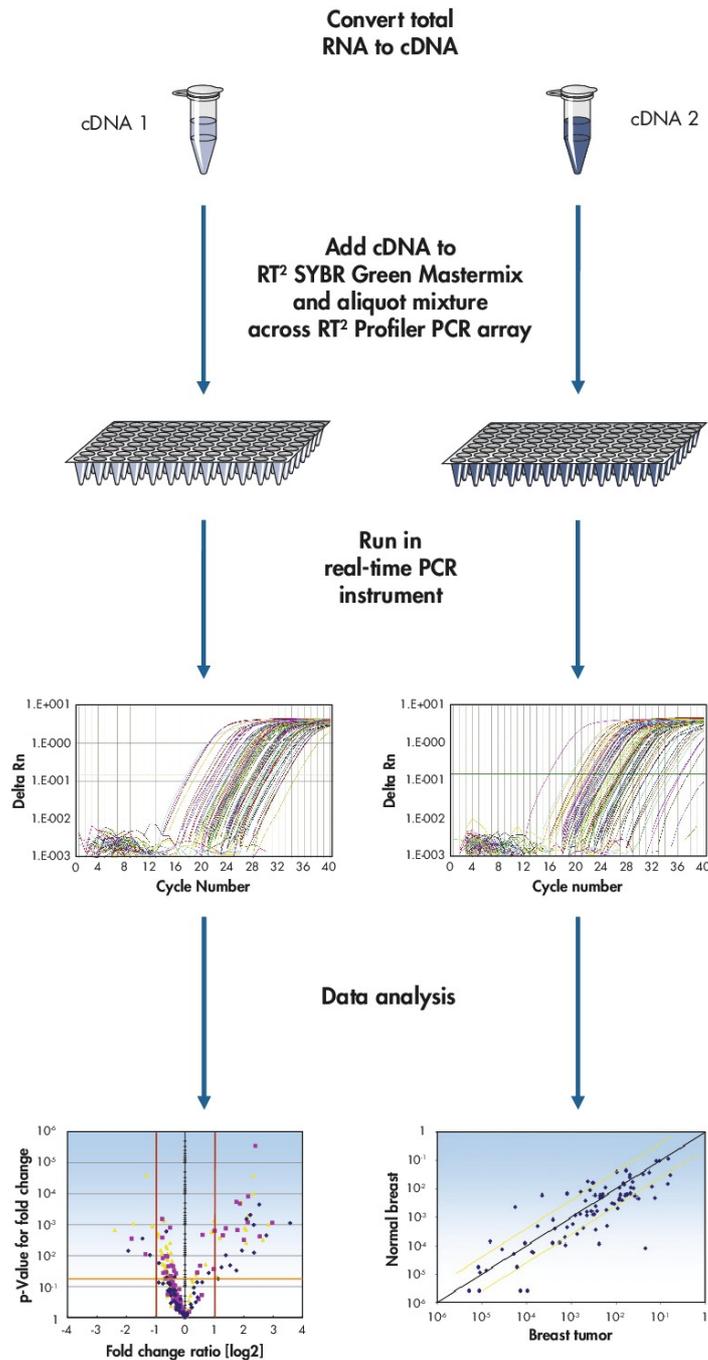
#### ***PCR array de expresión de citoquinas y receptores de inflamación en los grupos de VAFO.***

Por último, se realizó un array de expresión de 84 genes mediadores de respuesta inflamatoria utilizando el kit *RT<sup>2</sup> Profiler™ PCR Array Pig Inflammatory Cytokines and Receptors®* de Qiagen, según las instrucciones del fabricante.

Para llevar a cabo los estudios, se utilizaron las biopsias extraídas del pulmón izquierdo de cada animal, que habían sido mantenidas en RNA Later (ThermoFisher) y congeladas a -80°C hasta su posterior procesamiento. Una vez realizada la lisis de las mismas mediante un homogeneizador electrónico (TissueLyzer®), se realizó la extracción de ARN utilizando el kit comercial Qiagen RNeasy Mini Kit®, siguiendo el protocolo del fabricante. El ARN extraído se cuantificó mediante espectrofotometría (Nanodrop®) y la pureza y calidad del ARN mediante un Chip de ARN en un Bioanalyzer Agilent RNA 6000 Nano Kit®. El paso de ARN a cADN se realizó mediante transcripción inversa en un termociclador T Gradient (Biometra) utilizando el Kit RT2 First Strand Kit® (Qiagen). Posteriormente se realizaron mezclas de la misma cantidad de ARN de los dos grupos de estudio (***VAFO 10 Hz y VAFO 20 Hz***), y se realizó una PCR en tiempo real en un termociclador ABI StepOnePlus® (Applied Biosystem) para cada uno de los grupos por separado (RT2qPCR mastermix Sybr Green®) (*Fig. 17*), según las recomendaciones del fabricante. Cada pocillo de la placa lleva los primers y sondas específicos para cada uno de los genes. Cada placa lleva 5 genes *housekeeping* que permiten la normalización de los datos, un control de ADN genómico (GDC) que permite detectar específicamente la contaminación del ADN. El control de

transcripción inversa (RTC) prueba la eficacia de la reacción de transcripción inversa realizada con el kit RT2 First Strand®, detectando una plantilla sintetizada a partir del control de ARN externo incorporado en el kit. El control positivo de PCR (PPC) consiste en una secuencia de ADN artificial predisensada y que el ensayo detecta.

**Figura 17.** Esquema resumen del procesamiento de las muestras para la realización del array de inflamación.



De este modo y utilizando un software específico, RT2 Profiler PCR Array Data Analysis® (GeneGlobe Data Analysis Center, Qiagen), se analizaron los datos obtenidos de las PCR en tiempo real de cada uno de los grupos. Los módulos de PCR en tiempo real transforman los valores del ciclo de umbral (CT) en resultados calculados para la expresión de los genes de estudio. Se realizó un análisis comparativo entre ambos grupos de VAFO (considerando grupo todos los animales de la misma estrategia de ventilación juntos), seleccionando aquellos genes que tenían una CT menor de 30 ciclos y un *Fold-Change* mayor de 2 veces. Con estos parámetros, fueron seleccionados 11 genes cuya expresión presentaba mayores diferencias, bien como genes sobre-expresados o bien como genes reprimidos (*Tabla 7*).

**Tabla 7.** Genes de citoquinas inflamatorias y receptores de las mismas seleccionados para el estudio individual de cada uno de los animales de los grupo de VAFO.

SÍMBOLO	DESCRIPCIÓN
<i>IL1A</i>	Interleuquina-1, alpha ( <i>Il-1<math>\alpha</math></i> )
<i>CCL2</i>	Ligando de quimiocina 2
<i>VEGF-A</i>	Factor de crecimiento del endotelio vascular-A
<i>CCL20</i>	Ligando de quimiocina 20
<i>TGF-B2</i>	Factor de crecimiento transformante, beta 2 ( <i>TGF-<math>\beta</math>2</i> )
<i>FASLG</i>	Fas ligando (superfamilia del factor de necrosis tumoral, <i>TNF</i> , 6)
<i>TNFRSF-11B</i>	Superfamilia del receptor del <i>TNF</i> (11b)
<i>CSCL-11</i>	Ligando de quimiocina 11
<i>IL-1B2</i>	Interleuquina-1 beta ( <i>Il-1<math>\beta</math></i> )
<i>CXCL8</i>	Interleuquina-8 ( <i>Il-8</i> )
<i>TNFSF-10</i>	Superfamilia del <i>TNF</i> (ligando, 10)

Con la finalidad de confirmar los datos de sobre-expresión o represión obtenidos en los dos grupos, se procedió a realizar un estudio de expresión de cada uno de los 11 genes seleccionados en cada uno de los animales de los grupos de estudio de VAFO. Se diseñó una placa específica, para PCR en tiempo real, con los 11 genes de estudio y los controles necesarios para poder realizar la técnica. La cuantificación de los genes se realizó por triplicado para cada animal, siguiendo el protocolo descrito anteriormente. El análisis de los datos fue realizado en el GeneGlobe Data Analysis Center® (Qiagen), con un software específico para la placa que se había diseñado.

Debe precisarse que, debido a problemas en el procesamiento de las muestras, sólo pudieron ser incluidos en el array de inflamación 3 animales por grupo.

*Análisis estadístico y cálculo del tamaño muestral.* Inicialmente, y basándonos en estudios previos de nuestro grupo (59) se consideró apropiado un tamaño muestral de 6 animales por grupo. Sin embargo, se realizó un análisis preliminar tras incluir 4 animales en cada grupo de estudio, observándose en ese momento diferencias estadísticamente significativas, por lo que se decidió finalizar el estudio, con el objetivo de reducir el número de animales empleados, en base a la regulación nacional y Europea para la protección de los animales de experimentación.

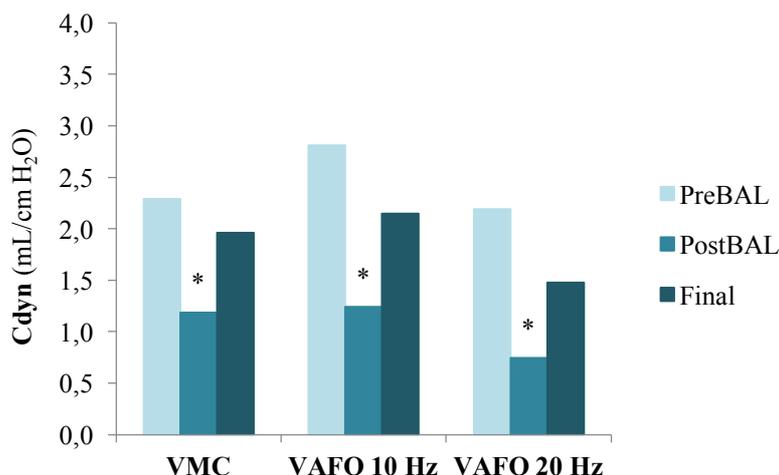
El análisis estadístico de los datos fue realizado mediante el programa SPSS v.20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU.). Tras comprobar la normalidad en la distribución de los datos mediante un test de Shapiro-Wilk, se realizó un Test-t para datos no apareados y un análisis de varianza (ANOVA) para medidas repetidas, seguido de un test de Tukey para comparaciones múltiples. Finalmente se utilizó un ANOVA de Kruskall-Wallis para el análisis de los datos no paramétricos. Se aceptó como estadísticamente significativa una  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

El peso corporal medio ( $\pm$  desviación estándar) de los lechones incluidos en el estudio fue de  $2,57 \pm 0,59$  kg. Todos los animales se mantuvieron bien ventilados y oxigenados. No hubo diferencias significativas en los parámetros hemodinámicos entre los grupos de VMC, VAFO 10 Hz y VAFO 20 Hz. Sin embargo, el grupo de lechones ventilados en VAFO con 5 Hz presentó una importante inestabilidad hemodinámica, que impidió completar las 12 horas de ventilación en 3 de los 4 lechones del grupo. Con el objetivo de evitar sesgos secundarios a la menor duración de la estrategia ventilatoria, se eliminó este grupo para el análisis de los datos.

Como puede observarse a continuación (*Fig. 18*), el lavado bronco-alveolar disminuyó de manera estadísticamente significativa la complianza dinámica, sin cambios significativos entre los distintos grupos. Al final del estudio se objetivó de nuevo un aumento de la misma en todos los grupos.

**Fig. 18.** Complianza dinámica pulmonar ( $C_{dyn}$ ) antes del lavado bronco-alveolar (PreBAL), después del lavado bronco-alveolar (PostBAL) y al final del estudio.



(\*)  $C_{dyn}$  fue significativamente inferior tras el lavado bronco-alveolar (PostBAL) comparado con la medición hecha previa al lavado (PreBAL) en el grupo de VMC (2,29 ml/cm H<sub>2</sub>O vs 1,19 ml/cm H<sub>2</sub>O;  $p = 0,001$ ); VAFO 10 Hz (2,81 ml/cm H<sub>2</sub>O vs 1,24 ml/cm H<sub>2</sub>O;  $p = 0,035$ ) y VAFO 20 Hz (2,19 ml/cm H<sub>2</sub>O vs 0,75 ml/cm H<sub>2</sub>O;  $p = 0,006$ ).

### *Estudio histológico pulmonar.*

#### *1) Grupo de VENTILACIÓN MECÁNICA CONVENCIONAL*

Los lechones del grupo de VMC precisaron un VT de  $7,33 \pm 0,20$  ml/kg para alcanzar la PaCO<sub>2</sub> objetivo de 45-60 mm Hg.

La principal lesión observada en los pulmones de este grupo fue el *enfisema*, de grado leve o moderado. También se observaron un *infiltrado inflamatorio* (engrosamiento de las paredes alveolares secundario a la presencia de células inflamatorias mononucleares, con predominio de macrófagos en la luz alveolar) y áreas de *atelectasia*, aunque con un grado de severidad leve. No se observaron signos de edema ni hemorragia en ninguna de las muestras de este grupo de lechones (*Tabla 8, Fig. 19*).

#### *2) Grupos de VENTILACIÓN DE ALTA FRECUENCIA OSCILATORIA*

Los lechones del grupo de VAFO de 20 Hz precisaron un VThf significativamente inferior al de 10 Hz para alcanzar la PaCO<sub>2</sub> objetivo ( $1,56$  ml/kg  $\pm$   $0,20$  vs  $2,54 \pm 0,38$  ml/kg;  $p = 0,004$ ).

En general, las lesiones histológicas fueron más evidentes y con un grado de severidad mayor en las muestras del grupo de **10 Hz**, ventilados con un VThf mayor. El *infiltrado inflamatorio* fue la principal lesión objetivada en este grupo, de predominio mononuclear (linfocitos, células plasmáticas y macrófagos) tanto a nivel de la luz alveolar como en su pared y con amplias zonas de consolidación del parénquima pulmonar.

Junto con la inflamación, en los casos más severos se observaron también áreas de *hemorragia*, con extravasación de eritrocitos a la luz alveolar o entre las células inflamatorias. En la mayoría de los casos fueron apreciadas áreas de *atelectasia* con colapso de la luz alveolar, más severas cuanto mayor fue la severidad de la inflamación y la presencia de hemorragia.

No se observó edema ni enfisema en ninguna de las muestras de este grupo.

El número de muestras con presencia de inflamación y su severidad fueron menores en el grupo de **20 Hz**, comparado con el de 10 Hz. La principal lesión de este grupo fue la presencia de áreas de *atelectasia*, en general, leves o medias y localizadas en las zonas más periféricas del tejido analizado.

Como en el grupo anterior, la presencia de edema o enfisema fue excepcional (*Tabla 8, Fig. 19*).

**Tabla 8.** Daño histológico pulmonar en los grupos de ventilación mecánica convencional (VMC) y ventilación de alta frecuencia (VAFO 10 Hz y VAFO 20 Hz).

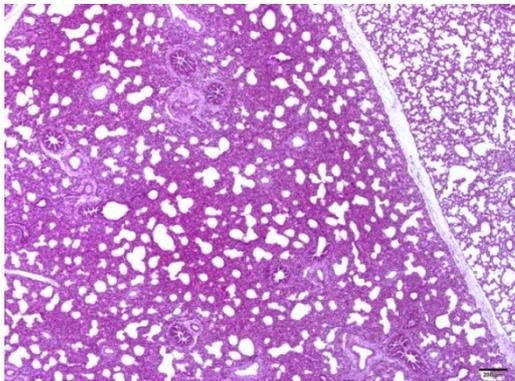
<i>Animal</i>	VAFO 10 Hz				VAFO 20 Hz				VMC			
	<i>I</i>	<i>II</i>	<i>III</i>	<i>IV</i>	<i>V</i>	<i>VI</i>	<i>VII</i>	<i>VIII</i>	<i>IX</i>	<i>X</i>	<i>XI</i>	<i>XII</i>
INFLAMACIÓN	3	2	4	3	1	2	0	0	1	1	1	3
HEMORRAGIA	1	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ATELECTASIA	2	2	4	3	2	3	1	2	1	1	1	3
EDEMA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ENFISEMA	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	2
<i>Score total</i>	28				11				20			

*Score total:* puntuación total de cada grupo, obtenida de la suma de cada una de las puntuaciones asignadas a cada variable en cada animal del mismo.

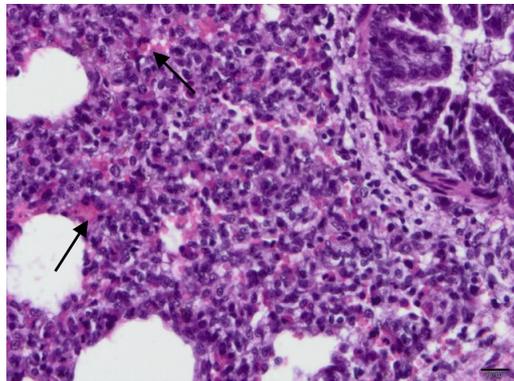
Al comparar cada una de las variables del score de daño histológico pulmonar de los distintos grupos, se observaron diferencias estadísticamente significativas en inflamación ( $p=0,043$ ), hemorragia ( $p=0,027$ ) y enfisema ( $p=0,027$ ).

*Figura 19. Estudio histológico pulmonar.*

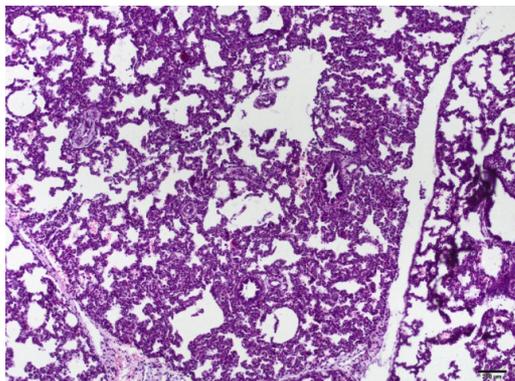
**A.1**



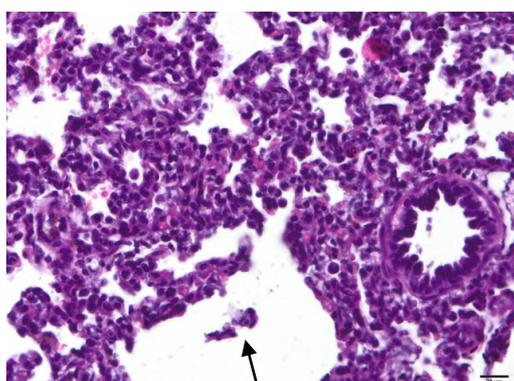
**A.2**



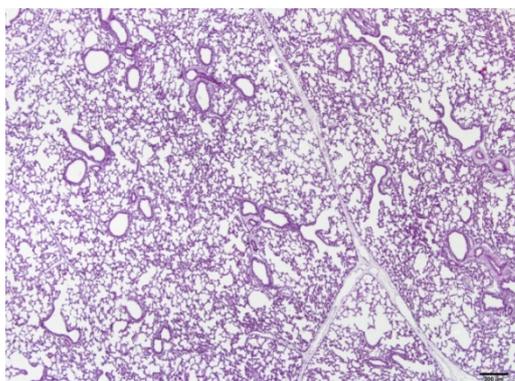
**A.3**



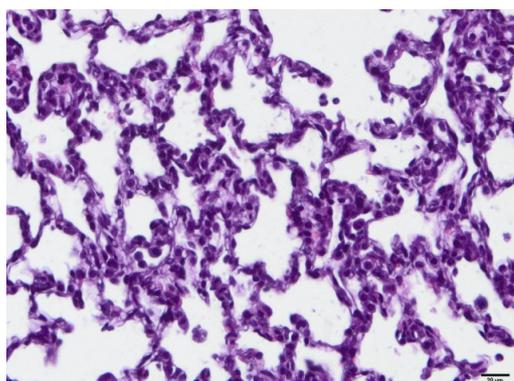
**A.4**



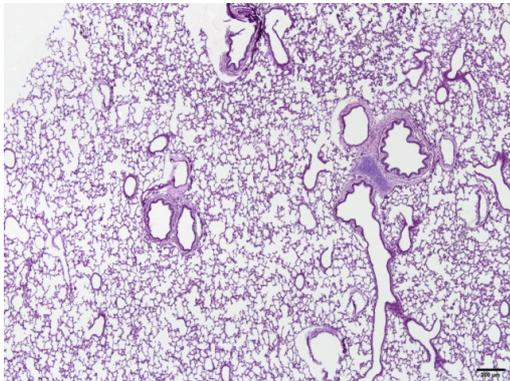
**B.1.**



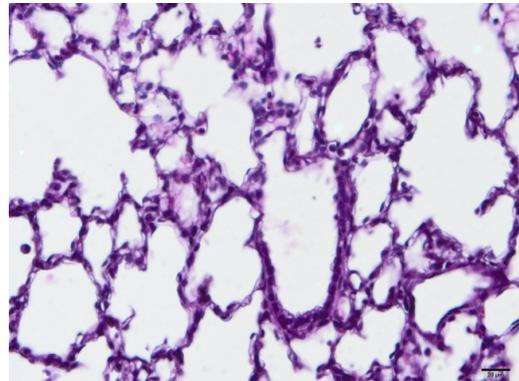
**B.2**



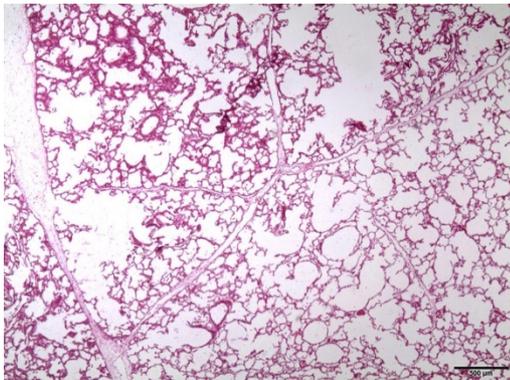
B.3



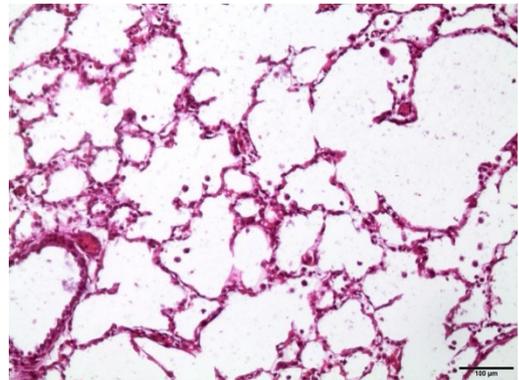
B.4



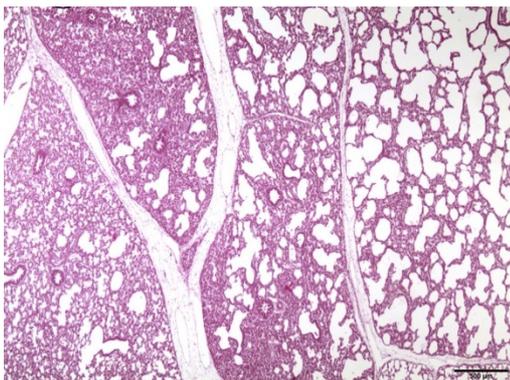
C.1



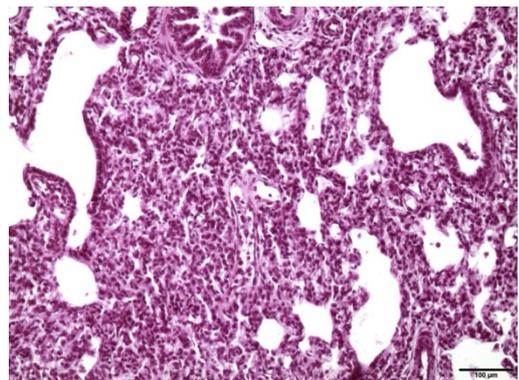
C.2



C.3



C.4



Cada pareja de imágenes corresponde a la misma muestra visualizada a diferentes aumentos.

**A:** Grupo VAFO 10 Hz. A.1-2: Extensas áreas de consolidación del parénquima con presencia de células inflamatorias mononucleares y áreas de hemorragia (flechas). A.3-4: Engrosamiento de las paredes alveolares con algunas células en la luz (flecha).

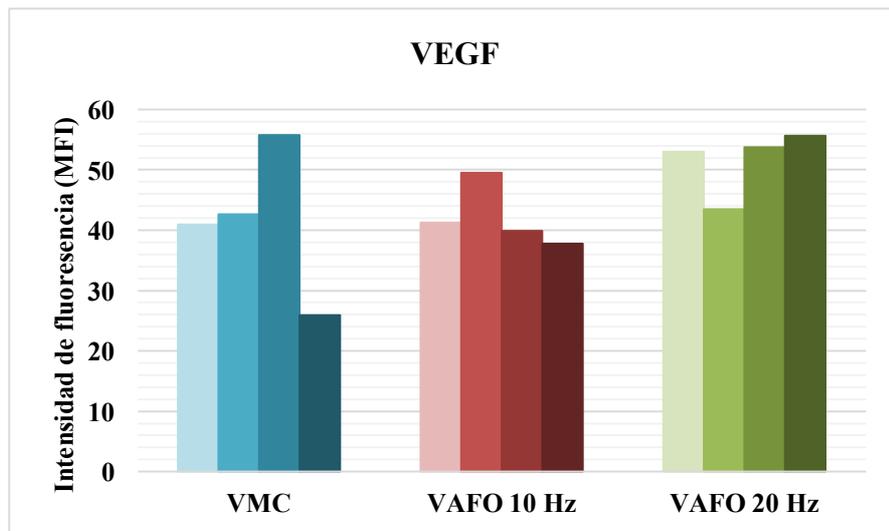
**B:** Grupo VAFO 20 Hz. B.1-2: Atelectasia de severidad media. B.3-4: Sin lesiones observables.

**C:** Grupo VMC. C.1-2: Enfisema moderado, con ruptura de las paredes alveolares y aumento del tamaño de la luz. C.3-4: Engrosamiento de las paredes alveolares y atelectasia moderada.

*Estudio inmunohistoquímico. VEGF.*

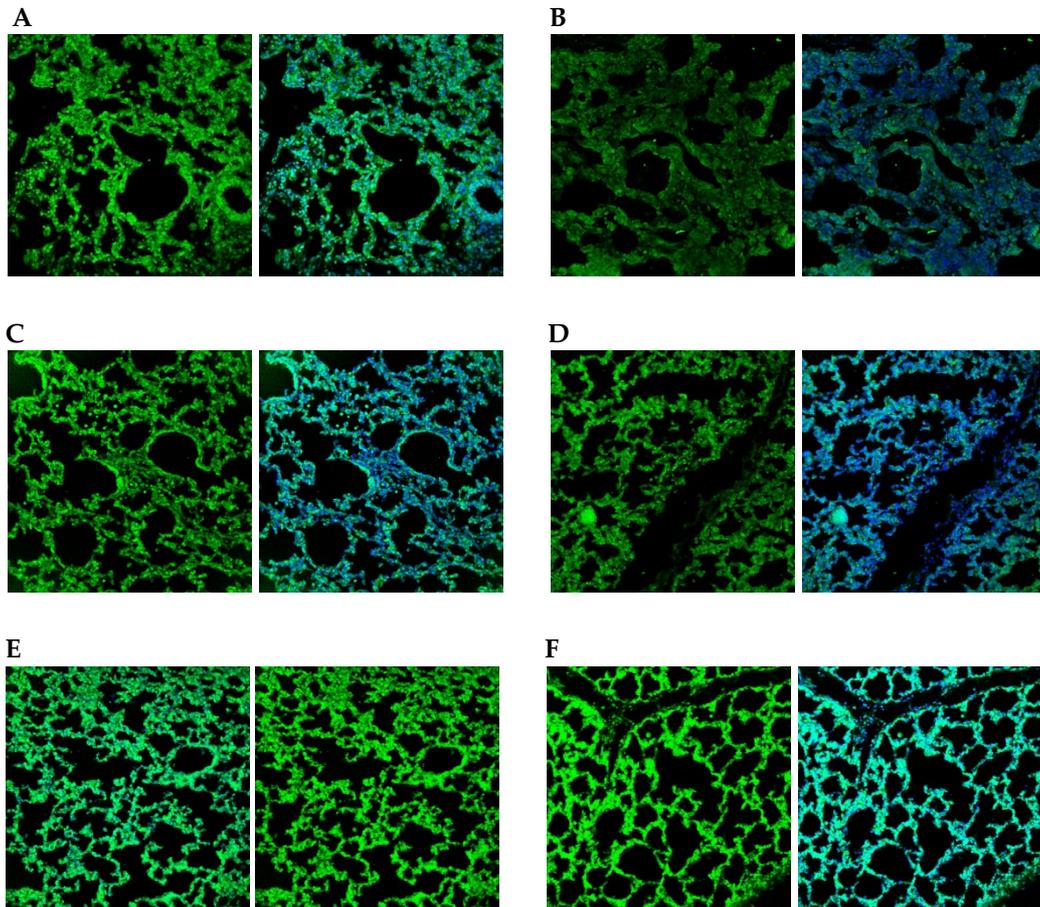
No se observaron diferencias significativas en la cuantificación de VEGF, detectado mediante inmunofluorescencia indirecta, entre grupos con diferentes estrategias de ventilación ( $p=0,209$ ) (Tabla 9, Fig. 20).

**Tabla 9.** Cuantificación de la expresión de VEGF mediante inmunofluorescencia indirecta.



*MFI*: Intensidad media de fluorescencia cuantificada en cada uno de los animales de los diferentes grupos de ventilación: VMC, VAFO 10 Hz y VAFO 20 Hz.

*Figura 20. Imágenes de la expresión de VEGF mediante inmunofluorescencia indirecta.*



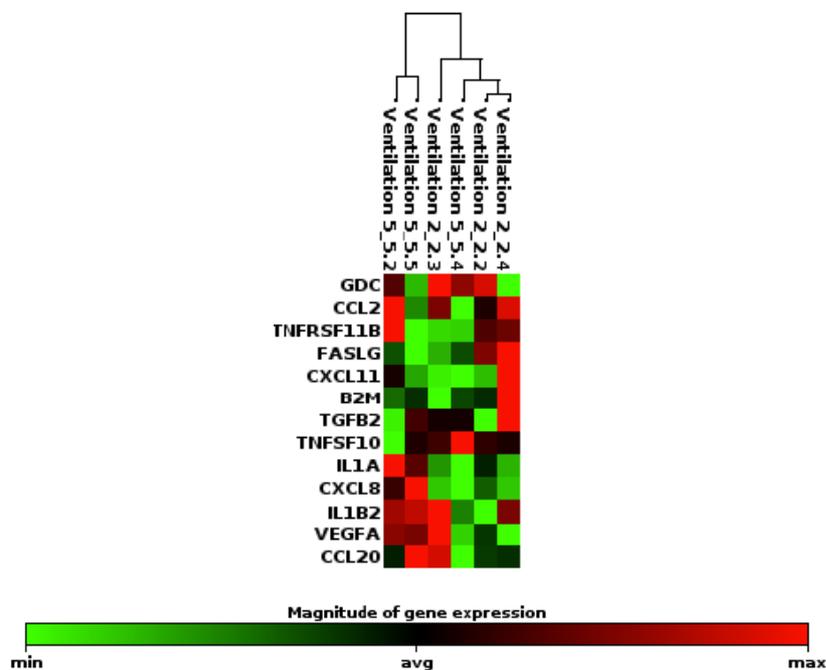
Cada pareja de imágenes corresponde a un animal diferente; la de la izquierda VEGF, la de la derecha MERGE (superposición de las fotografías DAPI –azul- y VEGF –verde-). A mayor intensidad de inmunofluorescencia, mayor detección de VEGF.

**A, B:** Grupo VMC. **C, D:** Grupo VAFO 10 Hz. **E, F:** Grupo VAFO 20 Hz.

*Expresión de genes de citoquinas inflamatorias y receptores en los grupos de VAFO.*

A pesar de las diferencias encontradas en la expresión de 11 genes de inflamación en el estudio preliminar en el que fueron comparados ambos grupos de VAFO en conjunto, el análisis individualizado de cada uno de los animales no mostró diferencias significativas en ninguno de los genes estudiados (Fig. 21).

**Figura 21.** ClusterGram de la expresión génica en los grupos de VAFO de 10 y 20 Hz.

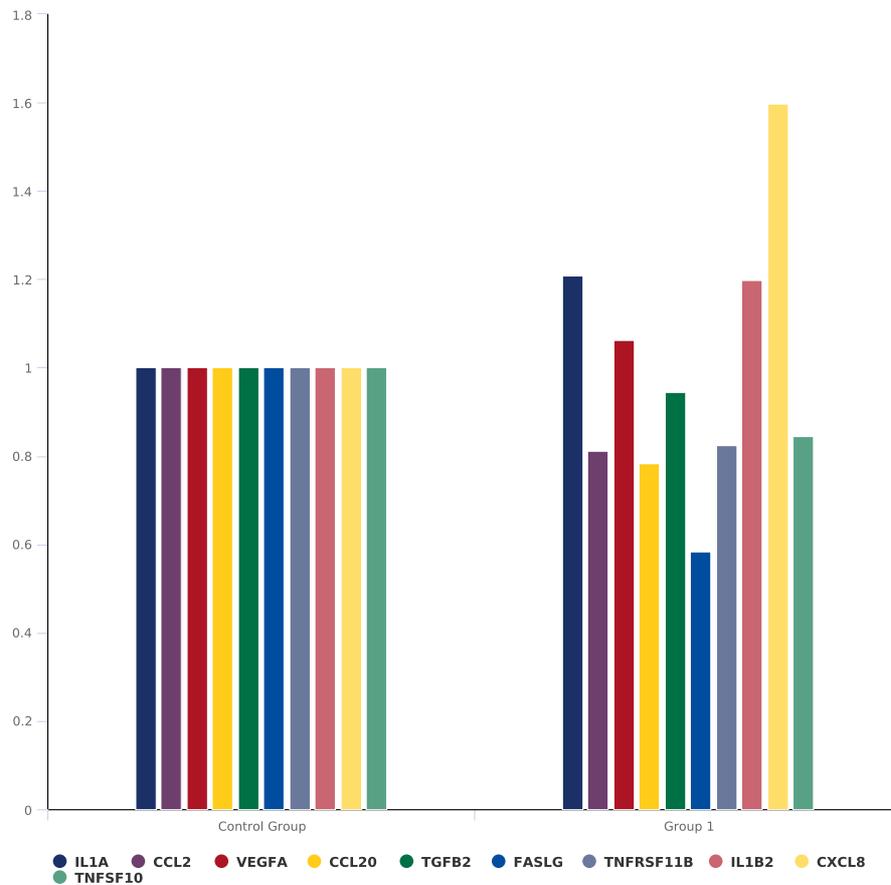


La magnitud de la expresión de cada uno de los genes en cada animal se identifica con una escala de colores, representando el color verde la mínima expresión y el rojo la expresión máxima. Los animales identificados con un "2" inicial corresponden al grupo de 10 Hz, mientras que los identificados con un "5" corresponden al grupo de 20 Hz, observando diferencias importantes entre los animales de cada grupo.

Por último, al comparar el grupo de VAFO de 20 Hz con el grupo de 10 Hz, se objetivó que de los 11 genes, tres de ellos estaban sobre-expresados (Il-1 $\alpha$ , Il-1 $\beta$  e Il-8), VEGF-A y TGF- $\beta$ 2 presentaban la misma expresión, y el resto de genes estaban reprimidos (CCL2, CCL20, Fas ligando, TNFRSF-11B, CXCL11, TNFSF-10) en el grupo de 20 Hz con respecto al de 10 Hz. Sin embargo, en ninguno de los casos esta sobre-expresión o represión superó el doble, criterio para alcanzar la significación estadística y la relevancia clínica (Fig. 22).

Aunque la diferencia no fuese significativa, señalar que la expresión de todos los genes de la familia del TNF, también relacionados con apoptosis, estuvo reprimida en el grupo de 20 Hz y VThf muy bajos, en comparación con el grupo de 10 Hz y VThf superiores.

**Figura 22.** Diferencia en la expresión génica de citoquinas y receptores de inflamación entre los grupos de VAFO de 10 y 20 Hz.



Este gráfico de columnas pretende comparar la expresión de cada uno de los genes de inflamación en el grupo de 20 Hz, utilizando el de 10 Hz como control. De este modo, los valores superiores a 1 corresponden a genes sobre-expresados en el grupo de 20 Hz comparado con el de 10 Hz, mientras que los valores inferiores a 1 corresponden a genes reprimidos en el grupo de mayor frecuencia comparado con el control.



## RESPIRADOR

El respirador empleado en todos los estudios fue el *Babylog VN500®* (Dräger, Lübeck, Alemania) en modalidad VAFO con VG; se trata de un oscilador que genera una onda de presión sinusoidal sobre una presión de distensión continua, siendo activas tanto la inspiración como la espiración. Para garantizar el volumen fijado en la modalidad de VG en VAFO, emplea un anemómetro electrónico de hilo caliente conectado a un microprocesador, que compara el VThf espirado en la respiración previa con un sistema de compensación de fugas y ajusta  $\Delta P_{hf}$  para conseguir el volumen establecido (64). Este sistema ha demostrado una alta precisión en la medición de volúmenes pequeños, como los empleados en VAFO (65,66). Del mismo modo, también se conoce que el uso de anemómetros de hilo caliente, como sistema de monitorización del VThf, es más preciso que el uso de un neumotacógrafo, existiendo una mayor linealidad en la respuesta a lo largo de un rango de frecuencias crecientes (57,67).



## DISCUSIÓN





## FACTIBILIDAD DE VENTILACIÓN CON FRECUENCIAS ELEVADAS Y VOLÚMENES TIDALES BAJOS. VOLUMEN GARANTIZADO EN VAFO.

---

Con el estudio piloto de factibilidad comprobamos que es posible emplear en la práctica clínica esta nueva estrategia de VAFO basada en el uso de frecuencias muy elevadas para disminuir al máximo el VThf, garantizando una ventilación adecuada y sin la aparición de complicaciones.

En los respiradores clásicos de VAFO que no permiten mantener un VThf fijo, el aumento en la frecuencia produce una disminución impredecible del VThf (56–58). Debido a la posibilidad de controlar directamente el VThf y mantenerlo constante con la incorporación de la modalidad de volumen garantizado en VAFO, fue posible aumentar la frecuencia y disminuir proporcionalmente el VThf para mantener una DCO<sub>2</sub> estable, intentando minimizar el potencial daño pulmonar relacionado con la ventilación mecánica secundario al volutrauma.

Los estudios iniciales de VAFO de principios de los años 80, llevados a cabo en modelos animales, emplearon frecuencias muy elevadas de hasta 40 Hz (10,55). Rieke et al. demostraron que, a VThf constante, el aumento en la frecuencia resultaba en un aumento casi lineal del aclaramiento de CO<sub>2</sub> hasta una frecuencia crítica, a partir de la cual el lavado de CO<sub>2</sub> tendía de nuevo a disminuir (11). Estos resultados parecían indicar que existía una “frecuencia óptima”, entre 15 y 30 Hz, y que el descenso en el aclaramiento de CO<sub>2</sub> a partir de un punto era debido a la incapacidad del respirador para mantener ese VThf fijo a partir de una determinada frecuencia. Conviene señalar que, a pesar de estas indicaciones originales sobre la “frecuencia óptima”, la frecuencia utilizada posteriormente en los ensayos clínicos y en la práctica clínica habitual en neonatos, se ha establecido entre 10 y 15 Hz (51).

Con el objetivo de disminuir el VThf como estrategia de protección pulmonar en VAFO y minimizar el daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica, Fessler et al. llevaron a cabo un estudio prospectivo en adultos con síndrome de dificultad respiratoria aguda

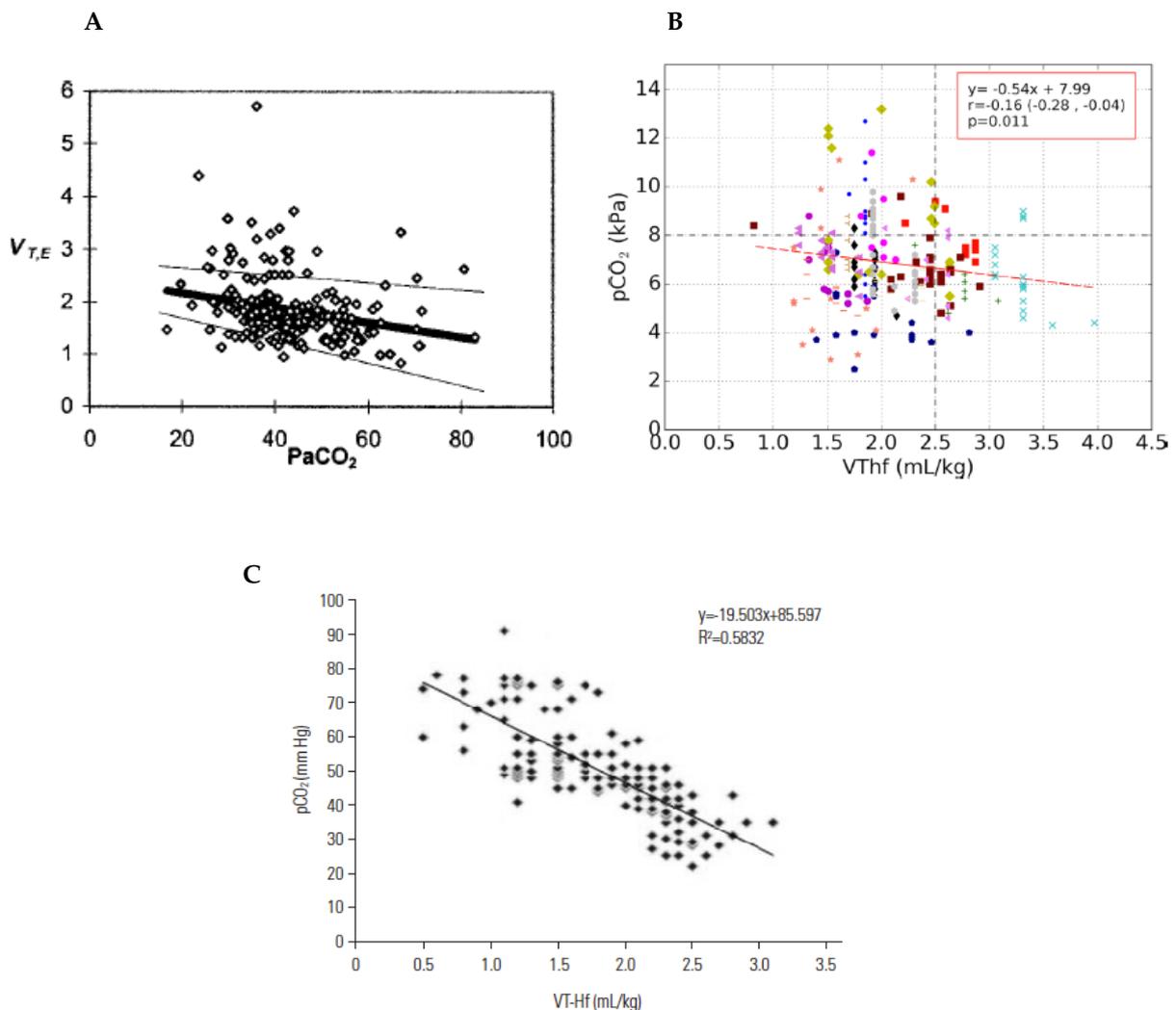
(SDRA) refractario a VMC. Para conseguir disminuir el VThf al máximo, emplearon frecuencias superiores a las recomendadas en este grupo de edad (>5-6 Hz) y  $\Delta$ Phf elevados (hasta 90 mbar), para contrarrestar el descenso del VThf y mantener una ventilación adecuada (pH objetivo 7,25-7,35). Concluyeron que esta estrategia de protección pulmonar permitía mantener una ventilación aceptable, reduciendo al máximo el VThf y con ello, los cambios en el volumen pulmonar y el potencial daño secundario a sobredistensión (volutrauma) en adultos con SDRA severo, que generalmente requieren PMA elevadas en VAFO (68).

A pesar de conseguir alcanzar el pH objetivo (pH  $7,31 \pm 0,06$ , rango 7,23–7,48), las PaCO<sub>2</sub> obtenidas en el estudio fueron variables y en muchas ocasiones, fuera del rango de la normalidad (PaCO<sub>2</sub>  $58 \pm 21$  mm Hg, rango 34-124). Entre las diferencias observadas con respecto a nuestro estudio, encontramos no sólo la edad y la patología de la población, sino también el uso de un respirador de alta frecuencia oscilatoria que no permite medir el VThf ni mantener un VThf constante, el *SensorMedics 3100B@* (Carefusion, San Diego, CA). Con el empleo del VG en VAFO, nuestros pacientes se mantuvieron bien ventilados en todo momento a pesar del aumento de la frecuencia por encima de los valores utilizados en la práctica clínica habitual y el descenso del VThf. Es más, a pesar de mantener una DCO<sub>2</sub> similar, observamos una tendencia hacia la hiperventilación en la mayoría de los pacientes después de aumentar la frecuencia en relación con la situación inicial, precisando una DCO<sub>2</sub> inferior para mantener una ventilación adecuada. Y en esta observación nos basamos para diseñar el siguiente estudio, de correlación entre la DCO<sub>2</sub> y la PaCO<sub>2</sub> a frecuencias crecientes, con la hipótesis de que podría existir una mayor eficacia en el aclaramiento de CO<sub>2</sub> a frecuencias muy elevadas (>15 Hz), siendo posible que la ecuación de la DCO<sub>2</sub> no presentase una correlación lineal a dichas frecuencias con la PaCO<sub>2</sub>.

En nuestro estudio no observamos una relación estadísticamente significativa entre la PCO<sub>2</sub> y la frecuencia o el VThf (*Fig. 10*), en contra de los resultados de otros autores. Zimová-Herknerová et al. objetivaron una correlación negativa entre el VThf espirado y la PaCO<sub>2</sub>, no así con la frecuencia o el  $\Delta$ Phf (65). Belteki et al. también describieron una relación inversa, estadísticamente significativa, entre el VThf corregido por peso y la PCO<sub>2</sub>, aunque

muy débil ( $r = -0,16$ ) (69). Por último, Lee et al. objetivaron una correlación negativa entre ambas variables estadísticamente significativa y de mayor relevancia ( $R^2 = 0,5832$ ) (70). La principal diferencia con nuestro estudio es que todos estos autores utilizaron un rango de frecuencias más estrecho, con una diferencia de entre 3-5 Hz. Este rango inferior de frecuencias entre distintas mediciones minimiza el efecto de la frecuencia en la ecuación de la  $DCO_2$ , acercando el valor de ambos parámetros,  $V_{T,Hf}$  y  $DCO_2$ , como marcadores de la ventilación.

Figura 23. Correlación entre el  $V_{T,Hf}$  espirado y la  $PCO_2$ .



A. Correlación inversa entre el  $V_{T,Hf}$  espirado y la  $PaCO_2$  ( $R^2 = 0,06$ ,  $p < 0,001$ ) (65). B. Correlación inversa entre el  $V_{T,Hf}$  espirado y la  $PCO_2$  ( $r = -0,16$ ,  $p = 0,011$ ). Las mediciones de diferentes pacientes están representados con diferentes marcadores y colores. Para algunos pacientes, el mismo  $V_{T,Hf}$  se asoció a diferentes  $PCO_2$  en gasometrías sucesivas (69). C. Correlación negativa entre el  $V_{T,Hf}$  espirado y la  $PCO_2$  ( $R^2 = 0,5832$ , no refieren el valor de  $p$ ) (70).

Ha sido descrito, y comprobado por nuestro grupo en el modelo experimental, como a  $V_{Thf}$  fijo, el aumento de la frecuencia precisa un aumento de  $\Delta Phf$  en el respirador para alcanzar dicho  $V_{Thf}$  (55,60). En nuestro estudio, a pesar de utilizar frecuencias muy elevadas y superiores a las habituales en la práctica clínica, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre el  $\Delta Phf$  inicial y final, debido a que el descenso en el  $V_{Thf}$  contrarrestó el aumento en la frecuencia; y lo que es más importante desde el punto de vista clínico, en el grupo de recién nacidos de menor peso (<1.000 g), no sólo no observamos un aumento en  $\Delta Phf$ , sino que incluso observamos un ligero descenso al alcanzar la máxima frecuencia, probablemente debido al descenso significativo en el  $V_{Thf}$  desde 2,06 ml/kg hasta 1,46 ml/kg (p 0,000), alcanzando el mínimo  $V_{Thf}$  comparado con los otros grupos de recién nacidos de mayor peso.

Por otro lado, señalar la importancia del uso del *volumen garantizado* sobre el control de la ventilación en VAFO, una vez alcanzada la estabilización inicial. La incorporación del VG en VAFO ha permitido mejorar el control del médico sobre la  $DCO_2$  y la  $PCO_2$ , pudiendo valorar la tendencia de la misma con el objetivo de detectar de manera precoz variaciones en la ventilación secundarias a cambios en la mecánica pulmonar, obstrucción mecánica del tubo endotraqueal por malposición o secreciones, etc. y permitiendo un ajuste más fino de la misma.

Existe en la literatura científica una amplia documentación sobre la asociación entre hipocapnia y leucomalacia periventricular, fundamentalmente en los recién nacidos prematuros más inmaduros durante las primeras 72 horas de vida, tanto en VMC (71–73), como en VAFO (15) y ventilación de alta frecuencia tipo Jet (74). La disminución del flujo sanguíneo cerebral que se produce como consecuencia del efecto vasoconstrictor de la hipocapnia en el cerebro del recién nacido prematuro, entre otros factores concomitantes, es responsable de la isquemia que favorece la aparición de LPV (75).

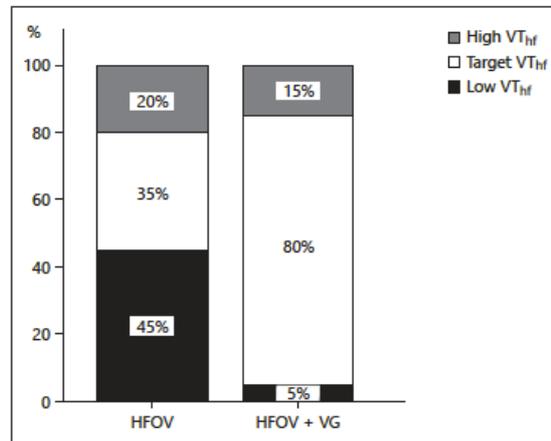
El volumen garantizado fue inicialmente empleado en neonatos en VMC, tras describirse el efecto determinante del volutrauma en el daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica (por encima de la presión), y con el objetivo de disminuir el riesgo de lesión

neurológica secundaria a hipocapnia. La incorporación del VG en VMC demostró mejorar el ajuste y estabilidad del volumen tidal entregado, siendo capaz de disminuir la incidencia de DBP, HIV severa y LPV, entre otros (76–79).

A pesar de las conocidas ventajas del VG en VMC, la incorporación de esta modalidad a la VAFO no se ha llevado a cabo hasta esta última década. Tras la publicación en 2013 del primer trabajo de VG en VAFO, en el que nuestro grupo demostró, en un modelo animal, la capacidad de esta modalidad para mantener un VThf fijo a pesar de los cambios en la dinámica respiratoria y, con ello, una PaCO<sub>2</sub> mucho más estable (59), se han publicado otros trabajos con este tipo de asistencia respiratoria.

Iskan et al. llevaron a cabo un ensayo clínico prospectivo, randomizado y cruzado en una unidad de cuidados intensivos neonatales (UCIN) de Turquía, en el que incluyeron 20 recién nacidos prematuros (EG media: 28 ± 2,4 semanas y PRN: 1.080 ± 390 g) con SDR severo, que requirieron intubación y ventilación mecánica en las primeras 6 horas de vida. Tras 1 hora de estabilización en VMC, se inició la asistencia en VAFO con (VAFO+VG) o sin VG (VAFO), según el grupo de aleatorización, manteniendo la modalidad asignada durante 2 horas; posteriormente, tras 15 minutos de VMC, cada paciente recibió la otra modalidad de ventilación durante un segundo período de 2 horas, concluyendo el estudio. Programaron una frecuencia de 10 Hz en ambos grupos de VAFO, un VThf garantizado inicial de 2 ml/kg en el grupo de VAFO+VG y el  $\Delta$ Phf necesario para conseguir un VThf 2 ml/kg y una oscilación torácica adecuada en el grupo de VAFO. Al comparar ambos grupos, observaron una menor proporción, estadísticamente significativa, de valores de PCO<sub>2</sub> fuera del rango de la normalidad (37,5-52,5 mm Hg) durante el período de VAFO+VG (p=0,014), así como una mayor estabilidad en el VThf (*Fig. 24*), a pesar de los cambios en la mecánica respiratoria del prematuro con SDR en las primeras horas de vida (80). Al igual que en nuestro modelo animal (59), emplearon una frecuencia de 10 Hz, comprobando en la práctica clínica como el uso del VG en VAFO permite mantener una ventilación más estable.

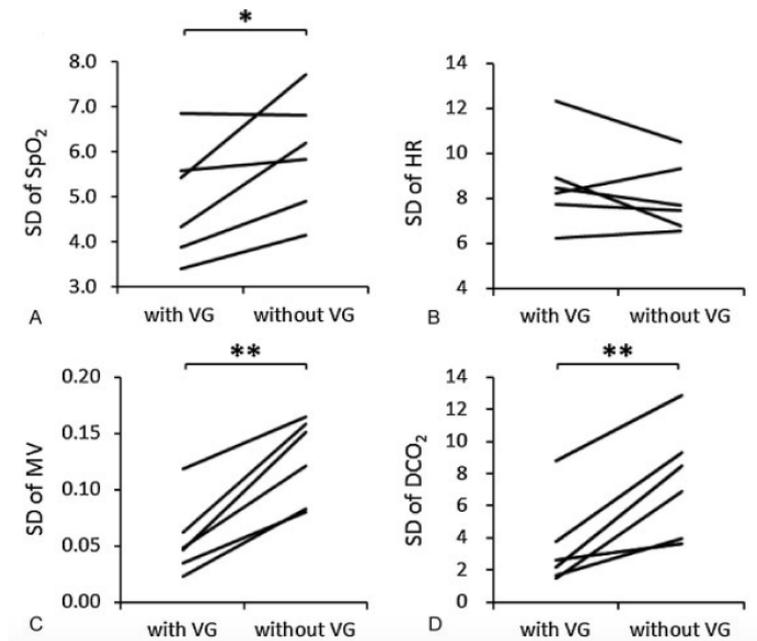
**Figura 24.** Porcentaje de mediciones de  $V_{Thf}$  en el rango definido como normal (Target  $V_{Thf}$  1,5-2,5 ml/kg), inferior (Low  $V_{Thf}$ ) y superior (High  $V_{Thf}$ ) al mismo durante cada período de estudio (80).



La proporción de valores de  $V_{Thf}$  en el rango objetivo fue significativamente mayor durante la asistencia con VAFO+VG (80% vs 35%;  $p=0,004$ ); el porcentaje de valores de  $V_{Thf} < 1,5$  ml/kg fue también significativamente inferior durante el período de VAFO+VG (15% vs 45%;  $p=0,03$ ); no encontrando diferencias significativas en el porcentaje de valores de  $V_{Thf}$  superiores a la normalidad.

Posteriormente, Enomoto et al. publicaron un estudio piloto sobre el efecto en los parámetros fisiológicos y respiratorios del VG en VAFO. Fueron incluidos seis recién nacidos prematuros de extremado bajo peso (<1.000 g), ventilados en VAFO tras los 28 días de vida, considerando que en ese momento existía un daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica establecido. La duración del estudio en cada paciente fue de 12 horas, las primeras 6 horas con VG, empleando en ambos períodos una frecuencia de 12 Hz. Al comparar ambos períodos (con y sin VG), observaron una fluctuación estadísticamente inferior de la  $SatO_2$  ( $p<0,05$ ), el volumen minuto y la  $DCO_2$  ( $p<0,01$ ) durante el período de VAFO con VG (Fig. 25); así como una menor proporción de tiempo con  $SatO_2 < 80\%$  durante el mismo ( $p<0,0001$ ). Aunque realizaron una monitorización transcutánea de la  $PCO_2$ , no pudieron analizar este parámetro por la frecuente necesidad de calibración del monitor durante el período de estudio (81). De nuevo, este ensayo clínico pone de manifiesto la mayor estabilidad en la  $DCO_2$  asociada al uso de VG en VAFO, en comparación con la ausencia de VG. En relación a la mayor estabilidad de la  $SatO_2$  y la menor tasa de desaturación < 80% observadas durante el período de VG, los autores sugieren que podría ser debido al mantenimiento de un volumen pulmonar óptimo debido a las modificaciones automáticas de  $\Delta Phf$  por parte del respirador, con los cambios en la dinámica respiratoria.

**Figura 25.** Fluctuaciones en la saturación transcutánea de O<sub>2</sub> (SpO<sub>2</sub>), frecuencia cardíaca (HR), volumen minuto (MV) y coeficiente de difusión de CO<sub>2</sub> (DCO<sub>2</sub>) durante cada período de estudio en VAFO, con (with VG) y sin volumen garantizado (without VG) (81).

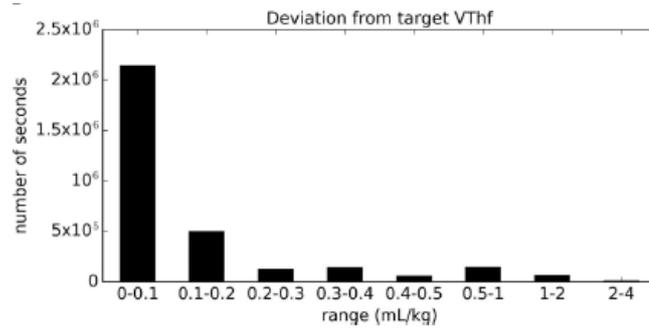


Desviación estándar (SD) de la saturación transcutánea de O<sub>2</sub> (A), frecuencia cardíaca (B), volumen minuto (C) y coeficiente de difusión de CO<sub>2</sub> (D) en VAFO con VG (with VG) y sin VG (without VG).

\* p<0,05, \*\* p<0,001.

Por último, Belteki et al. describieron su experiencia tras la incorporación del VG en VAFO en una UCIN de Cambridge, mediante el análisis retrospectivo del registro de los parámetros del respirador en recién nacidos ventilados en VAFO con VG durante al menos 12 horas seguidas. Emplearon la VAFO como terapia de rescate, según su protocolo habitual, y un rango de frecuencias de entre 7-12 Hz. Incluyeron en el análisis el registro de 17 recién nacidos, con unas características epidemiológicas (mediana de EG de 28 semanas, rango 24-40; y 1.100 g de peso, rango 515-3.476 g) y clínicas (patología pulmonar de base) heterogéneas. En correlación con los estudios previos, observaron un ajuste adecuado entre el VThf garantizado y el VThf entregado a largo plazo (mediana calculada cada 5 minutos), aunque con una amplia variabilidad en el registro por segundos (Fig. 26). Así mismo, observaron una amplia variabilidad en  $\Delta$ Phf, tanto a corto como a largo plazo, con el objetivo de ajustar al máximo el VThf al programado, y en probable respuesta a los cambios en el esfuerzo respiratorio espontáneo de cada paciente y la mecánica pulmonar (69).

Figura 26. Diferencia absoluta entre el VThf garantizado y el VThf entregado (69).



La diferencia entre el VThf garantizado y el VThf entregado fue <0,2 ml/kg en el 83% de los datos registrados y <0,5 ml/kg en el 93% de tiempo registrado.

Todos estos estudios han sido realizados con el respirador de alta frecuencia oscilatoria *Babylog VN500®* (Dräger, Lübeck, Alemania). Así mismo, todos los autores emplearon una frecuencia de entre 7 y 12 Hz, no encontrando en la literatura ningún artículo de otro grupo de investigación diferente al nuestro que haya empleado frecuencias superiores.

## EFICACIA DE VENTILACIÓN

En un modelo animal de distrés respiratorio demostramos que la relación entre la  $DCO_2$  y la  $PaCO_2$  no es lineal a lo largo de un rango de frecuencias crecientes tanto a complianza normal, como en situación de baja distensibilidad. En efecto, observamos una mayor eficacia en el aclaramiento de  $CO_2$  a frecuencias muy altas a pesar de mantener constante la  $DCO_2$ .

La relación entre el aclaramiento de  $CO_2$  y el producto del  $V_{Thf}$  y la frecuencia ( $DCO_2$ ) ha sido analizada por múltiples autores desde los inicios de la VAFO. A pesar de las diferencias entre los distintos estudios, se acepta de manera universal que la eficacia de la ventilación en VAFO está relacionada con estos dos parámetros,  $V_{Thf}$  y frecuencia, expresado mediante la ecuación del coeficiente de difusión de  $CO_2$  de la siguiente manera:  $DCO_2 = V_{Thf}^a \times f^b$ , donde  $a$  y  $b$  deberían ser aproximadamente 2 y 1, respectivamente (49).

**Tabla 10.** Ratio  $a/b$  de los exponentes de la ecuación " $DCO_2 = V_{Thf}^a \times f^b$ " calculados en diferentes estudios animales (49).

Estudio	a/b
<i>Slutsky AS et al. (1981)</i>	1,7
<i>Berdine GG et al. (1984)</i>	1,9
<i>Jaeger MJ et al. (1984)</i>	2
<i>Watson JW et al. (1985)</i>	1,9
<i>Venegas JG et al. (1985)</i>	2,1
<i>Boynton BR. (1989)</i>	1,8
<i>Herrmann J. (2016)</i>	2,1

Sin embargo, también se ha sugerido en múltiples estudios que el valor absoluto de los exponentes de dicha ecuación, podría estar influenciado por otros factores como la forma y complejidad de la onda de flujo y presión oscilatoria, así como por la enfermedad pulmonar de base o el peso del paciente (50,82).

A diferencia de nuestros resultados, Zannin et al. no observaron ninguna correlación entre la frecuencia y el lavado de CO<sub>2</sub> en neonatos, utilizando frecuencias crecientes (5-15 Hz) a DCO<sub>2</sub> constante (83). Las diferencias en los resultados observados entre ambos estudios podrían deberse a diferencias metodológicas tanto en el método de medición de la ventilación (CO<sub>2</sub> transcutáneo vs PCO<sub>2</sub> en sangre arterial), como en el período de estabilización de la ventilación para cada cambio de frecuencia (10 vs 20 minutos), y, fundamentalmente, en el oscilador y los parámetros utilizados, incluyendo el rango de frecuencias estudiado. En el estudio de Zannin et al. se utilizó el respirador de alta frecuencia oscilatoria *SensorMedics 3100A®* (Carefusion, San Diego, CA), el cual entrega una onda de presión cuadrada, no mide el V<sub>Thf</sub> y no incorpora la modalidad de volumen garantizado, por lo que a pesar de modificar  $\Delta P_{hf}$  para disminuir el V<sub>Thf</sub> y mantener constante la DCO<sub>2</sub>, es probable que existiesen variaciones de la misma a lo largo del tiempo. Sin embargo, nuestro estudio fue llevado a cabo con el respirador *Babylog VN500®* (Dräger, Lübeck, Germany), que genera una onda de presión sinusoidal alrededor de una presión de distensión continua y permite trabajar con volumen garantizado en VAFO. Por otro lado, el *SensorMedics 3100A®* opera con un rango de frecuencias de 3-15 Hz, mientras que el *Babylog VN500®*, al trabajar con un máximo de frecuencia de 20 Hz (con relación I:E 1:1), nos permitió superar este límite, encontrando diferencias estadísticamente significativas entre la PaCO<sub>2</sub> obtenida con 10 Hz y las observadas con 18-20 Hz.

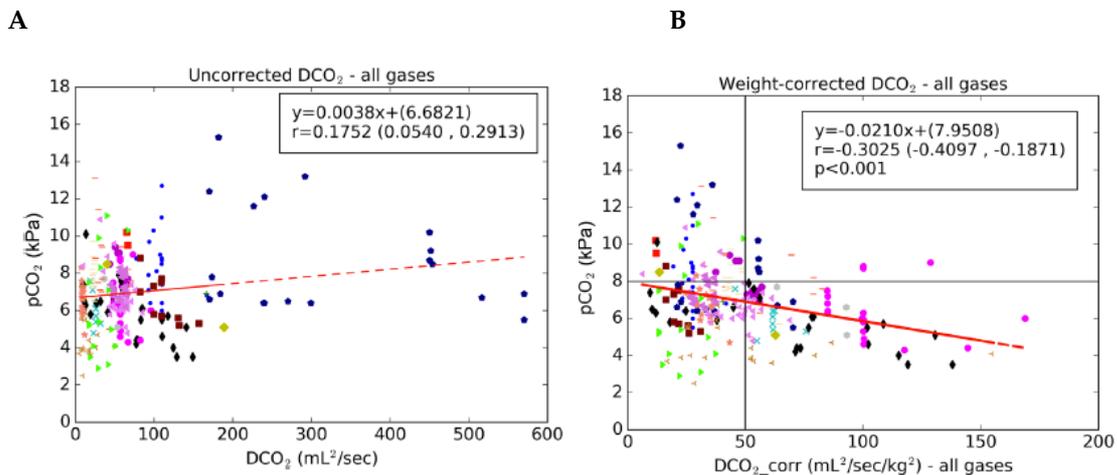
En los últimos años, varios autores han descrito las diferencias en la forma de la onda de flujo y presión oscilatoria, la frecuencia, la amplitud y el V<sub>Thf</sub> resultantes de los nuevos respiradores de alta frecuencia (incluidos estos 2 descritos anteriormente), utilizando parámetros equiparables en modelos pulmonares (84–86); sin embargo, no existen estudios clínicos sobre las implicaciones de sus hallazgos.

En concordancia con las observaciones de Schindler et al. (53), no encontramos diferencias significativas en los valores obtenidos de PaCO<sub>2</sub> a cada frecuencia antes y después del lavado bronco-alveolar, necesitando un V<sub>Thf</sub> similar para conseguir la PaCO<sub>2</sub> objetivo en ambas situaciones. Por lo tanto, las diferencias en la distensibilidad no influyeron en la correlación entre la DCO<sub>2</sub> y la PaCO<sub>2</sub> en nuestro estudio, no pudiendo afirmar que la

enfermedad pulmonar sea un factor modificador del efecto del VThf y la frecuencia en el lavado de CO<sub>2</sub>.

Belteki et al. observaron una correlación inversa débil entre la DCO<sub>2</sub> ajustada por el peso del paciente y la PaCO<sub>2</sub> en neonatos ventilados en VAFO con volumen garantizado (Fig. 27) (69,82). En la misma línea, Zannin et al. no observaron ninguna correlación entre la DCO<sub>2</sub>/peso<sup>2</sup> y la PCO<sub>2</sub> transcutánea basal de sus pacientes (83), describiéndose en ambos estudios una variabilidad en la correlación DCO<sub>2</sub>/pCO<sub>2</sub> tanto interindividual como en el mismo individuo, no explicada por el peso. De este modo, los mismos valores de DCO<sub>2</sub> en un mismo individuo, resultaron en diferencias notables en la medición de la PCO<sub>2</sub> en gasometrías extraídas en momentos diferentes. Teniendo en cuenta el descenso observado en la PaCO<sub>2</sub> a frecuencias crecientes, a pesar de mantener constante la DCO<sub>2</sub> en cada uno de los animales de nuestro estudio, nuestros resultados descartan el efecto del peso en el lavado de CO<sub>2</sub>.

**Figura 27.** Correlación entre el coeficiente de difusión de CO<sub>2</sub> absoluto (A) y ajustado por peso (B) y la PCO<sub>2</sub> (82).



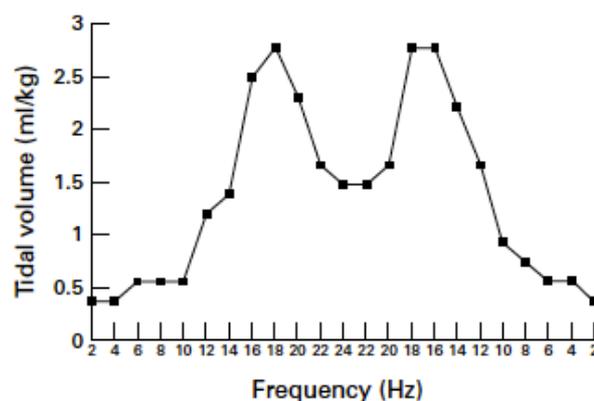
**A.** Ausencia de correlación entre el coeficiente de difusión de CO<sub>2</sub> absoluto (*uncorrected DCO<sub>2</sub>*) y la PCO<sub>2</sub>.

**B.** Correlación inversa, estadísticamente significativa aunque débil ( $r = -0,3025$ ,  $p < 0,001$ ), entre la DCO<sub>2</sub> corregida por peso (*weight-corrected DCO<sub>2</sub>* = mL<sup>2</sup>/seg/kg<sup>2</sup>) y la PCO<sub>2</sub> (65).

Las mediciones de diferentes pacientes están representados con diferentes marcadores y colores. "r" representa el coeficiente de correlación de Pearson con intervalos de confianza del 95%.

Recordemos que la impedancia del sistema respiratorio depende de la combinación de tres elementos mecánicos complejos dependientes de la frecuencia de oscilación; la elastancia, la resistencia y la inercia. Se denomina frecuencia de resonancia del sistema respiratorio a aquella frecuencia a la cual la magnitud de la impedancia es mínima como consecuencia de la anulación de los elementos elásticos y la inercia, precisándose a esta frecuencia una onda de presión mínima para generar un flujo (50,52). Se ha sugerido que la transferencia de energía es más eficiente y por lo tanto, el  $V_{Thf}$  entregado en VAFO es mayor a la frecuencia de resonancia (51,57,68). Varios autores han determinado que la frecuencia de resonancia en neonatos con SDR intubados se encuentra entre 12 y 23 Hz (51,52,83), siendo inferior en adultos (6-9 Hz) (68). Lee et al. midieron el  $V_{Thf}$  entregado en VAFO a  $V_{Thf}$  constante y en un rango de frecuencias creciente, observando un aumento constante en el  $V_{Thf}$  entregado hasta alcanzar el máximo a una frecuencia media de 18,6 Hz y disminuyendo de nuevo una vez sobrepasada esta frecuencia (Fig. 28). Hay que tener en cuenta que la frecuencia de resonancia presenta una relación inversa con la complianza, de modo que en el pulmón poco distensible del SDR del prematuro, esta disminución en la complianza aumentaría la frecuencia de resonancia (51).

**Figura 28.** Volumen tidal de alta frecuencia entregado (tidal volume) a volumen constante y en un rango de frecuencias (frequency) creciente y, posteriormente, decreciente (51).



Así, la mayor eficacia en el aclaramiento de  $CO_2$  observada en nuestro estudio con frecuencias superiores a 15 Hz, coincidente con el rango de la frecuencia de resonancia del

sistema respiratorio descrito por estos autores, podría deberse a la optimización del transporte de la onda de presión y del VThf entregado a dicha frecuencia, a pesar de mantener una DCO<sub>2</sub> constante.

En nuestro estudio fue necesario el aumento de  $\Delta Phf$  en el circuito para mantener el VThf garantizado a medida que la frecuencia se fue aumentando. Sin embargo, se conoce que la magnitud de la onda de presión transmitida a nivel alveolar disminuye con el aumento de la frecuencia, alcanzando el valor mínimo a la frecuencia de resonancia (50,52,83,87). Pillow et al. utilizaron la diferencia de presión alveolar por unidad de ventilación ( $\Delta Phf_{alveolar}/VThf^2 \times f$ ) como medida de barotrauma en un modelo pulmonar, observando un descenso de la misma con el aumento de la frecuencia, y alcanzando su valor mínimo a 15 Hz (máxima frecuencia empleada) (88). Estas diferencias fueron más marcadas en situación de baja complianza, en concordancia con las observaciones de Zannin et al., que objetivaron una mayor amortiguación de  $\Delta Phf$  a través de la vía aérea y, por lo tanto, una menor transmisión a los compartimentos distales del pulmón, al aumentar la frecuencia en neonatos intubados (83). En esta línea, Venegas et al. sugieren que la frecuencia óptima en VAFO para minimizar el barotrauma necesario para mantener una ventilación adecuada ("*pressure cost of ventilation*") se encuentra en un rango de frecuencias altas en situaciones en que la complianza está disminuida (como el SDR relacionado con la prematuridad) y de frecuencias inferiores en situaciones de resistencias aumentadas (87).

Estas observaciones se encuentran en consonancia con los resultados de nuestros estudios iniciales, en donde comprobamos cómo, a pesar del aumento de  $\Delta Phf$  en el circuito, se producía una disminución de la transmisión distal de la curva de amplitud; de modo que a frecuencias próximas a 15 Hz, la presión transmitida a los alveolos era prácticamente insignificante (60,61).

Previamente, ya se había sugerido que la elección de la frecuencia empleada en VAFO debería estar basada en el objetivo de alcanzar una ventilación adecuada con el mínimo VThf y la mínima transmisión distal de la onda de presión tanto a nivel proximal como distal, disminuyendo el daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica por el potencial volutrauma y barotrauma (17,83,88).

El conocimiento de la correlación entre el  $V_{T_{hf}}$ , la frecuencia, la  $DCO_2$  y la  $PCO_2$  es esencial para mejorar la eficacia de la ventilación en VAFO. Así, la optimización de la ventilación observada con el uso de frecuencias próximas a la frecuencia de resonancia, parece ser un buen argumento para el empleo de este rango de frecuencias en el SDR relacionado con la prematuridad. Por otro lado, el uso de frecuencias próximas a la frecuencia de resonancia, con el objetivo de disminuir al máximo el  $V_{T_{hf}}$  (*volutrauma*), también podría ofrecer cierta protección frente al *barotrauma*, especialmente durante los primeros días de vida de los recién nacidos prematuros más inmaduros, en los cuales el riesgo de daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica es incluso mayor.

## PROTECCIÓN PULMONAR

---

Utilizando un modelo animal de daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica, hemos demostrado una disminución en el grado de daño pulmonar histológico mediante una nueva estrategia de protección pulmonar en VAFO con VG, basada en el empleo de VThf muy bajos, comparado con los VThf clásicamente empleados en VAFO y con una estrategia de protección pulmonar en VMC.

## RECLUTAMIENTO PULMONAR ÓPTIMO

En contraposición a los resultados observados en los lechones ventilados en VAFO, el enfisema fue la principal lesión objetivada en el grupo de *ventilación mecánica convencional*; también se observó la presencia de un infiltrado inflamatorio y cierto grado de atelectasia, aunque con un grado de severidad leve.

Estudios experimentales previos que comparaban las dos modalidades de ventilación, VAFO con una frecuencia de 10 (89) y 15 Hz (90) frente a una estrategia de protección pulmonar en VMC (VT bajos -5-6 ml/kg- y PEEP elevadas -8-10 cm H<sub>2</sub>O-), demostraron que el uso de la VAFO se asocia a una atenuación de la inflamación (infiltrado polimorfonuclear y producción de TNF- $\alpha$  en el espacio alveolar), del daño histológico alveolar y de la vía aérea de conducción, y del daño oxidativo pulmonar. Al igual que en nuestro estudio, el daño histológico pulmonar fue cuantificado mediante la valoración de diferentes variables (inflamación, hemorragia, edema, atelectasia, fibrosis, necrosis), aunque no especifican la graduación individual de cada una de ellas.

En nuestro modelo, no encontramos diferencias estadísticamente significativas en términos de inflamación al comparar el grupo de **VMC** frente al grupo de **VAFO de 20 Hz**; sin embargo, y a diferencia de las observaciones realizadas en el grupo de VMC, no fue objetivada la presencia de enfisema en ninguno de los animales del grupo de VAFO de 20 Hz. Por otro lado, el grado de lesión histológica pulmonar global fue mayor en el grupo de

VMC, basado en nuestro score predefinido y teniendo en cuenta la suma de las puntuaciones de cada una de las variables analizadas en los animales de ambos grupos (20 vs 11 puntos).

Una estrategia de protección pulmonar clave en pacientes con SDR relacionado con la prematuridad que precisan ventilación mecánica, es conseguir un reclutamiento pulmonar óptimo y mantener un volumen pulmonar relativamente constante, evitando las zonas de sobredistensión y de colapso alveolar, y minimizando así el atelectotrauma y la sobredistensión regional (87,91). Por otro lado, teniendo en cuenta que en esta patología pulmonar, el efecto de los cambios en la PEEP (o PMA en VAFO) y la frecuencia parece estar magnificado con respecto a un pulmón sano, la selección de estos parámetros es crítica para disminuir el daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica (87).

Nosotros sugerimos, que la menor presión de insuflación transmitida a los alveolos, las mínimas variaciones en las presiones y volúmenes pulmonares, y, fundamentalmente, el mantenimiento de un volumen pulmonar relativamente constante y por encima de la CRF en VAFO en comparación con VMC, podría limitar el daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica, explicando las diferencias observadas entre estas dos modalidades de ventilación en nuestro modelo.

## DISMINUCIÓN DEL DAÑO PULMONAR SECUNDARIO A SOBREDISTENSIÓN

En nuestro modelo animal, las lesiones histológicas fueron más evidentes y severas en el grupo de VAFO de 10 Hz y mayor VThf, en comparación al de 20 Hz, en que el que se precisaron VThf más pequeños para mantener una ventilación adecuada (1,56 ml/kg vs 2,54 ml/kg;  $p = 0,004$ ). El infiltrado inflamatorio, la lesión principal del grupo de VAFO de 10 Hz, fue de predominio mononuclear, observándose la presencia de linfocitos, células plasmáticas y macrófagos, tanto a nivel de la pared como de la luz alveolar, y con amplias zonas de consolidación del parénquima pulmonar.

Meyer et al. compararon el daño histológico pulmonar resultante de dos estrategias diferentes de VAFO en conejos, utilizando diferentes frecuencias (5 y 15 Hz) sin volumen garantizado y modificando  $\Delta Phf$  para alcanzar la  $PaCO_2$  objetivo. Tras 4 horas de ventilación, observaron un recuento de neutrófilos a nivel alveolar significativamente inferior en el grupo de animales ventilados con 15 Hz y, por lo tanto, teóricamente menor VThf (aunque no miden el VThf). Destacan la ausencia de enfisema en ambos grupos, en correlación con nuestro estudio, en el que no objetivamos enfisema en ninguno de los grupos de VAFO, independientemente de la frecuencia y el VThf utilizados (92).

En un modelo animal de SDRA, con ovejas ventiladas en VAFO a diferentes frecuencias (3, 6 y 9 Hz), Liu et al. hallaron una reducción del daño pulmonar en términos de lesión histológica y expresión de mediadores inflamatorios en el grupo de mayor frecuencia, comparado con los otros 2 grupos de frecuencias inferiores. A diferencia del estudio anterior, estos autores programaron un  $\Delta Phf$  constante e igual en todos los grupos (70 cm  $H_2O$ ) en lugar de utilizar un rango de  $PCO_2$  para ajustar los parámetros, observando diferencias significativas entre grupos en los VThf entregados ( $4,8 \pm 0,4$  ml/Kg en el grupo de 3 Hz;  $2,7 \pm 0,1$  ml/kg en el de 6 Hz y  $1,8 \pm 0,1$  ml/kg en el de 9 Hz). Debido a las diferencias en la metodología entre nuestros estudios, los VThf alcanzados en el grupo de 9 Hz fueron equiparables a los de nuestro grupo de 20 Hz (1,8 vs 1,56 ml/kg), siendo por tanto comparables los resultados. Los estudios histológicos mostraron un menor grado de

hemorragia y de infiltrado de neutrófilos a nivel alveolar, y de neutrófilos y linfocitos en el intersticio pulmonar en los animales ventilados en VAFO con mayor frecuencia (9 Hz) y VThf inferiores, en concordancia con nuestras observaciones (93).

Existe cada vez más evidencia de que la *sobredistensión pulmonar* secundaria al uso de volúmenes tídales elevados, más que la propia presión transmitida a la vía aérea, es el factor determinante en la inducción del *daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica* y por lo tanto, en la patogénesis de la DBP (94–97); múltiples estudios en modelos animales han demostrado que el uso de volúmenes elevados, y no volúmenes bajos con altas presiones inspiratorias, altera la permeabilidad de la microvasculatura pulmonar y de la membrana alveolo-capilar, favoreciendo la aparición de edema intersticial y alveolar (98,99), y disminuyendo la respuesta a la administración posterior de surfactante (100). Los componentes elásticos de la caja torácica y el parénquima pulmonar parecen ser responsables del efecto protector que limita el daño pulmonar secundario al uso de presiones elevadas (101).

Por otro lado, conviene señalar la creciente importancia del *“biotrauma”* o daño biomecánico, secundario a la liberación de mediadores inflamatorios en respuesta al colapso-reclutamiento alveolar repetidos y a la *sobredistensión pulmonar regional* (94). Wakabayashi et al. sugieren que los monocitos intravasculares, localizados en las zonas marginales del pulmón, solo son activados como consecuencia de la *sobredistensión pulmonar*, y no en respuesta a la presencia de atelectasias, conduciendo a la liberación de citoquinas proinflamatorias en el pulmón, que agravan el daño pulmonar preexistente, y a la circulación sistémica, provocando además disfunción de otros órganos (102). Esta liberación de mediadores inflamatorios se produce tras un corto período de *sobredistensión pulmonar*, incluso inferior a 1 hora; destacando, entre otros, el papel del factor de necrosis tumoral alpha (TNF-  $\alpha$ ), mediador clave en la cascada inflamatoria de la sepsis (103) y de la Il-1 $\beta$  (104), la Il-8, y el TGF- $\beta$ 1 (105).

De este modo, el uso de estrategias encaminadas a reducir al máximo el volumen tidal y con ello el volutrauma, podría disminuir tanto el daño pulmonar como el sistémico.

En nuestro estudio, a pesar de encontrar diferencias significativas en el grado de inflamación entre ambos grupos de VAFO en la histología, no encontramos diferencias en la expresión de los 11 genes de inflamación estudiados con el array. Debido a las diferencias en la expresión génica entre animales del mismo grupo, la ausencia de diferencias significativas al comparar ambos grupos podría ser debida al escaso número de animales incluidos en el estudio.

Como adelantamos en la introducción, sospechamos que la ausencia de resultados concluyentes en los ensayos clínicos que han comparado los efectos a corto y a largo plazo de la VMC y la VAFO en el SDR del prematuro, podría ser debida al uso de frecuencias bajas y VThf elevados y en muchas ocasiones por encima del espacio muerto anatómico, al utilizar equipos que no medían el VThf (41,57). En ausencia de una monitorización del VThf con el empleo de estos respiradores, la elección de la frecuencia y, fundamentalmente el  $\Delta Phf$ , históricamente se ha realizado teniendo en cuenta observaciones subjetivas como el movimiento vibratorio del tórax del paciente, y mediciones intermitentes de la  $PCO_2$ , fundamentalmente en los recién nacidos de menor EG, cuya piel es demasiado frágil para realizar una monitorización transcutánea continua de la misma, aunque intentando minimizar las extracciones sanguíneas debido al elevado riesgo de anemia en estos pacientes.

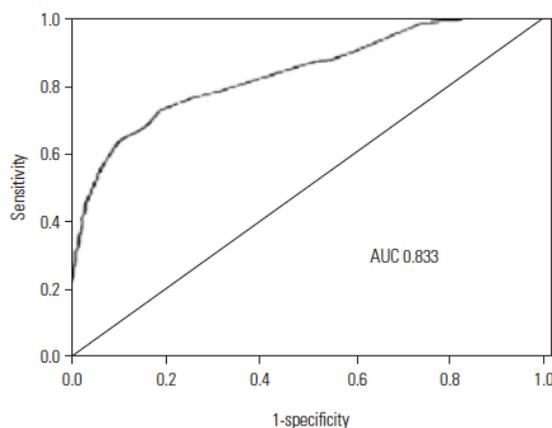
Varios autores han evaluado la magnitud del *espacio muerto* en neonatos mediante distintos métodos, existiendo una amplia variabilidad entre las mediciones de los diferentes estudios. En neonatos sanos en respiración espontánea, el *espacio muerto anatómico* ha sido estimado entre  $1,10 \pm 0,30$  y  $2,77 \pm 0,65$  ml/kg (106–109); mientras que en los estudios realizados en neonatos intubados, varía entre  $1,6 \pm 0,6$  y  $> 3$  ml/kg (110–112). El espacio muerto anatómico total es la suma del espacio muerto intratorácico y del extratorácico. El *espacio muerto intratorácico* es relativamente constante y no dependiente de la edad, situándose en torno a 1 ml/kg; puede aumentar como consecuencia de la dilatación de la vía aérea, fundamentalmente en recién nacidos prematuros cuya vía aérea es más flexible, y en función de las características y severidad de la enfermedad pulmonar (65). El *espacio muerto extratorácico*, sin embargo, presenta una correlación inversa con la edad, habiendo

sido determinado entre 2,12 y 2,52 ml/kg en neonatos en respiración espontánea. En pacientes intubados, Numa et al. sugieren que el espacio muerto extratorácico es inferior y dependiente de la longitud y el diámetro del tubo endotraqueal y el volumen de la conexión a la tubuladura y el sensor de flujo, y por lo tanto, el espacio muerto anatómico total < 3 ml/kg (110,111). Hay que recalcar que la mayoría de estos estudios están realizados en recién nacidos a término o en pretérmino, pero con varias semanas de edad postnatal. Neumann et al. definieron el espacio muerto anatómico en recién nacidos prematuros con SDR e intubados durante el primer día de vida en  $2,51 \pm 0,61$  ml/kg (112).

Diferentes autores han medido el VThf en VAFO, con el objetivo de determinar la magnitud del mismo, así como los valores más frecuentemente asociados a normocapnia para poder ser utilizados como referencia en la programación inicial del respirador y también su relación con otros parámetros respiratorios (Tabla 11). Dimitrou et al. evaluaron el VThf entregado, mediante el uso de un neumotacógrafo (Mercury F10L®), con dos respiradores de VAFO (*SensorMedics®* y *SLE 2000®*). Estos autores objetivaron un VThf entregado de 2,4 ml/kg (rango 1,3-3,5) en neonatos normoventilados, así como un 71% de mediciones de VThf superiores al 50% del espacio muerto anatómico teórico (> 2 ml/kg), siendo éste en ocasiones (16%) superior al 100% del mismo (> 3 ml/kg) (41). Posteriormente, Zimová-Herknerová M y Plavka R midieron el VThf espirado en neonatos ventilados con el respirador de alta frecuencia oscilatoria *SensorMedics 3100A®*, utilizando un anemómetro de hilo caliente (SLE 2100 VPM®). Programaron una frecuencia variable, encontrando una mediana de VThf en pacientes normoventilados de 1,67 ml/kg (rango 1,11-5,72). A diferencia de las observaciones de Dimitriou et al., en su estudio solo el 25% de las mediciones de VThf espirado fueron > 2 ml/kg, con una frecuencia 3 veces inferior de mediciones de VThf espirado > 3 ml/kg (5% vs 16%); de este modo, la mayor parte de las mediciones de VThf espirado fueron inferiores al espacio muerto anatómico teórico (65). Iscan et al. utilizaron el respirador *Babylog VN500®* para definir el VThf en pacientes con normocapnia, aunque en el análisis incluyeron los datos de sus dos períodos de estudio, con y sin VG. Definieron una mediana de VThf de 1,74 ml/kg en pacientes con PCO<sub>2</sub> en el rango de la normalidad (80). Lee et al. también utilizaron el *Babylog VN500®*, aunque sin volumen garantizado, objetivando un VThf medio en pacientes con normocapnia de 2,1

ml/kg y definiendo el límite inferior del VThf en 1,75 ml/kg para predecir un valor de PCO<sub>2</sub> en rango normal, con una sensibilidad del 73% y una especificidad del 80% (Fig. 29) (70).

**Figura 29.** Curva ROC para definir el valor mínimo de VThf que predice una situación de normocapnia (70).



Área bajo la curva (AUC) para predecir una situación de normocapnia: 0,833 (p=0,041).

**Tabla 11.** VThf necesario para conseguir una ventilación adecuada en VAFO.

Autor	Medición VThf	Frecuencia	VThf normocapnia	VThf hipocapnia	VThf hipercapnia
Dimitriou <sup>1</sup>	Neumotacógrafo	10 Hz	2,4* (1,3-3,5)	----	----
Zimová <sup>2</sup>	Anemómetro de hilo caliente	10-15 Hz	1,67* (1,11-5,72)	1,94** (1,74-2,14)	1,54** (1,42-1,66)
Iscan <sup>3</sup> (VG)	Anemómetro de hilo caliente	10 Hz	1,74** (1,64-1,85)	1,97** (1,76-2,17)	1,59** (1,37-1,82)
Lee <sup>4</sup>	Anemómetro de hilo caliente	9-12 Hz	2,1***	----	1,6***

VThf ajustado al peso (ml/kg) en pacientes con normocapnia, hipocapnia e hipercapnia, presentados como mediana y rango (\*), mediana e IC 95% (\*\*), o media (\*\*\*). Definición de normocapnia: <sup>1-2</sup> PCO<sub>2</sub> 35-50 mm Hg, <sup>3</sup> PCO<sub>2</sub> 37.5-52,5 mm Hg, <sup>4</sup> PCO<sub>2</sub> 45-55 mm Hg.

Las amplias diferencias detectadas entre las observaciones de estos autores podrían ser explicadas por distintos factores.

- ✓ Por un lado, el uso de diferentes respiradores de alta frecuencia oscilatoria y diferentes sistemas de medición. Como comentamos en el apartado anterior, existe evidencia de que los distintos respiradores de alta frecuencia disponibles en el mercado entregan VThf diferentes con parámetros equiparables (84–86); de modo que dichos parámetros no se pueden extrapolar para ser utilizados como referencia en la programación inicial de un respirador diferente. En relación a los sistemas de medición del VThf, hay que tener en cuenta que el neumotacógrafo mide el VThf entregado, mientras que el anemómetro de hilo caliente mide el VThf espirado. Para evitar posibles sesgos de medición, Zimová-Herknerová et al. refieren que sólo incluyeron en el análisis las mediciones de VThf espirado realizadas en ausencia de fuga. En concordancia con esta observación, el *Babylog VN500*® utiliza un anemómetro de hilo caliente con un sistema de compensación de fugas. A pesar de estas diferencias, ha sido demostrado que el anemómetro de hilo caliente es más preciso que el neumotacógrafo como sistema de monitorización de VT muy pequeños, como los empleados en VAFO, presentando una mayor linealidad en la respuesta a lo largo de un rango de frecuencias crecientes (57,67).
  
- ✓ Teniendo en cuenta que el aclaramiento de CO<sub>2</sub> depende del VThf y de la frecuencia (11,55), el empleo de diferentes frecuencias reduce la fiabilidad del uso del VThf como valor de referencia de normocapnia. De este modo, solo serían comparables y de referencia, los valores de VThf definidos por Dimitriou e Iscan, ya que en todas sus mediciones utilizaron la misma frecuencia (10 Hz). En los otros dos estudios, la frecuencia entre pacientes y mediciones fue variable (10-15 Hz vs 9-12 Hz), no especificando en el análisis la relación entre el VThf, la frecuencia y la PaCO<sub>2</sub>. De esta manera, cabe esperar, que el uso de frecuencias superiores facilitase la necesidad de VThf inferiores para alcanzar la normocapnia.

- ✓ Iscan et al. incorporan el VG a la VAFO, aunque analizan todas sus mediciones de manera conjunta, con y sin VG, para definir el VThf asociado a normocapnia. Al igual que ocurre con el resto de estudios, las variaciones impredecibles y no definidas del VThf en los minutos previos a la extracción de la gasometría, podrían influir en la medición de la PCO<sub>2</sub>.
- ✓ Asimismo, existen diferencias entre estudios en los rangos de normocapnia empleados y el origen de las muestras sanguíneas de las que obtienen las gasometrías.
- ✓ Por último, señalar las diferencias en las poblaciones, tanto en la patología de base, como en los días desde el nacimiento al inicio de la VAFO o el uso de VAFO como terapia inicial o de rescate. Todos estos factores influyen en la magnitud del VThf necesario para conseguir una ventilación adecuada, demostrado por el amplio rango de VThf definido por estos autores.

Independientemente de todas estas diferencias, es importante destacar los amplios rangos de VThf en situación de normocapnia definidos por Dimitriou y Zimová et al., con un límite superior de hasta 3,5 y 5,72 ml/kg, muy por encima del espacio muerto anatómico teórico. Otros autores también describen el uso de VThf elevados en VAFO. Chan et al., objetivan como dos de los 8 pacientes incluidos en su estudio, presentan VThf superiores al espacio muerto anatómico (57). Del mismo modo, Harcourt et al., describe el uso de VThf elevados en distintos respiradores de VAFO, fundamentalmente durante el uso de frecuencias bajas (84) y Belteki et al. señalan el uso de VThf superiores a 3 ml/kg en algunas de sus mediciones, con niveles normales de PaCO<sub>2</sub> (69), corroborando nuestras sospechas.

## ESTRATEGIA DE PROTECCIÓN PULMONAR EN RECIÉN NACIDOS PREMATUROS

El pulmón inmaduro del paciente prematuro presenta una susceptibilidad especial al daño pulmonar inducido por la ventilación mecánica, como consecuencia de su inmadurez anatómica y funcional y el déficit cuantitativo y cualitativo de surfactante pulmonar (100). En la fase canalículo-sacular del desarrollo pulmonar, la escasa superficie alveolo-capilar disminuye el volumen pulmonar (65), constituyendo la zona de unión entre los bronquiolos terminales y la zona acinar una zona clave para el daño pulmonar y la aparición de enfisema intersticial (83,113). En base a los fundamentos de la VAFO, el VThf debería ser inferior al espacio muerto anatómico teórico, no alcanzando el alveolo; de este modo, las variaciones en el VThf podrían tener un impacto sobre la vía aérea de conducción de pequeño tamaño (21), pudiendo ser beneficioso para estos pacientes cualquier descenso en el VThf.

De modo que, esta estrategia de protección pulmonar basada en el uso de frecuencias muy elevadas para reducir al máximo el VThf, estaría principalmente indicada en los recién nacidos más inmaduros, pudiendo minimizar el daño pulmonar inducido por la ventilación mecánica al disminuir el daño en la vía aérea.

## ESTRATEGIA DE PROTECCIÓN PULMONAR PRECOZ

El diseño de nuestro estudio, con una duración de la estrategia de ventilación de 12 horas, sólo nos permitió estudiar el daño pulmonar agudo. Sin embargo, existe bibliografía suficiente sobre la aparición precoz e inmediata tras el nacimiento de la inflamación pulmonar (114,115). Este fenómeno se produce como consecuencia de la combinación de factores prenatales y la exposición precoz a las distintas intervenciones que tienen lugar tras el nacimiento, entre las que se encuentra la ventilación mecánica, y juega un papel fundamental en el desarrollo a largo plazo de DBP (116).

Los ensayos clínicos llevados a cabo en los años 80 y 90 demostraron que el uso de la VAFO para minimizar el daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica, debía iniciarse antes de que el daño pulmonar estuviera establecido y fuese extenso (117,118).

Así, cualquier intervención precoz encaminada a reducir la inflamación pulmonar precoz en este período crítico, podría ser efectivo en la reducción del daño pulmonar agudo, y la evolución de DBP a largo plazo.

## FACTOR DE CRECIMIENTO DEL ENDOTELIO VASCULAR

El factor de crecimiento del endotelio vascular, también denominado VEGF-A, es un potente inductor del crecimiento celular endotelial y de la angiogénesis. Existe evidencia de que el desarrollo del lecho vascular pulmonar durante la fase sacular, clave en el proceso de alveolarización, está modulado, entre otros, por este factor de crecimiento secretado por las células epiteliales de la vía aérea distal (119). Además, parece tener un efecto protector sobre las células endoteliales en situaciones de hiperoxia o inflamación. Esta proteína realiza su función mediante la unión a dos receptores: VEGFR-1 (Flt-1) y VEGFR-2 (Flk-1). VEGFR-2 es responsable de la diferenciación y proliferación endotelial, mientras que la acción de VEGFR-1 parece estar relacionada con la organización de la ramificación vascular; asimismo y debido a su alta afinidad por VEGF, bloquea su acción al evitar su unión a VEGFR-2.

En estudios animales, la ventilación mecánica prolongada ha demostrado reducir la expresión de VEGF y VEGFR-2, inhibiendo la alveolarización y el desarrollo microvascular, fundamentales ambos en el desarrollo de la DBP. La reducción en la expresión de VEGFR-2 se objetivó a las 24 horas, no existiendo en ese momento diferencia en la expresión de VEGF en comparación con controles en respiración espontánea. De este modo, fue necesario mantener la estrategia de ventilación durante 14 y 21 días para observar un descenso en la expresión de VEGF (120–123). Por otro lado, Kroon et al. demostraron un aumento en la expresión de VEGFR-1 tras 8 horas de ventilación (124).

En nuestro estudio no encontramos diferencias significativas en la cuantificación de VEGF ni en el estudio inmunohistoquímico, al comparar las tres estrategias de ventilación, ni en la expresión génica (array de inflamación) comparando los dos grupos de VAFO. La menor duración de la estrategia de ventilación en comparación con otros estudios, podría explicar la ausencia de diferencias.

## LIMITACIONES

---

*A. Estudio piloto de factibilidad del uso de una nueva estrategia de protección pulmonar basada en el empleo de frecuencias muy elevadas y VThf muy bajos en VAFO para proteger el pulmón inmaduro.*

La principal limitación de este estudio fue el diseño del mismo, puesto que sólo es un estudio piloto de factibilidad de una hipotética estrategia de protección pulmonar. Por este motivo, sería necesario diseñar en el futuro un ensayo clínico para comprobar el efecto protector de esta estrategia de ventilación en la prevención o disminución de la incidencia de DBP moderada-severa en recién nacidos prematuros.

Por otra parte, en el estudio se utilizó el mismo paciente para comparar la situación inicial, con las frecuencias clásicamente empleadas en VAFO, como control de sí mismo con la máxima frecuencia posible; consideramos que sería necesario realizar un ensayo clínico con un verdadero grupo control, utilizando frecuencias bajas y altas en VAFO con VG, para analizar el efecto protector del uso de VThf muy bajos.

Por último, y en el caso de demostrar el efecto protector de esta estrategia de VAFO en recién nacidos prematuros, sería necesario desarrollar nuevos equipos más potentes, que permitan aumentar aún más la frecuencia, especialmente en los niños de mayor peso.

### *B. Correlación $DCO_2/PaCO_2$ en VAFO con volumen garantizado a frecuencias crecientes.*

A pesar de que el modelo animal empleado no representa con exactitud las características del pulmón inmaduro del recién nacido prematuro, se trata de un modelo estable y ampliamente utilizado en experimentación animal (53,125), que nos permitió estudiar, mediante el ajuste independiente de la frecuencia y el  $V_{Thf}$ , la relación  $DCO_2/PaCO_2$  de manera controlada y en dos situaciones respiratorias.

Para poder comprobar nuestra hipótesis de que la mayor eficacia en el aclaramiento de  $CO_2$  a frecuencias crecientes se debe al uso de frecuencias próximas a la frecuencia de resonancia, sería necesario diseñar en el futuro otro estudio experimental en el que, además de medir  $PCO_2$  en sangre arterial, pudiésemos medir volúmenes pulmonares.

*C. VAFO con frecuencias elevadas y VThf muy bajos como estrategia de protección pulmonar en el SDR de lechones recién nacidos.*

La principal limitación del estudio es que el modelo animal empleado no reproduce con exactitud el SDR relacionado con la prematuridad, en el que juega un papel fundamental la inmadurez pulmonar y no solo el déficit cuantitativo y cualitativo de surfactante pulmonar; pero, debido a la dificultad de mantener ventilados y estables durante tantas horas a lechones prematuros, empleamos este modelo de lechones nacidos a término en sus primeras horas de vida, adecuado para valorar el daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica.

El limitado número de animales incluido en el array de inflamación pudo ser la causa de que no encontrásemos diferencias en las citoquinas y receptores estudiados entre grupos. Existe evidencia en estudios animales, de que la exposición a ventilación mecánica estimula la apoptosis celular como mecanismo de daño pulmonar (95). Aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa, en nuestro estudio observamos una represión de la expresión de todos los genes de la familia del TNF (fas ligando, TNFSF-10, TNFRSF-11B), relacionados con apoptosis, en el grupo de 20 Hz en relación con el grupo control (10 Hz). En base al resto de resultados observados y a esta nueva hipótesis, hemos diseñado un nuevo estudio en animales en el que vamos a comparar las distintas estrategias de ventilación realizando un array de apoptosis y aumentando el número de animales a 6 por grupo.

La escasa duración de la estrategia de ventilación pudo ser responsable de la ausencia de diferencias entre grupos de ventilación en la expresión de VEGF. Puesto que se ha descrito que los cambios en sus receptores aparecen más precozmente, podría ser interesante su estudio en futuros modelos animales.



## CONCLUSIONES





1. La incorporación del volumen garantizado en VAFO permite un mejor control de la ventilación, a pesar de los cambios en la dinámica respiratoria, permitiendo un ajuste más fino del VThf.
2. Gracias al ajuste independiente de la frecuencia y el VThf en VAFO con volumen garantizado, es posible el uso de frecuencias muy elevadas, superiores a las empleadas en la práctica clínica habitual, con el objetivo de reducir al máximo el VThf, sin un aumento significativo de  $\Delta Phf$ , e incluso un ligero descenso en los recién nacidos de peso inferior a 1.000 g, manteniendo una ventilación adecuada, una estabilidad respiratoria y hemodinámica, y sin aparición de complicaciones.
3. La correlación entre el coeficiente de difusión de  $CO_2$  y la  $PCO_2$  a lo largo de un rango de frecuencias crecientes no es lineal, observándose una mayor eficacia de ventilación a frecuencias muy elevadas a pesar de mantener una  $DCO_2$  constante. De este modo, el uso de frecuencias cercanas a la frecuencia de resonancia del sistema respiratorio en VAFO con volumen garantizado, permite optimizar la eficacia del intercambio gaseoso.
4. El uso de frecuencias elevadas y superiores a las clásicamente utilizadas en VAFO, con el objetivo de disminuir al máximo el VThf cuando se emplea el volumen garantizado, junto a un reclutamiento pulmonar óptimo, reduce la respuesta inflamatoria y el daño histológico pulmonar. Por lo que, esta nueva estrategia de protección pulmonar podría minimizar el daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica en el periodo neonatal inmediato en los recién nacidos más inmaduros, mediante su instauración precoz.



## BIBLIOGRAFÍA





1. Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Walsh MC, Carlo WA, Shankaran S, et al. Trends in Care Practices, Morbidity, and Mortality of Extremely Preterm Neonates, 1993-2012. *JAMA*. 2015 Sep 8;314(10):1039–51.
2. Younge N, Goldstein RF, Bann CM, Hintz SR, Patel RM, Smith PB, et al. Survival and Neurodevelopmental Outcomes among Periviable Infants. *N Engl J Med*. 2017 16;376(7):617–28.
3. Coalson JJ. Pathology of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol*. 2006 Aug;30(4):179–84.
4. Gupta S, Sinha SK, Donn SM. Ventilatory management and bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2009 Dec;14(6):367–73.
5. Jobe AH, Ikegami M. Lung development and function in preterm infants in the surfactant treatment era. *Annu Rev Physiol*. 2000;62:825–46.
6. Slutsky AS. Lung injury caused by mechanical ventilation. *Chest*. 1999 Jul;116(1 Suppl):9S-15S.
7. Ambalavanan N, Carlo WA. Ventilatory strategies in the prevention and management of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol*. 2006 Aug;30(4):192–9.
8. Acute Respiratory Distress Syndrome Network, Brower RG, Matthay MA, Morris A, Schoenfeld D, Thompson BT, et al. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2000 04;342(18):1301–8.
9. Slutsky AS, Drazen FM, Ingram RH, Kamm RD, Shapiro AH, Fredberg JJ, et al. Effective pulmonary ventilation with small-volume oscillations at high frequency. *Science*. 1980 Aug 1;209(4456):609–71.
10. Slutsky AS, Kamm RD, Rossing TH, Loring SH, Lehr J, Shapiro AH, et al. Effects of frequency, tidal volume, and lung volume on CO<sub>2</sub> elimination in dogs by high frequency (2-30 Hz), low tidal volume ventilation. *J Clin Invest*. 1981 Dec;68(6):1475–84.
11. Rieke H, Hook C, Meyer M. Pulmonary gas exchange during high-frequency ventilation in dogs. *Respir Physiol*. 1983 Oct;54(1):1–17.
12. Gerstmann DR, Fouke JM, Winter DC, Taylor AF, deLemos RA. Proximal, tracheal, and alveolar pressures during high-frequency oscillatory ventilation in a normal rabbit model. *Pediatr Res*. 1990 Oct;28(4):367–73.
13. McCulloch PR, Forkert PG, Froese AB. Lung volume maintenance prevents lung injury during high frequency oscillatory ventilation in surfactant-deficient rabbits. *Am Rev Respir Dis*. 1988 May;137(5):1185–92.

14. Delemos RA, Coalson JJ, Gerstmann DR, Null DM, Ackerman NB, Escobedo MB, et al. Ventilatory management of infant baboons with hyaline membrane disease: the use of high frequency ventilation. *Pediatr Res.* 1987 Jun;21(6):594–602.
15. High-frequency oscillatory ventilation compared with conventional mechanical ventilation in the treatment of respiratory failure in preterm infants. The HIFI Study Group. *N Engl J Med.* 1989 Jan 12;320(2):88–93.
16. Cools F, Askie LM, Offringa M, Asselin JM, Calvert SA, Courtney SE, et al. Elective high-frequency oscillatory versus conventional ventilation in preterm infants: a systematic review and meta-analysis of individual patients' data. *Lancet Lond Engl.* 2010 Jun 12;375(9731):2082–91.
17. Froese AB, Kinsella JP. High-frequency oscillatory ventilation: lessons from the neonatal/pediatric experience. *Crit Care Med.* 2005 Mar;33(3 Suppl):S115-121.
18. Bryan AC, Froese AB. Reflections on the HIFI trial. *Pediatrics.* 1991 Apr;87(4):565–7.
19. High-frequency oscillatory ventilation compared with conventional mechanical ventilation in the treatment of respiratory failure in preterm infants: assessment of pulmonary function at 9 months of corrected age. HiFi Study Group. *J Pediatr.* 1990 Jun;116(6):933–41.
20. High-frequency oscillatory ventilation compared with conventional intermittent mechanical ventilation in the treatment of respiratory failure in preterm infants: neurodevelopmental status at 16 to 24 months of postterm age. The HIFI Study Group. *J Pediatr.* 1990 Dec;117(6):939–46.
21. Clark RH, Gerstmann DR, Null DM, deLemos RA. Prospective randomized comparison of high-frequency oscillatory and conventional ventilation in respiratory distress syndrome. *Pediatrics.* 1992 Jan;89(1):5–12.
22. Ogawa Y, Miyasaka K, Kawano T, Imura S, Inukai K, Okuyama K, et al. A multicenter randomized trial of high frequency oscillatory ventilation as compared with conventional mechanical ventilation in preterm infants with respiratory failure. *Early Hum Dev.* 1993 Feb;32(1):1–10.
23. Randomized study of high-frequency oscillatory ventilation in infants with severe respiratory distress syndrome. HiFO Study Group. *J Pediatr.* 1993 Apr;122(4):609–19.
24. Gerstmann DR, Minton SD, Stoddard RA, Meredith KS, Monaco F, Bertrand JM, et al. The Provo multicenter early high-frequency oscillatory ventilation trial: improved pulmonary and clinical outcome in respiratory distress syndrome. *Pediatrics.* 1996 Dec;98(6 Pt 1):1044–57.

25. Rettwitz-Volk W, Veldman A, Roth B, Vierzig A, Kachel W, Varnholt V, et al. A prospective, randomized, multicenter trial of high-frequency oscillatory ventilation compared with conventional ventilation in preterm infants with respiratory distress syndrome receiving surfactant. *J Pediatr*. 1998 Feb;132(2):249–54.
26. Thome U, Kössel H, Lipowsky G, Porz F, Fürste HO, Genzel-Boroviczeny O, et al. Randomized comparison of high-frequency ventilation with high-rate intermittent positive pressure ventilation in preterm infants with respiratory failure. *J Pediatr*. 1999 Jul;135(1):39–46.
27. Plavka R, Kopecký P, Sebron V, Svihovec P, Zlatohlávková B, Janus V. A prospective randomized comparison of conventional mechanical ventilation and very early high frequency oscillatory ventilation in extremely premature newborns with respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med*. 1999 Jan;25(1):68–75.
28. Gerstmann DR, Wood K, Miller A, Steffen M, Ogden B, Stoddard RA, et al. Childhood outcome after early high-frequency oscillatory ventilation for neonatal respiratory distress syndrome. *Pediatrics*. 2001 Sep;108(3):617–23.
29. Clark RH, Dykes FD, Bachman TE, Ashurst JT. Intraventricular hemorrhage and high-frequency ventilation: a meta-analysis of prospective clinical trials. *Pediatrics*. 1996 Dec;98(6 Pt 1):1058–61.
30. Bollen CW, Uiterwaal CSPM, van Vught AJ. Cumulative metaanalysis of high-frequency versus conventional ventilation in premature neonates. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Nov 15;168(10):1150–5.
31. Thome UH, Carlo WA, Pohlandt F. Ventilation strategies and outcome in randomised trials of high frequency ventilation. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2005 Nov;90(6):F466-473.
32. Bollen CW, Uiterwaal CSPM, van Vught AJ. Meta-regression analysis of high-frequency ventilation vs conventional ventilation in infant respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med*. 2007 Apr;33(4):680–8.
33. Cools F, Offringa M, Askie LM. Elective high frequency oscillatory ventilation versus conventional ventilation for acute pulmonary dysfunction in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Mar 19;(3):CD000104.
34. Cools F, Askie LM, Offringa M, tPrevention of Ventilator Induced Lung Injury Collaborative Study Group (PreVILIG Collaboration). Elective high-frequency oscillatory ventilation in preterm infants with respiratory distress syndrome: an individual patient data meta-analysis. *BMC Pediatr*. 2009 May 16;9:33.
35. Meredith KS, deLemos RA, Coalson JJ, King RJ, Gerstmann DR, Kumar R, et al. Role of lung injury in the pathogenesis of hyaline membrane disease in premature

- baboons. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 1989 May;66(5):2150–8.
36. Johnson AH, Peacock JL, Greenough A, Marlow N, Limb ES, Marston L, et al. High-frequency oscillatory ventilation for the prevention of chronic lung disease of prematurity. *N Engl J Med*. 2002 Aug 29;347(9):633–42.
37. Courtney SE, Durand DJ, Asselin JM, Hudak ML, Aschner JL, Shoemaker CT, et al. High-frequency oscillatory ventilation versus conventional mechanical ventilation for very-low-birth-weight infants. *N Engl J Med*. 2002 Aug 29;347(9):643–52.
38. Thomas MR, Rafferty GF, Limb ES, Peacock JL, Calvert SA, Marlow N, et al. Pulmonary function at follow-up of very preterm infants from the United Kingdom oscillation study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004 Apr 1;169(7):868–72.
39. Marlow N, Greenough A, Peacock JL, Marston L, Limb ES, Johnson AH, et al. Randomised trial of high frequency oscillatory ventilation or conventional ventilation in babies of gestational age 28 weeks or less: respiratory and neurological outcomes at 2 years. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2006 Sep;91(5):F320-326.
40. Zivanovic S, Peacock J, Alcazar-Paris M, Lo JW, Lunt A, Marlow N, et al. Late outcomes of a randomized trial of high-frequency oscillation in neonates. *N Engl J Med*. 2014 Mar 20;370(12):1121–30.
41. Dimitriou G, Greenough A, Kavvadia V, Laubscher B, Milner AD. Volume delivery during high frequency oscillation. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1998 Mar;78(2):F148-150.
42. Slutsky AS. Mechanisms affecting gas transport during high-frequency oscillation. *Crit Care Med*. 1984 Sep;12(9):713–7.
43. Slutsky AS, Drazen JM. Ventilation with small tidal volumes. *N Engl J Med*. 2002 Aug 29;347(9):630–1.
44. Chang HK. Mechanisms of gas transport during ventilation by high-frequency oscillation. *J Appl Physiol*. 1984 Mar;56(3):553–63.
45. Roth CJ, Förster KM, Hilgendorff A, Ertl-Wagner B, Wall WA, Flemmer AW. Gas exchange mechanisms in preterm infants on HFOV - a computational approach. *Sci Rep*. 2018 Aug 29;8(1):13008.
46. Weinmann GG, Mitzner W, Permutt S. Physiological dead space during high-frequency ventilation in dogs. *J Appl Physiol*. 1984 Sep;57(3):881–7.
47. Slutsky AS, Brown R. Cardiogenic oscillations: a potential mechanism enhancing oxygenation during apneic respiration. *Med Hypotheses*. 1982 Apr;8(4):393–400.

48. Venegas JG, Yamada Y, Custer J, Hales CA. Effects of respiratory variables on regional gas transport during high-frequency ventilation. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 1988 May;64(5):2108–18.
49. Herrmann J, Tawhai MH, Kaczka DW. Regional gas transport in the heterogeneous lung during oscillatory ventilation. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 2016 01;121(6):1306–18.
50. Pillow JJ. High-frequency oscillatory ventilation: mechanisms of gas exchange and lung mechanics. *Crit Care Med*. 2005 Mar;33(3 Suppl):S135-141.
51. Lee S, Alexander J, Blowes R, Ingram D, Milner AD. Determination of resonance frequency of the respiratory system in respiratory distress syndrome. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1999 May;80(3):F198-202.
52. Dorkin HL, Stark AR, Werthammer JW, Strieder DJ, Fredberg JJ, Frantz ID. Respiratory system impedance from 4 to 40 Hz in paralyzed intubated infants with respiratory disease. *J Clin Invest*. 1983 Sep;72(3):903–10.
53. Schindler M, Seear M. The effect of lung mechanics on gas transport during high-frequency oscillation. *Pediatr Pulmonol*. 1991;11(4):335–9.
54. Boynton BR, Hammond MD, Fredberg JJ, Buckley BG, Villanueva D, Frantz ID. Gas exchange in healthy rabbits during high-frequency oscillatory ventilation. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 1989 Mar;66(3):1343–51.
55. Watson JW, Jackson AC, Gillespie JR. CO<sub>2</sub> elimination and airway opening pressure during high frequency oscillation in dogs. *Respir Physiol*. 1984 Nov;58(2):235–44.
56. Sedeek KA, Takeuchi M, Suchodolski K, Kacmarek RM. Determinants of tidal volume during high-frequency oscillation. *Crit Care Med*. 2003 Jan;31(1):227–31.
57. Chan V, Greenough A, Milner AD. The effect of frequency and mean airway pressure on volume delivery during high-frequency oscillation. *Pediatr Pulmonol*. 1993 Mar;15(3):183–6.
58. Hatcher D, Watanabe H, Ashbury T, Vincent S, Fisher J, Froese A. Mechanical performance of clinically available, neonatal, high-frequency, oscillatory-type ventilators. *Crit Care Med*. 1998 Jun;26(6):1081–8.
59. Sánchez Luna M, Santos González M, Tendillo Cortijo F. High-frequency oscillatory ventilation combined with volume guarantee in a neonatal animal model of respiratory distress syndrome. *Crit Care Res Pract*. 2013;2013:593915. doi: 10.1155/2013/593915.

60. Mukerji A, Belik J, Sanchez-Luna M. Bringing back the old: time to reevaluate the high-frequency ventilation strategy. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc.* 2014 Jun;34(6):464–7.
61. Sánchez-Luna M, González-Pacheco N, Santos M, Blanco Á, Orden C, Belik J, et al. Effect of the I/E ratio on CO<sub>2</sub> removal during high-frequency oscillatory ventilation with volume guarantee in a neonatal animal model of RDS. *Eur J Pediatr.* 2016 Oct;175(10):1343–51.
62. González-Pacheco N, Sánchez-Luna M, Ramos-Navarro C, Navarro-Patiño N, de la Blanca AR-S. Using very high frequencies with very low lung volumes during high-frequency oscillatory ventilation to protect the immature lung. A pilot study. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc.* 2016 Apr;36(4):306–10.
63. González-Pacheco N, Sánchez-Luna M, Chimenti-Camacho P, Santos-González M, Palau-Concejo P, Tendillo-Cortijo F. Use of very low tidal volumes during high-frequency ventilation reduces ventilator lung injury. *J Perinatol.* 2019 May;39(5):730-6.
64. Sánchez Luna M. Draeger VN500. In: Donn SM, Sinha SK. *Manual of Neonatal Respiratory Care. Fourth Edition.* Nueva York, EEUU: Springer International Publishing; 2017. p. 381–9.
65. Zimová-Herknerová M, Plavka R. Expired tidal volumes measured by hot-wire anemometer during high-frequency oscillation in preterm infants. *Pediatr Pulmonol.* 2006 May;41(5):428–33.
66. Scalfaro P, Pillow JJ, Sly PD, Cotting J. Reliable tidal volume estimates at the airway opening with an infant monitor during high-frequency oscillatory ventilation. *Crit Care Med.* 2001 Oct;29(10):1925–30.
67. Leipälä JA, Iwasaki S, Milner A, Greenough A. Accuracy of the volume and pressure displays of high frequency oscillators. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2004 Mar;89(2):F174-176.
68. Fessler HE, Hager DN, Brower RG. Feasibility of very high-frequency ventilation in adults with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 2008 Apr;36(4):1043–8.
69. Belteki G, Morley CJ. High-frequency oscillatory ventilation with volume guarantee: a single-centre experience. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2018 Sep 14; doi: 10.1136/archdischild-2018-315490.
70. Lee SM, Namgung R, Eun HS, Lee SM, Park MS, Park KI. Effective Tidal Volume for Normocapnia in Very-Low-Birth-Weight Infants Using High-Frequency Oscillatory Ventilation. *Yonsei Med J.* 2018 Jan;59(1):101–6.

71. Fujimoto S, Togari H, Yamaguchi N, Mizutani F, Suzuki S, Sobajima H. Hypocarbica and cystic periventricular leukomalacia in premature infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1994 Sep;71(2):F107-110.
72. Okumura A, Hayakawa F, Kato T, Itomi K, Maruyama K, Ishihara N, et al. Hypocarbica in preterm infants with periventricular leukomalacia: the relation between hypocarbica and mechanical ventilation. *Pediatrics.* 2001 Mar;107(3):469-75.
73. Erickson SJ, Grauaug A, Gurrin L, Swaminathan M. Hypocarbica in the ventilated preterm infant and its effect on intraventricular haemorrhage and bronchopulmonary dysplasia. *J Paediatr Child Health.* 2002 Dec;38(6):560-2.
74. Wiswell TE, Graziani LJ, Kornhauser MS, Stanley C, Merton DA, McKee L, et al. Effects of hypocarbica on the development of cystic periventricular leukomalacia in premature infants treated with high-frequency jet ventilation. *Pediatrics.* 1996 Nov;98(5):918-24.
75. Ito H, Ibaraki M, Kanno I, Fukuda H, Miura S. Changes in the arterial fraction of human cerebral blood volume during hypercapnia and hypocarbica measured by positron emission tomography. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 2005 Jul;25(7):852-7.
76. Keszler M, Abubakar K. Volume guarantee: stability of tidal volume and incidence of hypocarbica. *Pediatr Pulmonol.* 2004 Sep;38(3):240-5.
77. Wheeler KI, Klingenberg C, Morley CJ, Davis PG. Volume-targeted versus pressure-limited ventilation for preterm infants: a systematic review and meta-analysis. *Neonatology.* 2011;100(3):219-27.
78. Morley CJ. Volume-limited and volume-targeted ventilation. *Clin Perinatol.* 2012 Sep;39(3):513-23.
79. Peng W, Zhu H, Shi H, Liu E. Volume-targeted ventilation is more suitable than pressure-limited ventilation for preterm infants: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2014 Mar;99(2):F158-165.
80. Iscan B, Duman N, Tuzun F, Kumral A, Ozkan H. Impact of Volume Guarantee on High-Frequency Oscillatory Ventilation in Preterm Infants: A Randomized Crossover Clinical Trial. *Neonatology.* 2015;108(4):277-82.
81. Enomoto M, Keszler M, Sakuma M, Kikuchi S, Katayama Y, Takei A, et al. Effect of Volume Guarantee in Preterm Infants on High-Frequency Oscillatory Ventilation: A Pilot Study. *Am J Perinatol.* 2017;34(1):26-30.
82. Belteki G, Lin B, Morley CJ. Weight-correction of carbon dioxide diffusion coefficient (DCO<sub>2</sub>) reduces its inter-individual variability and improves its correlation

- with blood carbon dioxide levels in neonates receiving high-frequency oscillatory ventilation. *Pediatr Pulmonol*. 2017;52(10):1316–22.
83. Zannin E, Dellaca' RL, Dognini G, Marconi L, Perego M, Pillow JJ, et al. Effect of frequency on pressure cost of ventilation and gas exchange in newborns receiving high-frequency oscillatory ventilation. *Pediatr Res*. 2017 Dec;82(6):994–9.
84. Harcourt ER, John J, Dargaville PA, Zannin E, Davis PG, Tingay DG. Pressure and flow waveform characteristics of eight high-frequency oscillators. *Pediatr Crit Care Med J Soc Crit Care Med World Fed Pediatr Intensive Crit Care Soc*. 2014 Jun;15(5):e234-240.
85. Grazioli S, Karam O, Rimensberger PC. New generation neonatal high frequency ventilators: effect of oscillatory frequency and working principles on performance. *Respir Care*. 2015 Mar;60(3):363–70.
86. Tingay DG, John J, Harcourt ER, Black D, Dargaville PA, Mills JF, et al. Are All Oscillators Created Equal? In vitro Performance Characteristics of Eight High-Frequency Oscillatory Ventilators. *Neonatology*. 2015;108(3):220–8.
87. Venegas JG, Fredberg JJ. Understanding the pressure cost of ventilation: why does high-frequency ventilation work? *Crit Care Med*. 1994 Sep;22(9 Suppl):S49-57.
88. Pillow JJ, Wilkinson MH, Neil HL, Ramsden CA. In vitro performance characteristics of high-frequency oscillatory ventilators. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Sep 15;164(6):1019–24.
89. Ronchi CF, dos Anjos Ferreira AL, Campos FJ, Kurokawa CS, Carpi MF, de Moraes MA, et al. High-frequency oscillatory ventilation attenuates oxidative lung injury in a rabbit model of acute lung injury. *Exp Biol Med Maywood NJ*. 2011 Oct;236(10):1188–96.
90. Imai Y, Nakagawa S, Ito Y, Kawano T, Slutsky AS, Miyasaka K. Comparison of lung protection strategies using conventional and high-frequency oscillatory ventilation. *J Appl Physiol Bethesda Md 1985*. 2001 Oct;91(4):1836–44.
91. Tingay DG, Mills JF, Morley CJ, Pellicano A, Dargaville PA. Indicators of optimal lung volume during high-frequency oscillatory ventilation in infants. *Crit Care Med*. 2013 Jan;41(1):237–44.
92. Meyer J, Cox PN, McKerlie C, Bienzle D. Protective strategies of high-frequency oscillatory ventilation in a rabbit model. *Pediatr Res*. 2006 Oct;60(4):401–6.
93. Liu S, Yi Y, Wang M, Chen Q, Huang Y, Liu L, et al. Higher frequency ventilation attenuates lung injury during high-frequency oscillatory ventilation in sheep models of acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology*. 2013 Aug;119(2):398–411.

94. Slutsky AS. Ventilator-induced lung injury: from barotrauma to biotrauma. *Respir Care*. 2005 May;50(5):646–59.
95. Jobe AH. Animal Models, Learning Lessons to Prevent and Treat Neonatal Chronic Lung Disease. *Front Med*. 2015;2:49.
96. Berger TM, Fontana M, Stocker M. The journey towards lung protective respiratory support in preterm neonates. *Neonatology*. 2013;104(4):265–74.
97. Keszler M. Volume guarantee and ventilator-induced lung injury: Goldilock's rules apply. *Pediatr Pulmonol*. 2006 Apr;41(4):364–6.
98. Dreyfuss D, Soler P, Basset G, Saumon G. High inflation pressure pulmonary edema. Respective effects of high airway pressure, high tidal volume, and positive end-expiratory pressure. *Am Rev Respir Dis*. 1988 May;137(5):1159–64.
99. Carlton DP, Cummings JJ, Scheerer RG, Poulain FR, Bland RD. Lung overexpansion increases pulmonary microvascular protein permeability in young lambs. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 1990 Aug;69(2):577–83.
100. Wada K, Jobe AH, Ikegami M. Tidal volume effects on surfactant treatment responses with the initiation of ventilation in preterm lambs. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 1997 Oct;83(4):1054–61.
101. Hernandez LA, Peevy KJ, Moise AA, Parker JC. Chest wall restriction limits high airway pressure-induced lung injury in young rabbits. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 1989 May;66(5):2364–8.
102. Wakabayashi K, Wilson MR, Tatham KC, O'Dea KP, Takata M. Volutrauma, but not atelectrauma, induces systemic cytokine production by lung-margined monocytes. *Crit Care Med*. 2014 Jan;42(1):e49-57.
103. Copland IB, Martinez F, Kavanagh BP, Engelberts D, McKerlie C, Belik J, et al. High tidal volume ventilation causes different inflammatory responses in newborn versus adult lung. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004 Mar 15;169(6):739–48.
104. Copland IB, Kavanagh BP, Engelberts D, McKerlie C, Belik J, Post M. Early changes in lung gene expression due to high tidal volume. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Nov 1;168(9):1051–9.
105. Yamamoto H, Teramoto H, Uetani K, Igawa K, Shimizu E. Cyclic stretch upregulates interleukin-8 and transforming growth factor-beta1 production through a protein kinase C-dependent pathway in alveolar epithelial cells. *Respirol Carlton Vic*. 2002 Jun;7(2):103–9.
106. Strang LB, McGRATH MW. Alveolar ventilation in normal newborn infants studied by air wash-in after oxygen breathing. *Clin Sci*. 1962 Aug;23:129–39.

107. Nelson NM, Prod'hom LS, Cherry RB, Lipsitz PJ, Smith CA. Pulmonary function in the newborn infant. I. Methods: ventilation and gaseous metabolism. *Pediatrics*. 1962 Dec;30:963–74.
108. Koch G. Alveolar ventilation, diffusing capacity and the A-a PO<sub>2</sub> difference in the newborn infant. *Respir Physiol*. 1968 Mar;4(2):168–92.
109. Lagneaux D, Mossay C, Geubelle F, Christiaens G. Alveolar data in healthy, awake neonates during spontaneous ventilation: a preliminary investigation. *Pediatr Pulmonol*. 1988;5(4):225–31.
110. Numa AH, Newth CJ. Anatomic dead space in infants and children. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 1996 May;80(5):1485–9.
111. Wenzel U, Wauer RR, Schmalisch G. Comparison of different methods for dead space measurements in ventilated newborns using CO<sub>2</sub>-volume plot. *Intensive Care Med*. 1999 Jul;25(7):705–13.
112. Neumann RP, Pillow JJ, Thamrin C, Larcombe AN, Hall GL, Schulzke SM. Influence of gestational age on dead space and alveolar ventilation in preterm infants ventilated with volume guarantee. *Neonatology*. 2015;107(1):43–9.
113. Sakai T, Aiba S, Takahashi R, Yoshioka T, Iinuma K. Pulmonary interstitial emphysema during piston-type high-frequency oscillatory ventilation. *Tohoku J Exp Med*. 1996 Dec;180(4):327–35.
114. Hillman NH, Moss TJM, Kallapur SG, Bachurski C, Pillow JJ, Polglase GR, et al. Brief, large tidal volume ventilation initiates lung injury and a systemic response in fetal sheep. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007 Sep 15;176(6):575–81.
115. Hillman NH, Moss TJ, Nitsos I, Jobe AH. Moderate tidal volumes and oxygen exposure during initiation of ventilation in preterm fetal sheep. *Pediatr Res*. 2012 Dec;72(6):593–9.
116. Leroy S, Caumette E, Waddington C, Hébert A, Brant R, Lavoie PM. A Time-Based Analysis of Inflammation in Infants at Risk of Bronchopulmonary Dysplasia. *J Pediatr*. 2018;192:60-65.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2017.09.011.
117. deLemos RA, Coalson JJ, deLemos JA, King RJ, Clark RH, Gerstmann DR. Rescue ventilation with high frequency oscillation in premature baboons with hyaline membrane disease. *Pediatr Pulmonol*. 1992 Jan;12(1):29–36.
118. Jackson JC, Truog WE, Standaert TA, Murphy JH, Juul SE, Chi EY, et al. Reduction in lung injury after combined surfactant and high-frequency ventilation. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994 Aug;150(2):534–9.

119. Acarregui MJ, Penisten ST, Goss KL, Ramirez K, Snyder JM. Vascular endothelial growth factor gene expression in human fetal lung in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1999 Jan;20(1):14-23.
120. Bland RD, Mokres LM, Ertsey R, Jacobson BE, Jiang S, Rabinovitch M, et al. Mechanical ventilation with 40% oxygen reduces pulmonary expression of genes that regulate lung development and impairs alveolar septation in newborn mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2007 Nov;293(5):L1099-1110.
121. Bland RD, Xu L, Ertsey R, Rabinovitch M, Albertine KH, Wynn KA, et al. Dysregulation of pulmonary elastin synthesis and assembly in preterm lambs with chronic lung disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2007 Jun;292(6):L1370-1384.
122. Mokres LM, Parai K, Hilgendorff A, Ertsey R, Alvira CM, Rabinovitch M, et al. Prolonged mechanical ventilation with air induces apoptosis and causes failure of alveolar septation and angiogenesis in lungs of newborn mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2010 Jan;298(1):L23-35.
123. Maniscalco WM, Watkins RH, Pryhuber GS, Bhatt A, Shea C, Huyck H. Angiogenic factors and alveolar vasculature: development and alterations by injury in very premature baboons. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2002 Apr;282(4):L811-823.
124. Kroon AA, Wang J, Post M. Alterations in expression of elastogenic and angiogenic genes by different conditions of mechanical ventilation in newborn rat lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2015 Apr 1;308(7):L639-649.
125. Lachmann B, Robertson B, Vogel J. In vivo lung lavage as an experimental model of the respiratory distress syndrome. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1980 Jun;24(3):231-6.



## ANEXOS





## HOJA INFORMATIVA Y CONSENTIMIENTO INFORMADO ESTUDIO DE FACTIBILIDAD

### Hoja de información y consentimiento informado para los padres o representantes legales

**Estudio:** *ESTUDIO DE FACTIBILIDAD DE VENTILACIÓN MEDIANTE NUEVA ESTRATEGIA DE PROTECCIÓN PULMONAR EN VENTILACIÓN DE ALTA FRECUENCIA.*

Apreciados padres:

Su hijo/a, como consecuencia de su enfermedad pulmonar (inmadurez pulmonar debida a su prematuridad, infección respiratoria...) necesita ser ayudado mediante un tipo de ventilación mecánica denominada "ventilación de alta frecuencia". Este tipo de ventilación la recibe a través de un tubo introducido en su tráquea, y es responsable de la vibración de su cuerpo.

La ventilación mecánica mejora la supervivencia de los recién nacidos con enfermedades del pulmón o que son incapaces de mantener una respiración adecuada de manera espontánea, pero a cambio, produce cierto grado de daño en el pulmón de estos niños.

La "ventilación de alta frecuencia" se empezó a utilizar en recién nacidos hace más de 20 años. En los últimos meses se ha demostrado que con pequeñas modificaciones en este tipo de ventilación es posible que se disminuya el daño que produce la ventilación en los pulmones de los recién nacidos, sin suponer ningún riesgo adicional.

**Objetivo del estudio:** Al participar en el estudio de investigación que le proponemos queremos recoger determinados datos del respirador y de la historia clínica de su hijo/a después de realizar esas pequeñas modificaciones en el respirador para comprobar que esta nueva técnica que en estudios experimentales ha demostrado ser menos dañina para el pulmón del recién nacido, puede aplicarse de rutina. Además, sus datos serán comparados con los de otros niños de características similares a las de su hijo para determinar unos valores de referencia para esta nueva forma de ventilación.

**Procedimiento:** Su hijo/a cumple los criterios para iniciar "ventilación de alta frecuencia". Procederemos a realizar pequeñas modificaciones en el respirador para intentar que disminuya el efecto dañino del respirador en el pulmón.

Si usted autoriza la inclusión en el estudio recogeremos los datos del bebé para poder compararlos con los resultados de otros niños.

**Su inclusión en el estudio solo conlleva su autorización para poder recoger y analizar los datos que obtendremos de los registros habituales durante su hospitalización y de su historia clínica.**

**No se le realizará ningún tipo de intervención adicional a su hijo/a por el hecho de estar incluido en el estudio salvo una analítica adicional a las que se realizan de rutina. Su manejo será el protocolizado en nuestro servicio.**

**Riesgos:** No existe ningún riesgo adicional para el paciente relacionado con la inclusión en el estudio.

**Beneficios:** Actualmente no podemos afirmar que aporte ningún beneficio para el paciente aunque en estudios experimentales sí que ha demostrado ser menos dañina para el pulmón del recién nacido.

**Obligación:** No es obligatorio, en modo alguno, que su hijo/a participe en este estudio, y aunque usted decida incluirlo en él, el niño/a podrá ser retirado en cualquier momento, si usted o el médico responsable del estudio lo consideran conveniente.

**Compensación:** No existe ninguna compensación asociada a la participación en este estudio, ni para el niño, su familia ni el personal sanitario que participa en el estudio.

**Confidencialidad:** No se revelará la identidad de su hijo en ninguna publicación de los datos según La **Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal** (LOPD). Sus datos serán tratados con absoluta confidencialidad, de manera que será imposible asociarle a usted con los resultados del estudio. Solamente el investigador principal del estudio tendrá acceso a sus datos personales. Su nombre e iniciales no aparecerán en ningún documento del estudio, siendo sustituidos por un código. El código que figure en el documento será guardado por el investigador principal, para evitar que terceras personas tengan acceso a los datos. Sus datos no serán accesibles para otras personas que participen en la investigación.

Se respetará así mismo la ley de autonomía del paciente Ley 41/2002, de 14 de noviembre y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica.

**Podrá revocar el consentimiento en cualquier momento haciendo uso de los derechos ARCO (Acceso, Rectificación, cancelación y oposición) para lo cual podrá ponerse en contacto con el IP (Noelia González Pacheco, Tlf: 915290547)**

**Aceptación del padre, de la madre o representante legal:**

Acepto voluntariamente que mi hijo participe en este estudio. Podré retirar a mi hijo del estudio en cualquier momento, sin que esto suponga ningún perjuicio o pérdida de beneficios a los que tiene derecho.

Yo, \_\_\_\_\_, autorizo a que mi hijo \_\_\_\_\_ participe en el estudio descrito anteriormente, y entiendo que mi negativa a su participación o su retirada posterior no afectarán a la asistencia que se le preste.

Nombre y firma del padre/madre o tutor

Nombre y firma del investigador

DNI \_\_\_\_\_

DNI \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_

**REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO.**

Yo, \_\_\_\_\_, en calidad de \_\_\_\_\_ (padre/madre/tutor) de \_\_\_\_\_ revoco el consentimiento de participación de mi hijo en el estudio arriba firmado.

Firma

DNI \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_



## DICTAMEN COMITÉ ÉTICO



Hospital General Universitario  
Gregorio Marañón

Comunidad de Madrid



### DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

D. Fernando Díaz Otero, Secretario del **COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA**  
**HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO GREGORIO MARAÑÓN**

#### CERTIFICA

Que se ha evaluado la propuesta del promotor referida al estudio:

**TÍTULO:** "Estudio de factibilidad de ventilación mediante nueva estrategia de protección pulmonar en ventilación de alta frecuencia"

**Protocolo** versión 1.0, 10 de abril de 2014. **Hoja de información y consentimiento informado para los padres o representantes legales** sin versionar.

**Promotor:** Servicio de Cuidados Intensivos Neonatales. H.G.U. Gregorio Marañón

- El estudio se plantea siguiendo los requisitos legalmente establecidos, y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad del investigador y sus colaboradores, y las instalaciones y medios disponibles, tal y como ha sido informado, son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Este CEIC acepta que dicho estudio sea realizado por el investigador principal:

Dra. Noelia González Pacheco / Hospital General Universitario Gregorio Marañón

Y HACE CONSTAR QUE:

1º En la reunión celebrada el día **28 de abril de 2014, acta 05/2014** se decidió emitir el informe correspondiente al estudio de referencia.

2º En dicha reunión se cumplieron los requisitos establecidos en la legislación vigente -Real Decreto 223/2004 y Decreto 39/94 de la Comunidad de Madrid- para que la decisión del citado CEIC sea válida.

3º El CEIC-A1, tanto en su composición, como en los PNT cumple con las normas de BPC (CPMP/ ICH/ 135/95)

4º La composición actual del CEIC-A1 es la siguiente:

- D. MANUEL SÁNCHEZ LUNA (Pediatria –Presidente)
- D. FELIPE ATIENZA FERNÁNDEZ (Cardiología - Vicepresidente)
- D. FERNANDO DÍAZ OTERO (Neurología – Secretario)
- Dª MARÍA LUISA BAEZA OCHOA DE OCÁRIZ (Alergología)
- Dª MARÍA ANTONIA BELTRÁN LÓPEZ (Enfermería)
- Dª MARÍA DEL CARMEN DE LA CRUZ ARGUEDAS (Unidad de Apoyo a la Investigación)
- D. RAFAEL CARRIÓN GALINDO (Oncología Médica)
- D. CARLOS MANUEL GONZÁLEZ FERNÁNDEZ (Reumatología)
- D. VICENTE DE LAS PEÑAS GIL (Psicología Clínica)
- D. EDUARDO FERNÁNDEZ-CRUZ PÉREZ (Inmunología)
- Dª LEONOR MARÍA LAREDO VELASCO (Farmacología Clínica)
- D. IGNACIO MARÍN JIMÉNEZ (Aparato Digestivo)
- Dª CARMEN MATEO RUIZ (Farmacia Atención Primaria)
- Dª MARÍA DE LOS ÁNGELES MUÑOZ FERNÁNDEZ (Inmunología)
- D. ANDRÉS JESÚS MUÑOZ MARTÍN (Oncología Médica)
- Dª ANA MUR MUR (Farmacia Hospitalaria)
- D. LUIS PUENTE MAESTU (Neumología)
- Dª. MARÍA BEGOÑA QUINTANA VILLAMANDOS (Anestesiología y Reanimación)
- D. JOSÉ MIGUEL RIVAS BUENO (Licenciado en Derecho)

Lo que firmo en Madrid, a 08 de mayo de 2014

Fdo.: Dr. Fernando Díaz Otero

169/14

C/ Dr. Esquerdo 46, Pabellón de Gobierno, Planta baja, 28007 Madrid  
Tel: 91 595 7007 Fax: 91 400 8158



C/ Joaquín Rodrigo, 2, Edif. Laboratorio, planta 0, CP: 28222 Majadahonda • CIF: G-83726968 • Tel.: +34 91 191 77 60 • Fax: +34 91 191 68 06 • secretaria@idiphim.org • www.investigacionpuertadehierro.com

## DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL

D. JOSÉ MARIA VERDAGUER MUÑOZ COMO PRESIDENTE DEL COMITÉ ÉTICO DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA

### CERTIFICA

Que este comité ha considerado el proyecto de investigación titulado:

"Ventilación de alta frecuencia oscilatoria con volumen garantizado en la prevención del daño inducido por ventilación en un modelo animal neonatal"

Con Código del CEEA: 004P/2017

Como **FAVORABLE**, a efectos de solicitud de financiación.

Majadahonda, Madrid, a 16 de mayo de 2017.

Fdo.: Dr. José María Verdaguer Muñoz  
Presidente del CEEA



## MODELO ANIMAL





## PUBLICACIONES







## ORIGINAL ARTICLE

## Using very high frequencies with very low lung volumes during high-frequency oscillatory ventilation to protect the immature lung. A pilot study

N González-Pacheco, M Sánchez-Luna, C Ramos-Navarro, N Navarro-Patiño and AR-S de la Blanca

**OBJECTIVE:** High-frequency oscillatory ventilation (HFOV) has been described as a rescue therapy in severe respiratory distress syndrome (RDS) with a potential protective effect in immature lungs. In recent times, HFOV combined with the use of volume guarantee (VG) strategy has demonstrated an independent effect of the frequency on tidal volume to increase carbon-dioxide (CO<sub>2</sub>) elimination. The aim of this study was to demonstrate the feasibility of using the lowest tidal volume on HFOV+VG to prevent lung damage, maintaining a constant CO<sub>2</sub> elimination by increasing the frequency.

**STUDY DESIGN:** Newborn infants with RDS on HFOV were prospectively included. After adequate and stable ventilation using a standard HFOV strategy, the tidal volume was fixed using VG and decreased while the frequency was increased to the highest possible to maintain a constant CO<sub>2</sub> elimination. Pre- and post-PCO<sub>2</sub>, delta pressure and tidal volume obtained in each situation were compared.

**RESULT:** Twenty-three newborn infants were included. It was possible to increase the frequency while decreasing the tidal volume in all patients, maintaining a similar CO<sub>2</sub> elimination, with a tendency to a lower mean PCO<sub>2</sub> after reaching the highest frequency. High-frequency tidal volume was significantly lower, 2.20 ml kg<sup>-1</sup> before vs 1.59 ml kg<sup>-1</sup> at the highest frequency.

**CONCLUSION:** It is possible to use lower delivered tidal volumes during HFOV combined with VG and higher frequencies with adequate ventilation to allow minimizing lung injury.

*Journal of Perinatology* advance online publication, 7 January 2016; doi:10.1038/jp.2015.197

## INTRODUCTION

Despite advances in neonatal care, respiratory failure due to respiratory distress syndrome (RDS) remains the leading cause of morbidity and mortality in preterm infants,<sup>1</sup> where the risk of bronchopulmonary dysplasia (BPD) remains high, with significant comorbidity.<sup>2</sup>

Pathogenesis of BPD is multifactorial, and mechanical ventilation is a causative factor. Alveolar overexpansion secondary to high lung volume (volutrauma) and alveolar injury due to repetitive alveolar recruitment and derecruitment (atelectrauma) are mechanisms of 'ventilation-induced lung injury' (VILI) that may lead to BPD.<sup>3,4</sup>

In the late seventies, high-frequency oscillatory ventilation (HFOV) was developed as a new ventilation technique, using tidal volumes smaller than anatomical dead space (<2.7 ml kg<sup>-1</sup>) delivered at supra-physiological respiratory frequencies (>3 Hz = 180 breaths per minute) superimposed on a continuous distending pressure.<sup>3,5,6</sup> Unlike conventional mechanical ventilation (CMV), HFOV was able to achieve adequate gas exchange with lower inflation pressure at the alveoli, minor variations in pressure and volume, keeping the lungs with a relatively constant volume above the functional residual capacity, thus minimizing the effects of volutrauma, barotrauma and atelectrauma.<sup>4,7</sup>

Although HFOV seemed to be a promising technique for reducing VILI compared with CMV in animal models,<sup>8,9</sup> the outcome of controlled clinical trials comparing the two modes of ventilation remains uncertain.<sup>1,2,4,10–12</sup> It should be noted that,

although the *UKOS* study initially found no significant differences in the incidence of BPD between HFOV and CMV,<sup>5</sup> in the long-term follow-up of survivors a better lung function at 11 to 14 years of age was found, with no evidence of poorer functional outcomes in the group receiving HFOV, as described recently.<sup>13</sup>

The efficacy of CO<sub>2</sub> removal during HFOV, described as the diffusion coefficient of CO<sub>2</sub> (DCO<sub>2</sub>), is related to the square of the high-frequency tidal volume (VThf) and the frequency (*f*), expressed as  $DCO_2 = VThf^2 \times f$ . Thus, VThf has a greater effect on CO<sub>2</sub> elimination than does *f*, and an increase in either, VThf or *f*, would result in improved CO<sub>2</sub> elimination;<sup>5,14,15</sup> on the other hand, because the use of lower frequencies produces higher VThf, an inverse relation between frequency and DCO<sub>2</sub> was established. Thus, in standard HFOV ventilators where it is not possible to maintain a fixed volume but only the oscillation pressure amplitude (ΔPhf), VThf decreases with increasing *f*, thereby reducing DCO<sub>2</sub>.<sup>16</sup> Thus traditionally, an increase in ΔPhf or a decrease in frequency to finally increase VThf has been used to improve CO<sub>2</sub> clearance.

Since the emergence of 'volume guarantee' (VG) combined with HFOV, which allows to maintain a constant VThf, it is possible to independently adjust the VThf and *f*, thereby enabling an increase in DCO<sub>2</sub>, and the consequent decrease in PCO<sub>2</sub>, with higher *f*.<sup>17,18</sup>

In order to sustain VThf at higher frequencies, a higher ΔPhf in the circuit is needed, which can be potentially transmitted to the alveoli, resulting in lung injury (barotrauma). However, recently we demonstrated in an artificial lung model that the distal pressure

Neonatology Division, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Complutense University of Madrid, Madrid, Spain. Correspondence: Dr M Sánchez-Luna, Neonatology Division, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, C/Dr Esquerdo 46, Madrid E-28007, Spain.

E-mail: msluna@salud.madrid.org

Received 19 April 2015; revised 3 November 2015; accepted 10 November 2015



amplitude after increasing frequencies using VG did not increase, and also a decrease in delta pressure across all frequencies with a constant VThf was found.<sup>18</sup>

Thus, it has been proposed to prevent immature lung damage by using higher frequencies while keeping the lower fixed Vthf. The VG modality allows to increase the frequency and decrease directly the VThf while maintaining a similar DCO<sub>2</sub>; then, CO<sub>2</sub> removal can be achieved using very high frequencies and very low fixed VThf, which is not possible in classic HFOV, in which the VThf cannot be modified directly. A constant DCO<sub>2</sub> is maintained by the ventilator, and hence a stable CO<sub>2</sub> removal is expected with the use of the VG strategy.

The aim of this study was to evaluate the feasibility of using this new strategy in clinical practice and define the highest frequency and the lowest tidal volume achieved, according to gestational age (GA) and birth weight (BW). We hypothesized that it is possible to maintain adequate ventilation when keeping a constant DCO<sub>2</sub>, using higher frequencies and lower fixed tidal volumes, as theoretical lung protection strategy.

## MATERIALS AND METHODS

### Study design and population

An open prospective non-randomized pilot study was designed to evaluate the feasibility of using this new strategy. Eligible patients were newborn infants with severe respiratory insufficiency on HFOV. HFOV was used as rescue therapy in the following instances: severe respiratory insufficiency refractory to conventional mechanical ventilation, pulmonary air leak (interstitial emphysema, pneumothorax or pneumomediastinum), persistent pulmonary hypertension of the newborn wherein conventional mechanical ventilation fails, pulmonary hemorrhage and pulmonary atelectasis. In preterm infants with RDS, failure of conventional mechanical ventilation was defined only after administering an initial dose of surfactant. Informed consent was obtained before enrolling the patient. The Ethical Committee approved this study. As a pilot study, sample size was not calculated but estimated in 30 patients in each of the feasibility and control groups.

Exclusion criteria were severe congenital lung disease, severe respiratory insufficiency refractory to HFOV or with indication of extracorporeal membrane oxygenation.

### Ventilation strategy

Newborn infants included in the study received ventilation with the Dräger Babylog VN500 ventilator (Dräger Medical, Lübeck, Germany), which provides HFOV combined with VG, generating an active inspiration and active expiration to allow a sinusoidal pressure signal around a set mean airway pressure (mPaw). The Dräger VN500 ventilator uses a double hot wire anemometer, which has been demonstrated to be a very accurate way of measuring VThf during HFOV.<sup>19,20</sup> Also, it has been demonstrated that using a hot wire anemometer, as a monitoring system for VThf, is more accurate than the use of a pneumotachograph, as there is greater linearity of response across a range of frequencies.<sup>21</sup>

During the initial phase of stabilization on HFOV, lung volume recruitment maneuver was carried out in all patients according to usual clinical practice and beginning with a mPaw 1 to 2 mbar higher than that received during CMV (or the same for infants with air leak) and the same inspired oxygen fraction (FiO<sub>2</sub>). Subsequently, slight increases in mPaw (1 to 2 mbar every 2 min) were introduced until the critical lung opening pressure was reached, defined as the pressure necessary to achieve effective alveolar recruitment and reflected by a decrease in oxygen requirement without signs of cardiocirculatory compromise. Once FiO<sub>2</sub> was decreased below 0.4 maintaining an oxygen transcutaneous saturation (SpO<sub>2</sub>) of 90 to 95%, mPaw was decreased by 1 to 2 mbar every 2 min until SpO<sub>2</sub> < 90%, defining the critical lung closing pressure. Finally, mPaw was increased up to the known critical lung opening pressure again and then it was fixed 2 mbar above the critical lung closing pressure, defining the optimal mPaw as the minimal pressure to achieve the recruitment of most alveolar units (optimal lung volume strategy). Ideal lung inflation was defined as expansion to 8 to 9 ribs (the top of the right hemidiaphragm relative to the posterior ribs on chest radiography at full inspiration).

After lung recruitment was achieved, adequate ventilation was obtained using the following initial ventilator settings:

1. Respiratory frequency (*f*) of 11 Hz if BW < 1000 g, 10 Hz if BW was 1000 to 1500 g and 9 Hz if BW > 1500 g.
2. Inspiratory to expiratory ratio of 1:1 to better transmit delta pressure, as it was defined by JJ Pilow *et al.*<sup>22</sup>
3. Oscillation pressure amplitude ( $\Delta$ Phf) of 15 to 30 mbar to get a symmetrical thoracic swing to the navel and a VThf of  $1.5 \pm 0.5$  ml kg<sup>-1</sup>.

After a period of stability, blood gas analysis was obtained to evaluate ventilation. The target arterial blood gases according to GA and BW were as follows:

- GA < 32 weeks and/or BW < 1500 g: pH 7.25 to 7.45.  
PaO<sub>2</sub> 50 to 60 mm Hg.  
PaCO<sub>2</sub> 40 to 55 mm Hg.
- GA > 32 weeks and/or BW > 1500 g: pH 7.30 to 7.45.  
PaO<sub>2</sub> 50 to 70 mm Hg.  
PaCO<sub>2</sub> 40 to 55 mm Hg.

Arterial blood gases were used to evaluate ventilation and oxygenation only when it was necessary to catheterize an artery access for monitoring invasive arterial blood pressure and partial pressure of oxygen (PaO<sub>2</sub>), due to the instability of the newborn infant. Otherwise, partial pressure of carbon dioxide (PCO<sub>2</sub>) objectives were as follows:

1. Arterialized capillary blood sampling: 40 to 55 mm Hg.
2. Venous blood sampling: 45 to 60 mm Hg.

Oxygenation monitoring was made through preductal oxygen transcutaneous saturation, where target values were 90 to 95%.

In case of inadequate ventilation according to target values,  $\Delta$ Phf was modified to reach it. Once adequate ventilation was achieved, the value of DCO<sub>2</sub> was registered and used as a target value of normal ventilation. At this moment, the ventilatory mode was switched to HFOV combined with VG. Thereafter, frequency was gradually increased until the highest possible (defined as failure to achieve tidal volume or maintain the initial DCO<sub>2</sub>) and VThf was accordingly decreased, in order to maintain a constant DCO<sub>2</sub> to keep a constant PCO<sub>2</sub>. Finally, after all these changes, a second blood gas was drawn to evaluate ventilation. Both situations, before and after highest frequency with constant DCO<sub>2</sub>, were compared.

### Data collection

The following data were collected from patients included in the study: demographic characteristics (GA, chronological age at the start of HFOV, BW, weight at the start of HFOV and sex), perinatal pathology and treatment (presence of chorioamnionitis and antenatal administration of corticosteroids, complete course or any steroids administered), clinical course (surfactant replacement therapy, postnatal age at intubation, postnatal age at the start of HFOV and indication to initiate HFOV), initial and final ventilator settings (initial mPaw, critical lung opening pressure, VThf, frequency,  $\Delta$ Phf, DCO<sub>2</sub> and FiO<sub>2</sub>), patients' records (arterial blood pressure, heart rate and preductal pulseoximetry), initial and final blood gas analysis (pH, PCO<sub>2</sub> and PaO<sub>2</sub> when arterial blood gases were available) and complications (air leak, hemodynamic instability).

$\Delta$ Phf and DCO<sub>2</sub>, calculated as  $VThf^2 \times f$  (ml<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>), were obtained from the ventilator software (VentView 2.n software, Dräger, Lübeck, Germany). Data from the ventilator were exported through the standard USB connection.

### Statistical analysis

Statistical analysis was performed using SPSS 22.0 (IBM SPSS Statistics, Chicago, IL, USA). Descriptive analysis was performed using mean  $\pm$  s.d. or median for quantitative variables and percentages for qualitative variables. Difference between initial and final parameters was analyzed using the Student's *t*-test for paired samples. Statistical significance was set at *P* < 0.05.

## RESULTS

Between June 2014 and March 2015, 23 newborn infants who needed HFOV were included. Demographic and clinical characteristics are presented in Table 1.

The median duration of mechanical ventilation before the initiation of HFOV was 3 h. The indication to initiate HFOV was severe respiratory failure due to RDS (65.2%), abdominal surgery (8.7%) or pneumothorax (8.7%) in premature infants with GA

**Table 1.** Demographic and clinical characteristics of the patients

<i>Gestational age (weeks)</i> <sup>a</sup>	28.83 ± 4.69/27.40
< 32	19 (82.6%)
> 32	4 (17.4%)
Chronological age at the start of HFOV (days) <sup>a</sup>	5.52 ± 13.76/0
Birth weight (g) <sup>a</sup>	1113.78 ± 823.98/790.00
Weight at the start of HFOV (g) <sup>a</sup>	1211.35 ± 938.53/830.00
< 1000	14 (60.9%)
1000–2000	6 (26.1%)
> 2000	3 (13.0%)
Sex	Males: 15 (65.2%)/Females: 8 (34.8%)
Chorioamnionitis	2 (8.7%)
<i>Antenatal administration of corticosteroids:</i>	
No	6 (26.1%)
Any steroids administered	6 (26.1%)
Complete course	11 (47.8%)
Surfactant replacement therapy	22 (95.7%)
Number of doses: 1	9 (39.1%)
2	10 (43.5%)
3	3 (13.0%)
<i>Indication of HFOV:</i>	
< 32 weeks	RDS: 15 (65.2%) Pneumothorax: 2 (8.7%) Abdominal surgery: 2 (8.7%)
> 32 weeks	Primary pulmonary hypertension: 1 (4.3%) Pneumonia: 1 (4.3%) Meconium aspiration syndrome: 2 (8.7%)

Abbreviations: HFOV, high-frequency oscillatory ventilation; RDS, respiratory distress syndrome. <sup>a</sup>Mean ± s.d./median.

**Table 2.** Initial and final settings of HFOV and patients' records

Ventilator settings	Initial	Final	p
mPaw (mbar)		13.56 ± 4.03	
I:E ratio		1:1	
Frequency (Hz)	10.39 ± 1.41	16.70 ± 2.20	0.000
Tidal volume (ml kg <sup>-1</sup> )	2.20 ± 0.44	1.59 ± 0.36	0.000
ΔP (mbar)	21.86 ± 8.69	22.00 ± 8.64	0.915
DCO <sub>2</sub> (ml <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	141.09 ± 271.98	119.13 ± 223.86	0.129
FiO <sub>2</sub> (%)	47.87 ± 22.31	37.91 ± 16.06	0.020
<i>Patients' records</i>			
PAM (mm Hg)	36.04 ± 10.59	37.26 ± 7.94	0.492
HR (bpm)	143.43 ± 20.51	140.57 ± 15.48	0.424
SpO <sub>2</sub> (%)	90.70 ± 5.84	93.35 ± 2.90	0.030
PCO <sub>2</sub> (mm Hg)	51.22 ± 10.19	46.04 ± 6.52	0.013

Abbreviations: bpm, breaths per minute; HR, heart rate; PAM, mean arterial blood pressure; PCO<sub>2</sub>, partial pressure of carbon dioxide; SpO<sub>2</sub>, oxygen transcutaneous saturation. The values are represented as mean ± s.d.

(no statistically significant difference was observed between initial and final DCO<sub>2</sub>). Initial and final settings of HFOV are shown in Table 2.

The highest frequency achieved in the infants according to their weight was 19 Hz (range: 16 to 19) in infants with BW < 1000 g, 18 Hz (range: 16 to 18) in those < 2000 g and 14 Hz (range: 10 to 14) in those > 2000 g (or term infants). Table 3 shows initial and final settings of HFOV depending on the weight.

Maintaining a similar DCO<sub>2</sub>, all newborn infants were well ventilated, and therefore the mean PCO<sub>2</sub> after highest frequency was lower than the initial mean PCO<sub>2</sub>, 46.04 vs 51.22 mm Hg, but without a significant correlation between PCO<sub>2</sub> and frequency or VThf (Figure 2).

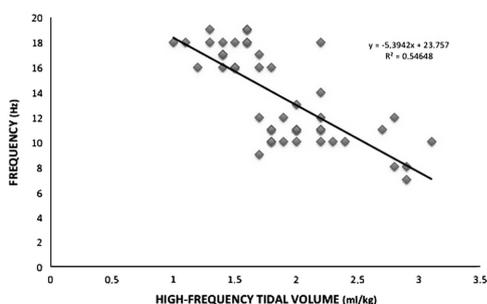
Interestingly, ΔPhf did not increase in the < 1000 g group; a greater decrease was found after the maximal frequency was achieved (Table 3). In the other two groups of weight infants, ΔPhf increased but this was not statistically significant.

Complications were not found in any of the patients during the strategy, keeping constant the mean blood pressure and heart rate (Table 2).

**DISCUSSION**

In this pilot study, we found that it was possible to use very high frequencies to reduce VThf on HFOV combined with VG while maintaining adequate ventilation. Because of the possibility of directly controlling VThf and maintaining it constant with the VG modality, we were able to increase the frequency and decrease the VThf to maintain similar and stable DCO<sub>2</sub>, preventing a potential lung trauma due to high tidal volume. With standard HFOV, where the VThf is not maintained constant by the ventilator, the increase in frequency will produce an uncontrolled and unpredictable decrease in VThf, and, most important, this VThf will not be stable and constant, and hence great variations in DCO<sub>2</sub> are to be expected as in the CO<sub>2</sub> removal.

Studies of HFOV in animal models in the early 1980s used very high frequencies of up to 40 Hz. Rieke *et al.* showed that, at a constant tidal volume, increase in the frequency resulted in a nearly linear increase in CO<sub>2</sub> clearance, but, above a critical frequency, CO<sub>2</sub> clearance tended to decrease again. Therefore, the results indicated an 'optimal frequency', between 15 and 30 Hz, according to different studies. They suspected that it could be due to the limitations in the ventilator.<sup>23–25</sup> It is noteworthy that, despite these very high 'optimal frequencies' originally used,



**Figure 1.** Initial and final frequencies and high-frequency tidal volumes.

< 32 weeks, and persistent pulmonary hypertension in the four infants over 32 weeks due to primary pulmonary hypertension (4.3%), pneumonia (4.3%) and meconium aspiration syndrome (8.7%), respectively.

The mean initial mPaw was 11.6 ± 3.0 mbar and the mean critical lung opening pressure was 13.6 ± 4.0 mbar.

It was possible to increase the frequency while decreasing the tidal volume in all patients (Figure 1), maintaining a similar DCO<sub>2</sub>



**Table 3.** Initial and final settings of HFOV and patients' records based on group weight

Ventilator settings	Initial	Final	P
<b>A. Weight &lt; 1000 g (N: 14)</b>			
mPaw (mbar)		11.79 ± 1.98	
Frequency (Hz)	11.00 ± 0.96	17.71 ± 0.99	0.000
Tidal volume (ml kg <sup>-1</sup> )	2.06 ± 0.33	1.46 ± 0.29	0.000
ΔP (mbar)	18.31 ± 6.36	16.46 ± 4.99	0.175
DCO <sub>2</sub> (ml <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	23.36 ± 9.91	18.50 ± 7.52	0.047
FiO <sub>2</sub> (%)	41.21 ± 19.20	32.79 ± 12.69	0.186
<i>Patients' records</i>			
SpO <sub>2</sub> (%)	89.71 ± 6.32	93.29 ± 1.90	0.049
PCO <sub>2</sub> (mm Hg)	54.93 ± 9.73	45.93 ± 7.53	0.002
<b>B. Weight 1000–2000 g (N: 6)</b>			
mPaw (mbar)		13.33 ± 1.97	
Frequency (Hz)	10.00 ± 1.26	16.67 ± 1.03	0.000
Tidal volume (ml kg <sup>-1</sup> )	2.15 ± 0.43	1.57 ± 0.16	0.007
ΔP (mbar)	23.17 ± 9.06	26.83 ± 4.53	0.288
DCO <sub>2</sub> (ml <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	82.83 ± 25.23	74.33 ± 24.44	0.177
FiO <sub>2</sub> (%)	57.83 ± 26.38	45.50 ± 21.79	0.088
<i>Patients' records</i>			
SpO <sub>2</sub> (%)	90.50 ± 4.28	93.00 ± 4.05	0.131
PCO <sub>2</sub> (mm Hg)	48.17 ± 6.85	46.67 ± 6.15	0.394
<b>C. Weight &gt; 2000 g (N: 3)</b>			
mPaw (mbar)		22.33 ± 2.52	
Frequency (Hz)	8.33 ± 1.53	12.00 ± 2.00	0.008
Tidal volume (ml kg <sup>-1</sup> )	2.93 ± 0.15	2.27 ± 0.11	0.031
ΔP (mbar)	34.67 ± 3.51	36.33 ± 2.31	0.662
DCO <sub>2</sub> (ml <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	807.00 ± 197.73	678.33 ± 58.38	0.318
FiO <sub>2</sub> (%)	59.00 ± 23.30	46.67 ± 11.55	0.230
<i>Patients' records</i>			
SpO <sub>2</sub> (%)	95.67 ± 5.13	94.33 ± 5.13	0.697
PCO <sub>2</sub> (mm Hg)	40.00 ± 9.85	45.33 ± 1.53	0.425

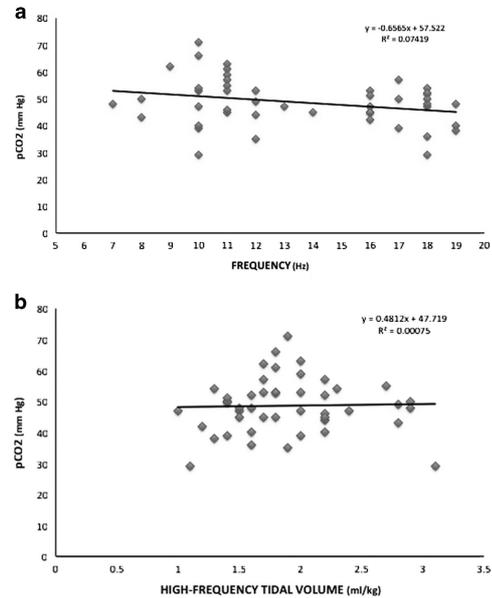
Abbreviations: PCO<sub>2</sub>, partial pressure of carbon dioxide; SpO<sub>2</sub>, oxygen transcutaneous saturation. The values are represented as mean ± s.d.

frequencies around 10 Hz have been usually applied later in controlled trials in newborn infants and in current practice.

As a lung protective strategy, Fessler *et al.*<sup>26</sup> performed a prospective study in adults with acute respiratory distress syndrome (ARDS), using frequencies higher than the recommended in this age group for HFOV and facilitated by the use of higher ΔPhf (up to 90 mbar). Their ventilation goal was any PCO<sub>2</sub> that would achieve a pH of 7.25–7.35. They speculated that this approach could provide acceptable gas exchange and that reducing the already small VThf could minimize tidal changes in lung volume and attenuate potential overdistension injury during HFOV at the high mPaw often used in patients with ARDS.

However, given the use of a ventilator that is able to maintain a fixed volume in HFOV (VG) in any lung volume situation, our patients were kept well ventilated by progressively increasing the frequency up to frequencies higher than normally used in clinical trials, while decreasing VThf, maintaining a similar DCO<sub>2</sub>. Moreover, a trend toward hyperventilation was observed in most patients after the increased frequency compared with the starting situation, requiring a lower DCO<sub>2</sub> to maintain adequate ventilation. We speculate that this could be due to the greater efficiency of higher frequencies in CO<sub>2</sub> clearance; thus, it could be possible that the DCO<sub>2</sub> equation (DCO<sub>2</sub> = VThf<sup>2</sup> × f) does not have a linear correlation with PCO<sub>2</sub> at higher frequencies.

Furthermore, thanks to a better control of ventilation using HFOV combined with VG once initial stabilization is achieved (as the DCO<sub>2</sub> will be under direct control of the therapist), the risk for



**Figure 2.** Relationship between pCO<sub>2</sub> and initial and final frequency (a) and high-frequency tidal volume (b).

severe brain injury in preterm infants due to hypocarbia observed in the initial controlled trials<sup>27</sup> could be in some way reduced.

Watson *et al.*<sup>25</sup> proved in their study on dogs that, for a given VThf, ΔPhf increased as the frequency increased. However, they suggested that, at frequencies above the resonant frequency, distal airway pressures were less than the pressure at the airway opening. This was evidenced in an artificial lung model in which it was shown that using a constant VThf, at higher frequencies, distal lung equivalent transmission of pulse pressure was negligible.<sup>18</sup>

Despite using frequencies higher than those used in the current practice, no statistically significant difference was observed between initial and final ΔPhf in this study, and this was because decreasing VThf counteracted higher frequencies. But what is of clinical importance is that in the lower weight infants (< 1000 g), proximal ΔPhf did not increase but even decreased after reaching the highest frequency, and this is probably due to the compensation of decreasing VThf, as in this group VThf was able to be decreased from 2.06 to 1.46 ml kg<sup>-1</sup>, the minimum VThf compared with the other weight groups (Table 3).

We speculate that, as trauma to immature lungs is mostly related to the high tidal volumes used during conventional mechanical ventilation<sup>28</sup> and as the use of HFOV can minimize this effect, using the smaller tidal volume possible during HFOV could afford a greater protection to these immature lungs. As VThf is less than the theoretical anatomical dead space, and does not reach the alveoli, variations in VThf would have an impact on the conducting airway. Because the lung volume of very low BW infants is too small and because of the absence of alveolar development in this group of immature patients any decrease in VThf could be beneficial and using the highest frequency to achieve the lowest VThf will minimize lung damage by decreasing airway injury. Thus, this approach could be ideally used in very preterm infants to try to minimize ventilation-induced lung injury in immature lungs.

It follows that, on the one hand, the use of VG combined with HFOV allows a better control of ventilation, and this modality allows combining the highest frequency with the lowest VThf, without a significant increase in  $\Delta\text{Phf}$ , even a decrease in very low BW infants, and with a greater efficiency in  $\text{CO}_2$  clearance, with the aim of reducing lung damage. Hence, we speculate that the unclear outcomes of clinical trials in newborn infants comparing CMV and HFOV would, at least in part, be due to the use of lower frequencies while VThf is fixed in the lower settings could have a lung protective effect.

The main weakness of the study is that it would be necessary to prove the protective effect of this new theoretical lung protective approach on the decrease in BPD in preterm infants, for which new clinical studies will be required in the future. Furthermore, we used the same patient in the pre-change of frequency as a control of the higher frequency possible; therefore, we also believe that it will be necessary to perform a different clinical study with a control group using low and high frequencies on HFOV with VG in the future to test the potential protective effect of using the lowest tidal volume. Finally, the maximum frequency achieved in any situation was defined when the ventilator was not able to maintain  $\text{DCO}_2$  because of a substantial decrease in the VThf. Thus, if this new strategy demonstrated their lung protective effect it would be necessary to develop new more powerful devices.

In conclusion, a lower tidal volume and a higher frequency in HFOV combined with VG can be used. Also, it is possible to maintain an adequate and better control of ventilation at very high frequencies. Thus, we suggest that using this new lung protection strategy could allow minimizing ventilation-induced lung injury in the immature newborn infants.

#### CONFLICT OF INTEREST

MSL has received advisory board consulting fees from Dräger. The remaining authors have no conflicts to declare.

#### REFERENCES

- Cools F, Henderson-Smart DJ, Offringa M, Askie LM. Elective high-frequency oscillatory ventilation versus conventional ventilation for acute pulmonary dysfunction in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; **3**: CD000104.
- Cools F, Askie LM, Offringa M, Asselin JM, Calvert SA, Courtney SE et al. on behalf of PreVILIG Collaboration. Elective high-frequency oscillatory versus conventional ventilation in preterm infants: a systematic review and meta-analysis of individual patients' data. *Lancet* 2010; **375**: 2082–2091.
- Cools F, Askie LM, Offringa M for the Prevention of Ventilator Induced Lung Injury collaborative study Group (PreVILIG Collaboration). Elective high-frequency oscillatory ventilation in preterm infants with respiratory distress syndrome: an individual patient data meta-analysis. *BMC Pediatr* 2009; **9**: 33.
- Bollen CW, Uiterwaal CS, van Vught AJ. Cumulative meta-analysis of high-frequency versus conventional ventilation in premature neonates. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; **168**: 1150–1155.
- Slutsky AS, Drazen FM, Ingram RH Jr, Kamm RD, Shapiro AH, Fredberg JJ et al. Effective pulmonary ventilation with small-volume oscillations at high frequency. *Science* 1980; **209**(4456): 609–611.
- Johnson AH, Peacock JL, Greenough A, Marlow N, Limb ES, Marston L et al. for the United Kingdom Oscillation Study Group. High-frequency oscillatory ventilation for the prevention of chronic lung disease of prematurity. *N Engl J Med* 2002; **347**: 633–642.

- Tingay DG, Mills JF, Morley CJ, Pellicano A, Dargaville PA. Indicators of optimal lung volume during high-frequency oscillatory ventilation in infants. *Crit Care Med* 2013; **41**: 237–244.
- DeLemos RA, Coalson JJ, Gerstmann DR, Null DM Jr, Ackerman NB, Escobedo MB et al. Ventilatory management of infant baboons with hyaline membrane disease: the use of high frequency ventilation. *Pediatr Res* 1987; **21**: 594–602.
- Meredith KS, deLemos RA, Coalson JJ, King RJ, Gerstmann DR, Kumar R et al. Role of lung injury in the pathogenesis of hyaline membrane disease in premature baboons. *J Appl Physiol* 1989; **66**: 2150–2158.
- Thome UH, Carlo WA, Pohlandt F. Ventilation strategies and outcome in randomized trials of high frequency ventilation. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2005; **90**: F466–F473.
- Bollen CW, Uiterwaal CS, van Vught AJ. Meta-regression analysis of high-frequency ventilation versus conventional ventilation in infant respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 2007; **33**: 680–688.
- Courtney SE, Durand DJ, Asselin JM, Hudak ML, Aschner JL, Shoemaker CT for the Neonatal Ventilation Study Group. High-frequency oscillatory ventilation versus conventional mechanical ventilation for very-low-birth-weight infants. *N Engl J Med* 2002; **347**: 643–652.
- Zivanovic S, Peacock J, Alcazar-Paris M, Lo JW, Lunt A, Marlow N et al., for the United Kingdom Oscillation Study Group. Late outcomes of a randomized trial of high-frequency oscillation in neonates. *N Engl J Med* 2014; **370**: 1121–1130.
- Boynton BR, Hammond MD, Fredberg JJ, Buckley BG, Villanueva D, Frantz ID. Gas exchange in healthy rabbits during high-frequency oscillatory ventilation. *J Appl Physiol* 1989; **66**: 1343–1351.
- Pillow JJ. High-frequency oscillatory ventilation: mechanisms of gas exchange and lung mechanics. *Crit Care Med* 2005; **33**: S135–S141.
- Hatcher D, Watanabe H, Ashbury T, Vincent S, Fisher J, Froese A. Mechanical performance of clinically available, neonatal, high-frequency, oscillatory-type ventilators. *Crit Care Med* 1998; **26**: 1081–1088.
- Sánchez Luna M, Santos González M, Tendillo Cortijo F. High-frequency oscillatory ventilation combined with volume guarantee in a neonatal animal model of respiratory distress syndrome. *Crit Care Res Pract* 2013; **2013**: S93915.
- Mukerji A, Belik J, Sanchez-Luna M. Bringing back the old: time to reevaluate the high-frequency ventilation strategy. *J Perinatol* 2014; **34**: 464–467.
- Zimová-Herknerová M, Plavka R. Expired tidal volumes measured by hot-wire anemometer during high-frequency oscillation in preterm infants. *Pediatr Pulmonol* 2006; **41**: 428–433.
- Scalfaro P, Pillow JJ, Sly PD, Cotting J. Reliable tidal volume estimates at the airway opening with an infant monitor during high-frequency oscillatory ventilation. *Crit Care Med* 2001; **29**: 1925–1930.
- Chan V, Greenough A, Milner AD. The effect of frequency and mean airway pressure on volume delivery during high-frequency oscillation. *Pediatr Pulmonol* 1993; **15**: 183–186.
- Pillow JJ, Neil H, Wilkinson MH, Ramsden CA. Effect of I/E ratio on mean alveolar pressure during high-frequency oscillatory ventilation. *J Appl Physiol* 1999; **87**(1): 407–414.
- Slutsky AS, Kamm RD, Rossing TH, Loring SH, Lehr J, Shapiro AH et al. Effects of frequency, tidal volume, and lung volume on  $\text{CO}_2$  elimination in dogs by high frequency (2–30 Hz), low tidal volume ventilation. *J Clin Invest* 1981; **68**: 1475–1484.
- Rieke H, Hook C, Meyer M. Pulmonary gas exchange during high-frequency ventilation in dogs. *Respir Physiol* 1983; **54**: 1–17.
- Watson JW, Jackson AC, Gillespie JR.  $\text{CO}_2$  elimination and airway opening pressure during high frequency oscillation in dogs. *Respir Physiol* 1984; **58**: 235–244.
- Fessler HE, Hager DN, Brower RG. Feasibility of very high-frequency ventilation in adults with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 2008; **36**: 1043–1048.
- HIFI Study Group. High-frequency oscillatory ventilation compared with conventional mechanical ventilation in the treatment of respiratory failure in preterm infants. *N Engl J Med* 1989; **320**: 88–93.
- Jobe AH, Ikegami M. Lung development and function in preterm infants in the surfactant treatment era. *Annu Rev Physiol* 2000; **62**: 825–846.





## Use of very low tidal volumes during high-frequency ventilation reduces ventilator lung injury

Noelia González-Pacheco<sup>1</sup> · Manuel Sánchez-Luna<sup>1</sup> · Paz Chimenti-Camacho<sup>1</sup> · Martín Santos-González<sup>2</sup> · Paula Palau-Concejo<sup>3</sup> · Francisco Tendillo-Cortijo<sup>2</sup>

Received: 26 July 2018 / Revised: 13 December 2018 / Accepted: 28 January 2019  
© Springer Nature America, Inc. 2019

### Abstract

The use of volume guarantee (VG) on high-frequency oscillatory ventilation (HFOV) allows to use fixed very low high-frequency tidal volume (VThf), maintaining adequate CO<sub>2</sub> removal while potentially reducing the risk of ventilator-induced lung injury.

**Objective** To demonstrate that the use of very low VThf can be protective compared with standard VThf on HFOV combined with VG in a neonatal animal model.

**Study design** Experimental study in 2-day-old piglets with induced respiratory distress syndrome ventilated with two different HFOV strategies combined with VG (10 Hz with high VThf versus 20 Hz with very low VThf at similar PaCO<sub>2</sub>). After 12 h of mechanical ventilation, the pulmonary histologic pattern was analyzed.

**Results** We found in the 10 Hz group with the higher VThf compared with the 20 Hz and very low VThf group more evident and more severe histological lesions with inflammatory infiltrate within the alveolar wall and alveolar space, as well as large areas of parenchyma consolidation and areas of alveolar hemorrhage in the more severe cases.

**Conclusion** The use of very low VThf compared with higher VThf at similar CO<sub>2</sub> removal reduces lung injury in a neonatal animal model of lung injury after prolonged mechanical ventilation with HFOV combined with VG.

### Introduction

The pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia (BPD) is multifactorial and is characterized by an arrest of the normal growth and development of the immature lung, and lung injury due to oxygen exposure, “ventilator-induced lung injury” (VILI) and prenatal and postnatal inflammation [1]. VILI is multifactorial, and is believed to be due to a combination of volutrauma and atelectotrauma [2]. Furthermore,

overdistension of the lung stimulates the release of multiple products that promote an inflammatory response. Subsequently, these proinflammatory cytokines attract peripheral leukocytes into the lung amplifying preexisting lung injury and interfering with alveolarization (biotrauma) [3, 4].

It is well known that VILI may be reduced by the use of gentle ventilation strategies based on reducing the magnitude and duration of mechanical ventilation; one of these ventilation strategies consists of using faster ventilator rate to decrease as much as possible tidal volume and to reduce volutrauma and the release of inflammatory mediators, while achieving adequate gas exchange [5, 6].

High-frequency oscillatory ventilation (HFOV) was developed as a promising ventilation technique to decrease VILI, using tidal volumes smaller than anatomical dead space, delivered at frequencies above normal physiological breathing, and superimposed on a continuous positive pressure [7]. Unlike initial results in animal models [8, 9], the use of elective HFOV compared with conventional mechanical ventilation (CMV) has not succeeded in demonstrating significant differences in decreasing the risk of BPD in preterm infants. This lack of difference has

✉ Manuel Sánchez-Luna  
msluna@salud.madrid.org

<sup>1</sup> Neonatology Department, Hospital Universitario Gregorio Marañón, Biomedical Research Institute Gregorio Marañón, Complutense University of Madrid, Madrid, Spain

<sup>2</sup> Medical and Surgical Research Unit, Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Majadahonda, Madrid, Spain

<sup>3</sup> Servicio de Inmunología, Laboratorio de Inmuno-Biología Molecular, Hospital Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain

presumably been attributed to the use of different interventions and individual patients across trials [10] and, what more importantly, to the use of devices that did not measure high-frequency tidal volume (V<sub>Thf</sub>) that might have been larger than the anatomical dead space [11].

During HFOV, CO<sub>2</sub> removal is directly proportional to the square of the V<sub>Thf</sub> and the frequency (fR) by the following equation:  $DCO_2 = V_{Thf}^2 \times fR$ . In the last few years, the emergence of volume guarantee (VG) combined with HFOV has allowed independent adjustment of V<sub>Thf</sub> and frequency [12, 13]. In this way, it is possible to modify the frequency without any effect in the V<sub>Thf</sub>; so, pCO<sub>2</sub> decreases as the frequency is increased and the V<sub>Thf</sub> is fixed [14–16]. Furthermore, it has been possible to develop a new theoretical lung protective strategy based on the use of frequencies higher than normally used (>15 Hz) allowing to reduce the V<sub>Thf</sub> to theoretically minimize volutrauma while maintaining an adequate ventilation (keeping a constant DCO<sub>2</sub> and PCO<sub>2</sub>) [17]. To maintain the V<sub>Thf</sub> set at higher frequencies, a higher proximal oscillation pressure amplitude ( $\Delta Phf$ ) in the circuit could be needed, but it has been demonstrated that distal pressure amplitude does not increase, it may even decrease [18].

So, with this new strategy, very small V<sub>Thf</sub> can be used in a constant way while the frequency is increased to maintain adequate ventilation, and this very small V<sub>Thf</sub> can be protective compared with the standard V<sub>Thf</sub> generated by using lower frequencies.

The aim of the study was to demonstrate the potential protective effect of this new strategy compared with the standard HFOV, by examining histological changes of acute lung injury in a neonatal animal model after 12 hours of ventilation.

## Materials and methods

### Study subjects

Twelve healthy 24- to 48-h old Landrace-Large White piglets were used. Animals were handled according to the European and National Regulations for Protection of Experimental Animals (2010/63/UE and RD 53/2013) and the study was approved by the institutional ethic committee for animal research.

### Anesthesia

General anesthesia was induced via facemask with 8% sevoflurane in oxygen. Then, anesthesia was maintained with an intravenous constant infusion of propofol as needed. Intraoperative analgesia was achieved with intravenous morphine chlorhydrate (1 mg/kg), and muscle relaxation

was induced with intravenous rocuronium (1.5 mg/kg) in this animal model to better analyze lung mechanics without the interference of respiratory muscle activity.

### Experimental protocol

When an adequate level of anesthesia was achieved, a tracheostomy was performed and a tracheal tube (3 mm inner diameter) was placed and sealed with a ribbon wrapped around the trachea to prevent any leak. Furthermore, by surgical cut down, a 24-gauge polyethylene catheter was placed into the internal jugular vein for continuous infusion of dextrose 5% (10 mL/kg/h) and the administration of drugs, and a 20-gauge polyethylene catheter was inserted into the right carotid artery, for arterial blood sampling and continuous blood pressure measurement via a calibrated pressure transducer.

Then, the ventilator (Babylog VN500<sup>®</sup>, Dräger, Lübeck, Germany) was connected to the tracheal tube and adjusted in CMV using Pressure support ventilation (PSV) with VG mode with the following ventilator settings: a positive end-expiratory pressure (PEEP) of 5–6 cmH<sub>2</sub>O, an inspired oxygen fraction (FiO<sub>2</sub>) of 0.3–0.4, a frequency of 40–60 rpm, and a tidal volume (VT) of 6–7 mL/kg. Fine adjustments were done for a target arterial partial pressure of carbon dioxide (PaCO<sub>2</sub>) of 45–60 mm Hg and a target oxygen transcutaneous saturation (SpO<sub>2</sub>) of 90–95%.

Following instrumentation and after a stabilization period of 60 min, bronchoalveolar lavage (BAL) with three aliquots of 10 mL/kg isotonic saline solution warmed to body temperature was used to induce surfactant depletion mimicking neonatal respiratory distress syndrome. Lung dynamic compliance (C<sub>dyn</sub>) was measured before and after BAL to verify a low compliance situation. Then, FiO<sub>2</sub> was increased until 1 and the ventilator was switched to HFOV to carry out a lung volume recruitment maneuver in order to ensure adequate alveolar re-expansion. At first, mean airway pressure (mPaw) was increased from 10 to 25 cm H<sub>2</sub>O in three 1-min stages. Subsequently, FiO<sub>2</sub> was decreased until 0.4 and mPaw was decreased too by 2 cm H<sub>2</sub>O every 30 s until 10 cm H<sub>2</sub>O or 2 cm H<sub>2</sub>O above the critical lung closing pressure (defined as the pressure below which SpO<sub>2</sub> decrease below 90%).

Finally, after lung recruitment was achieved, ventilator settings were adjusted according to the ventilation strategy assigned using random numbers to each group. Three groups were used to better analyze the effect of the two strategies of HFOV and the standard CMV in a similar lung damage situation as a reference.

1. *CMV group*: Animals assigned to this group were ventilated in CMV using PSV with VG mode with the same ventilator settings described above adjusted for the target PaCO<sub>2</sub> of 45–60 mm Hg.

Use of very low tidal volumes during high-frequency ventilation reduces ventilator lung injury

2. *HFOV groups (10 Hz and 20 Hz HFOV groups):* Animals assigned to other two groups were ventilated in HFOV with VG and adjusted to a mPaw of 10 cm H<sub>2</sub>O, an inspired oxygen fraction of 0.3–0.4, an IE ratio of 1:1, a frequency of 10 or 20 Hz, and the VThf guarantee needed to achieved the target PaCO<sub>2</sub> (45–60 mm Hg). Delta pressure ( $\Delta$ Phf) was adjusted by the ventilator to achieve the set VThf.

A 20-gauge polyethylene catheter was advanced to the carina, between the tracheal tube and the trachea for continuous measurement of mPaw at the trachea (mPaw-t) and  $\Delta$ Phf at the trachea ( $\Delta$ Phf-t). Self-adhering patches were applied to the skin for electrocardiography (ECG) and heart rate recording. Pulse oximetry was recorded continuously by placing a pulse oximeter on the paw, and rectal temperature was also monitored and maintained between 36 °C and 38 °C by means of a total temperature management system. Temperature, pulse oximetry, heart rate, arterial blood pressure and airway pressure (referred to a zero level) were registered continuously on a cardiovascular monitor (PM8060 Vítara, Dräger, Lübeck, Germany). Arterial blood was withdrawn anaerobically and immediately analyzed for pH, partial pressure of oxygen (PaO<sub>2</sub>), PaCO<sub>2</sub>, and arterial oxyhemoglobin saturation (SaO<sub>2</sub>) each 2 h, ensuring an adequate ventilation and oxygenation (IL 1306 pH/Blood GasAnalyzer, Allied Instrumentation). Data from the ventilator were exported through the standard USB connection.

After 12 h of ventilation according to the strategy assigned to each group, a new Cdyn measurement was repeated under the same conventional settings on the ventilator. Then, animals were euthanized using a propofol overdose followed by an intravenous bolus of potassium chloride solution (50 mg/kg).

The HFOV was delivered with a Babylog VN500 ventilator (Dräger, Lübeck, Germany). The Babylog VN500 generates a sinusoidal pressure signal around a set mPaw and has an active inspiration and an active expiration. The VG mode is volume-targeted ventilation where the micro-processor compares the VThf of the previous breath, using

leak compensated VThf, and adjusts delta pressure up or down to achieve the set VThf.

**Tissue removal and lung processing**

After midline sternotomy, lungs were removed and inflated with saline solution at a pressure of 20 cm H<sub>2</sub>O. Subsequently, lungs were perfused with saline solution and then, the right lung was fixed with formaldehyde 4%. Small pieces from medial lobe of this lung were removed and stored in the fixation solution at -4 °C. Then, the specimens were embedded in paraffin, sectioned, and stained with hematoxylin and eosin for histological examination.

**Histological examination**

Lung histological damage was quantified by a score using five variables (inflammation, edema, hemorrhage, atelectasis, and emphysema). A predefined injury severity was created and graded for each of the variables [19] as shown in Table 1 (total score between 0 and 20). The pathologists were blinded to the assignment group.

**Statistical analysis**

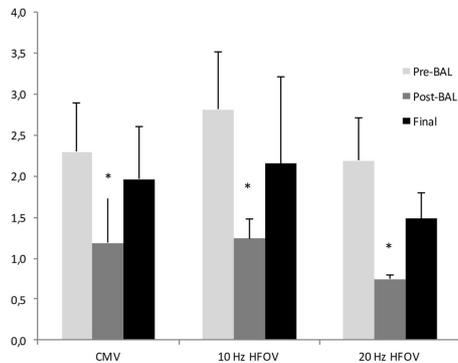
Initially, a sample size of six animals per group was considered adequate based on previous studies. An interim analysis was done by the research team once were included four animals per group to prevent extra experiments; as statistically significant differences were observed at this point, only four animals were used per group, in order to reduce the number of animals used according to the European and National Regulations for Protection of Experimental Animals.

Statistical analysis of data was performed using SPSS 15.0 (SPSS Inc., IL, USA). Following confirmation of normal distribution (Shapiro–Wilk test), dynamic compliance was analyzed using a two-way analysis of variance (ANOVA) for repeated measures followed by Tukey’s test for multiple comparisons. The mean VThf in HFOV groups was analyzed using a *t*-test for unpaired data. These data are presented as means  $\pm$  standard deviation. For

**Table 1** Defined lung histological examination score

Inflammation	0: no injuries were observed or changes observed were within normal limits. 1: mild inflammatory infiltrate within the alveolar wall. 2: medium inflammatory infiltrate within the alveolar wall and the alveolar space. 3: moderate, diffuse, and focal inflammatory infiltrate in the lung parenchyma. 4: severe diffuse inflammatory infiltrate in most areas of lung analyzed.
Edema, hemorrhage, atelectasis, emphysema	0: no injuries were observed or changes observed were within normal limits. 1: mild but not within the normality. 2: medium severity lesions 3: moderate lesions 4: severe lesions in most areas of lung analyzed.

SPRINGER NATURE



**Fig. 1** Dynamic respiratory compliance (Cdyn) pre-BAL, post-BAL, and final. Cdyn was significantly lower in post-BAL compared with pre-BAL for CMV (2.29 ml/cm H<sub>2</sub>O vs 1.19 ml/cm H<sub>2</sub>O;  $p = 0.001^*$ ), 10 Hz (2.81 ml/cm H<sub>2</sub>O vs 1.24 ml/cm H<sub>2</sub>O;  $p = 0.035^*$ ), and 20 Hz groups (2.19 ml/cm H<sub>2</sub>O vs 0.75 ml/cm H<sub>2</sub>O;  $p = 0.006^*$ ). BAL bronchoalveolar lavage, CMV conventional mechanical ventilation, HFOV high-frequency oscillatory ventilation. \* $p < 0.05$

non-parametric data (lung histological score comparison), an ANOVA of Kruskal–Wallis was used. Statistical significance was accepted when  $p < 0.05$ .

**Results**

The mean ( $\pm$  standard deviation, SD) body weight of the piglets were  $2.57 \pm 0.59$  kg. All animals were adequately ventilated and oxygenated. There were no significant differences in hemodynamic parameters between groups.

Cdyn was measured pre- and post-BAL, as well as at the end of the study. As shown in Fig. 1, BAL significantly reduced Cdyn in a similar way in all the groups. At the end of the experiment, Cdyn improved in all groups.

**CMV group**

Piglets in the CMV group needed a VT of  $7.33 \pm 0.20$  ml/kg to achieve the target PaCO<sub>2</sub> of 45–60 mm Hg.

Emphysema was the main lesion in this group. Inflammatory infiltrate and atelectasis were also found in this group. Neither hemorrhage nor edema were found in the animals of this group (Table 2 and Fig. 2).

**HFOV groups**

Piglets in the 20 Hz group needed a lower VT<sub>hf</sub> than those in the 10 Hz group to achieve the target PaCO<sub>2</sub> of 45–60 mm Hg (1.56 ml/kg vs 2.54 ml/kg;  $p = 0.004$ ).

**Table 2** Lung histological examination of HFOV and CMV groups

	10 Hz group				20 Hz group				CMV group			
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Inflammation	3	2	4	3	1	2	0	0	1	1	1	3
Hemorrhage	1	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Atelectasis	2	2	4	3	2	3	1	2	1	1	1	3
Edema	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Emphysema	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	2
Total score	28				11				20			

HFOV high-frequency oscillatory ventilation, CMV conventional mechanical ventilation

More evident and more severe histological lesions were found in the 10 Hz group with the higher VT<sub>hf</sub>. Inflammatory infiltrate was the main lesion in this group, including mononuclear infiltrate of lymphocytes, plasma cells, and macrophages within the alveolar wall and alveolar space, as well as large areas of parenchyma consolidation. Areas of alveolar hemorrhage were found in the more severe cases. Finally, areas of atelectasis were found in most cases. The more severe the inflammation and hemorrhage, the more severe atelectasis was found. Edema and emphysema were not found in this group.

The number of samples with inflammatory infiltrate, as well as its severity in the 20 Hz groups was less than in the 10 Hz group. Atelectasis was the main lesion in the 20 Hz group with the lower VT<sub>hf</sub>, but mild or medium. No hemorrhage, edema, and emphysema were found in this group (Table 2 and Fig. 2).

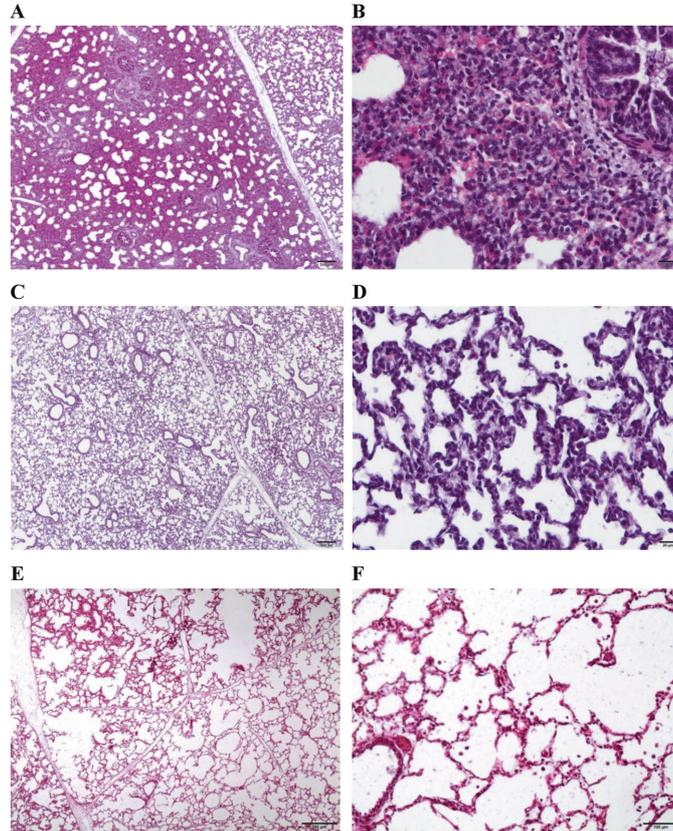
When lung histological score was compared between groups, statistically significant differences were observed for inflammation ( $p = 0.043$ ), hemorrhage ( $p = 0.027$ ), and emphysema ( $p = 0.027$ ).

**Discussion**

We have demonstrated a reduced lung injury histological score with the use of a strategy of lower compared with higher VT<sub>hf</sub> on HFOV combined with VG in an animal neonatal model of lung injury during mechanical ventilation. It has become increasingly evident that lung overdistension by the use of large gas volume is an important factor to induce VILI [20]. Furthermore, Wakabayashi et al. demonstrated that lung-marginated, intravascular monocytes are only activated following lung overstretch, not atelectasis, leading to proinflammatory cytokines production that promote VILI and nonpulmonary organs injury (“biotrauma”) [21]. So, the use of strategies to reduce as much as possible the tidal volume may minimize lung and systemic injury.

Use of very low tidal volumes during high-frequency ventilation reduces ventilator lung injury

**Fig. 2** Lung histological examination. **a, b** 10 Hz high-frequency oscillatory ventilation (HFOV) group. Severe diffuse inflammatory infiltrate and hemorrhage. **c, d** 20 Hz HFOV group. Medium atelectasis. **e, f** Conventional mechanical ventilation (CMV) group. Moderate emphysema with large alveolar rupture



In contrast to HFOV, emphysema was the main lesion in CMV group; inflammatory infiltrate and atelectasis were also found in this group, but milder. Previous experimental models that compared both, HFOV without VG at 10 Hz [22] and 15 Hz [23] and CMV using a protection ventilator strategy with low tidal volume (5–6 mL/kg) and high PEEP (8–10 cm H<sub>2</sub>O) have shown that the use of HFOV was associated with an attenuation of lung inflammation (polymorphonuclear infiltration and tumor necrosis factor- $\alpha$  production in the alveolar space), histopathological changes of the small airways and alveoli and oxidative lung injury. These authors suggested that a more homogeneous lung inflation due to an adequate lung volume recruitment in HFOV may limit alveolar stretch minimizing VILI. No significant differences of inflammation were found between 20 Hz HFOV and CMV groups in our model; however, no emphysema was found in 20 Hz HFOV group compared with the CMV group and the degree of lung histological

damage was greater in CMV group based on our developed score (20 points vs 11 points). We hypothesize that the lower inflation pressure at the alveoli, the minor variations in pressure and volume and the relatively constant lung volume above the functional residual capacity achieved in HFOV compared with CMV, may explain these differences.

We found that when a higher VThf was used in HFOV, there was more evident and severe inflammatory infiltrate, including mononuclear infiltrate of lymphocytes, plasma cells, and macrophages within the alveolar wall and alveolar space, as well as large areas of parenchyma consolidation. Meyer et al. compared lung lesions resulting from two different HFOV regimes in a rabbit model, at 5 Hz and 15 Hz without the combined use of VG, so the higher the frequency, the lower the VThf. They observed a significantly lower neutrophil count within alveoli in animals ventilated with the higher frequency regime (and lower VThf) after 4 h [24]. Furthermore, in a large animal model

SPRINGER NATURE

of acute respiratory distress syndrome, HFOV at higher frequencies (9 Hz vs 3 and 6 Hz) delivered smaller tidal volumes and minimized stress on the lung by reducing lung injury and the expression of inflammatory mediators. Lung histopathology revealed less hemorrhage and neutrophil infiltration in the alveoli and interstitium and less interstitial lymphocyte infiltration in animals ventilated under HFOV at 9 Hz and smaller tidal volumes, compared with lower frequencies, as we showed in our model [25].

So, based on our results, the use of very low tidal volume in HFOV combined with VG, together with an adequate lung volume recruitment, may reduce lung damage in immature infants.

The main limitation of our model was the short duration of the ventilator strategy used, 12 h, which only shows the acute lung injury. However, it is well known that inflammation occurs shortly after birth, driven by antenatal factors in combination with early postnatal exposure to intensive care interventions such as mechanical ventilation; and that this early inflammation plays a critical role in the development of BPD [26]. Thus, any intervention used to reduce lung inflammation in this vulnerable period may be effective to reduce lung damage and BPD. Furthermore, the neonatal animal model used in this study is not defined to reproduce BPD, but it is useful to analyze acute lung damage of mechanical ventilation.

In conclusion, the use of very low tidal volume with increasing frequencies in HFOV combined with VG reduces inflammatory response and lung histological damage. So, this new protective lung strategy may allow minimizing VILI in immature infants in the immediate neonatal period.

**Acknowledgements** The authors thank Dräger Medical GmbH for providing the Babylog VN500 for the present study.

**Funding** This study was supported in part by the National Grant of the Instituto de Salud Carlos III and the Fondo Europeo de Desarrollo Regional, FIS 14/00149.

**Compliance with ethical standards**

**Conflict of interest** MS-L has received advisory board consulting fees from Dräger. The remaining authors declare that they have no conflict of interest.

**Publisher's note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

**References**

1. Coalson JJ. Pathology of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol.* 2006;30:179–84.
2. Gupta S, Sinha SK, Donn SM. Ventilatory management and bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2009;14:367–73.

3. Jobe AH, Ikegami M. Lung development and function in preterm infants in the surfactant treatment era. *Annu Rev Physiol.* 2000;62:825–46.
4. Slutsky AS. Lung injury caused by mechanical ventilation. *Chest.* 1999;116(1 Suppl):9S–15S.
5. Ambalavanan N, Carlo WA. Ventilatory strategies in the prevention and management of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol.* 2006;30:192–9.
6. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Eng J Med.* 2000;342:1301–8.
7. Froese AB, Kinsella JP. High-frequency oscillatory ventilation: lessons from the neonatal/pediatric experience. *Crit Care Med.* 2005;33:S115–21.
8. Hamilton PP, Onayemi A, Smyth JA, Gillan JE, Cutz E, Froese AB, et al. Comparison of conventional and high-frequency ventilation: oxygenation and lung pathology. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.* 1983;55:131–8.
9. Meredith KS, deLemos RA, Coalson JJ, King RJ, Gerstmann DR, Kumar R, et al. Role of lung injury in the pathogenesis of hyaline membrane disease in premature baboons. *J Appl Physiol* (1985). 1989;66:2150–8.
10. Cools F, Offringa M, Askie LM. Elective high frequency oscillatory ventilation versus conventional ventilation for acute pulmonary dysfunction in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;3:CD000104. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD000104.pub4>
11. Leipälä JA, Iwasaki S, Milner A, Greenough A. Accuracy of the volume and pressure displays of high frequency oscillators. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2004;89:F174–6.
12. Sánchez Luna M, Santos González M, Tendillo Cortijo F. High-frequency oscillatory ventilation combined with volume guarantee in a neonatal animal model of respiratory distress syndrome. *Crit Care Res Pract.* 2013;2013:593915. <https://doi.org/10.1155/2013/593915>
13. Iscan B, Duman N, Tuzun F, Kumral A, Ozkan H. Impact of volume guarantee on high-frequency oscillatory ventilation in preterm infants: a randomized crossover clinical trial. *Neonatology.* 2015;108:277–82.
14. Kamitsuka MD, Boynton BR, Villanueva D, Vreeland PN, Frantz ID. Frequency, tidal volume, and mean airway pressure combinations that provide adequate gas exchange and low alveolar pressure during high frequency oscillatory ventilation in rabbits. *Pediatr Res.* 1990;27:64–9.
15. Slutsky AS, Kamm RD, Rossing TH, Loring SH, Lehr J, Shapiro AH, et al. Effects of frequency, tidal volume, and lung volume on CO<sub>2</sub> elimination in dogs by high frequency (2–30 Hz), low tidal volume ventilation. *J Clin Invest.* 1981;68:1475–84.
16. Watson JW, Jackson AC, Gillespie JR. CO<sub>2</sub> elimination and airway opening pressure during high frequency oscillation in dogs. *Respir Physiol.* 1984;58:235–44.
17. González-Pacheco N, Sánchez-Luna M, Ramos-Navarro C, Navarro-Patiño N, de la Blanca AR-S. Using very high frequencies with very low lung volumes during high-frequency oscillatory ventilation to protect the immature lung. A pilot study. *J Perinatol.* 2016;36:306–10.
18. Mukerji A, Belik J, Sanchez-Luna M. Bringing back the old: time to reevaluate the high-frequency ventilation strategy. *J Perinatol.* 2014;34:464–7.
19. Mann PC, Vahle J, Keenan CM, Baker JF, Bradley AE, Goodman DG, et al. International Harmonization of toxicologic pathology nomenclature: an overview and review of basic principles. *Toxicol Pathol.* 2012;40:75–135.
20. Slutsky AS. Ventilator-induced lung injury: from barotrauma to biotrauma. *Respir Care.* 2005;50:646–59.
21. Wakabayashi K, Wilson MR, Tatham KC, O'Dea KP, Takata M. Volutrauma, but not atelectrauma, induces systemic cytokine

Use of very low tidal volumes during high-frequency ventilation reduces ventilator lung injury

---

- production by lung-marginated monocytes. *Crit Care Med.* 2014;42:e49–57.
22. Ronchi CF, dos Anjos Ferreira AL, Campos FJ, Kurokawa CS, Carpi MF, de Moraes MA, et al. High-frequency oscillatory ventilation attenuates oxidative lung injury in a rabbit model of acute lung injury. *Exp Biol Med.* 2011;236:1188–96.
  23. Imai Y, Nakagawa S, Ito Y, Kawano T, Slutsky AS, Miyasaka K. Comparison of lung protection strategies using conventional and high-frequency oscillatory ventilation. *J Appl Physiol.* 2001;91:1836–44.
  24. Meyer J, Cox PN, McKerlie C, Bienze D. Protective strategies of high-frequency oscillatory ventilation in a rabbit model. *Pediatr Res.* 2006;60:401–6.
  25. Liu S, Yi Y, Wang M, Chen Q, Huang Y, Liu L, Xie J, et al. Higher frequency ventilation attenuates lung injury during high-frequency oscillatory ventilation in sheep models of acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology.* 2013;119:398–411.
  26. Leroy S, Caumette E, Waddington C, Hébert A, Brant R, Lavoie PM. A time-based analysis of inflammation in infants at risk of bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr.* 2018;192:60–5.

