

# Modelo de instilación intra-traqueal de jugo gástrico en la rata: curso temporal de las alteraciones histológicas

JOAQUÍN ARAOS B.\*, RAFAEL CONTRERAS L.\*, ANDREA CUTIÑO A.\*,  
MANUEL MENESES C.\*\* y GISELLA BORZONE T.\*

## Intra-tracheal instillation of gastric juice in the rat: time course of histological changes

**Introduction:** Aspiration of gastric content is associated with a wide range of clinical conditions (acute lung injury, severe interstitial pneumonia or bronchiolitis obliterans following lung transplantation). **Objective:** To study the course of histological alterations in a model of intra-tracheal instillation of gastric juice in rats. **Methods:** Anesthetized rats were euthanized at different times: 4, 12 and 24 hours and 4 and 7 days after intratracheal (IT) instillation of gastric juice. Animals that were not intervened served as controls. The right inferior lobe was studied (H-E) and a histological injury score was given according to a recently published score system. **Results:** Between 4-24 h an inflammatory-hemorrhagic pattern with bronchiol-centric distribution was characterized by a large proportion of neutrophils in both alveoli and interstitium, alveolar fluid accumulation, proteinaceous material and few hyaline membranes. Between 4 and 7 days, mononuclear cells were more prevalent, the hemorrhagic component disappeared, the percentage of abnormal bronchioles was significantly reduced and there was organization of the alveolar infiltrate, with Masson bodies, granulomas and giant cells associated with gastric juice particles. **Conclusions:** In rats, IT instillation of gastric juice induces diffuse alveolar damage that evolves towards an early granulomatous interstitial pneumonia along with lax fibrous tissue. Knowledge of the temporary course of the pulmonary responses helps to the understanding of the consequences of the several clinical conditions that favor gastric content aspiration.

**Key words:** Aspiration, animal model, histological score, rat lung.

## Resumen

**Introducción:** La aspiración de contenido gástrico se asocia con diversas condiciones clínicas (daño pulmonar agudo, neumonía intersticial severa o bronquiolitis obliterante post-trasplante). **Objetivo:** Estudiar el curso de las alteraciones histológicas en un modelo de instilación intra-traqueal (IT) de jugo gástrico en ratas. **Métodos:** Ratas anestesiadas recibieron vía IT jugo gástrico de un pool obtenido previamente. Los animales fueron sacrificados a las: 4, 12 y 24 h y 4 y 7 días post-instilación. Animales sin intervención sirvieron como controles. El lóbulo inferior derecho fue estudiado (H-E) para la asignación de un puntaje de daño histológico de acuerdo a un sistema de puntuación recientemente publicado. **Resultados:** Entre 4-24 h se observó un patrón inflamatorio-hemorrágico de distribución bronquiolo-céntrica, con predominio de neutrófilos intersticiales y alveolares, edema, material proteínico alveolar y escasas membranas hialinas. Entre los 4 y 7 días, se observó predominio mononuclear y desaparición del componente hemorrágico, se redujo significativamente el porcentaje de bronquiolos afectados y se observó organización del infiltrado inflamatorio, con cuerpos de Masson, granulomas y células gigantes asociadas a partículas del jugo gástrico. **Conclusiones:** En ratas, la instilación IT de jugo gástrico induce daño alveolar difuso que progresa hacia una neumonía intersticial granulomatosa temprana con tejido fibroso laxo. El conocimiento del curso de la respuesta pulmonar en este modelo, contribuye a comprender las posibles consecuencias de las condiciones clínicas que favorecen la aspiración de contenido gástrico.

**Palabras clave:** Aspiración, modelo animal, puntaje histológico, pulmón de rata.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1120943.

\* Departamento de Enfermedades Respiratorias, Pontificia Universidad Católica de Chile.

\*\* Instituto Nacional del Tórax. Santiago, Chile.

## Introducción

La aspiración de contenido digestivo se asocia con un amplio rango de posibles efectos clínicos, que van desde respuestas leves e inespecíficas a condiciones graves y potencialmente fatales como el distrés respiratorio agudo, la neumonía aspirativa severa, las bronquiectasias, la fibrosis pulmonar y la bronquiolitis obliterante que se presenta en algunos pacientes sometidos a trasplante de pulmón<sup>1-5</sup>.

El contenido digestivo susceptible de aspirarse al pulmón tiene diversos componentes entre los cuales están el ácido clorhídrico, las partículas de alimento, las enzimas digestivas como la pepsina y otras, el mucus y sustancias presentes en el duodeno que pueden pasar al estómago (proteasas y sales biliares), por lo que el daño pulmonar resultante puede variar dependiendo de la proporción en que se encuentre cada uno de estos componentes<sup>6</sup>.

El desarrollo de modelos animales para el estudio de las alteraciones pulmonares en respuesta a la aspiración de contenido digestivo es fundamental para comprender la patogénesis de este proceso<sup>7</sup>. Desde que el año 2000 el modelo de fibrosis pulmonar inducido por bleomicina dejó de ser considerado como modelo de fibrosis pulmonar idiopática, no existe un modelo animal para estudiar esta enfermedad<sup>8</sup>. Dada la elevada prevalencia de reflujo gastro-esofágico proximal con alta probabilidad de aspirarse a la vía aérea en los pacientes con fibrosis pulmonar idiopática, un modelo experimental de aspiración podría ser de gran utilidad.

En general, la estandarización de los modelos de daño pulmonar agudo es compleja. Se han establecido directrices generales para intentar generar modelos que sean, por un lado, comparables entre sí, pero que además tengan valor en su aplicación clínica<sup>9</sup>. Un trabajo reciente indica que la evaluación histológica del daño pulmonar es un aspecto crítico a considerar en un modelo experimental. Sin embargo, enfatiza al mismo tiempo la dificultad que se genera al homologar las metodologías y, por consecuencia los resultados, de un estudio con otro<sup>9</sup>. En respuesta a esto, los autores proponen un sistema de puntaje histológico para evaluar el daño pulmonar agudo por distintos agentes causales. Este puntaje ha sido utilizado en al menos dos publicaciones<sup>10,11</sup>. Una desventaja de este puntaje es que carece de un componente para la evaluación de la respuesta pulmonar sub-aguda.

Frente a estas interrogantes, nuestro objetivo fue evaluar el curso temporal de las alteraciones histológicas pulmonares en un modelo de instila-

ción intra-traqueal (IT) de una dosis única de jugo gástrico en ratas, utilizando el sistema de puntaje recientemente publicado<sup>9</sup> con algunas modificaciones para permitir la evaluación de la etapa siguiente al daño agudo en un intento de establecer un continuo entre las alteraciones pulmonares agudas y sub-agudas que eventualmente pueden llevar al desarrollo de un proceso de cicatrización anormal.

## Métodos

### 1. Animales

El estudio se realizó en ratas adultas de la especie *Sprague-Dawley* (305 ± 19 DS g de peso) de acuerdo a un protocolo aprobado por el Comité de Ética y Bienestar Animal de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

### 2. Obtención de un pool de jugo gástrico

Treinta ratas fueron anestesiadas con una solución de xilazina:ketamina (10:75 mg/kg de peso) administrada por vía intraperitoneal. Se realizó una incisión en la línea media del abdomen superior, para exponer el estómago y la porción proximal del duodeno. Después de ligar a nivel de la unión gastroduodenal, se realizó una gastrotomía y se drenó el jugo gástrico. Este se depositó en un tubo estéril para luego ser filtrado a través de una membrana con poros de 100 µm (BD Falcon<sup>MR</sup>). El jugo gástrico obtenido se congeló a -70° C para su utilización posterior. Una vez finalizada la operación, y aún bajo anestesia, los animales fueron sacrificados mediante exanguinación. El pH de este *pool* fue de 1,0 y la concentración de pepsina de 2 mg · ml<sup>-1</sup>.

### 3. Instilación IT del jugo gástrico

Bajo el mismo protocolo anestésico, varios grupos de animales fueron estudiados. Cada animal fue colocado en una plataforma que permitía mantener elevado el tórax e hiperextendida la cabeza. Se utilizó un otoscopio (Welch Allyn<sup>MR</sup>) para visualizar las cuerdas vocales e instilar durante la inspiración el jugo gástrico (0,5 ml) con la ayuda de una bránula modificada de aproximadamente 20 G conectada a una jeringa. Para asegurar que la dosis de jugo gástrico a instilar entrara realmente en la tráquea, el catéter orotraqueal se posicionó antes de la carina utilizando referencias topográficas. Los animales se recuperaron espontáneamente de la anestesia.

### 4. Grupos de estudio

Estos estuvieron dados por el tiempo al que los animales fueron sacrificados post-instilación: RJ4h: 4 horas (h) (n = 5), RJ12h: 12 h (n = 5),

RJ24h: 24 h (n = 4), RJ4d: 4 días (d) (n = 10), RJ7d: 7d (n = 6). Animales sin intervención sirvieron de control (RJC). Los pulmones fueron extirpados en bloque y el lóbulo inferior del pulmón derecho (LID) fue fijado en formalina por 2 a 3 días a una presión de 20 cm H<sub>2</sub>O, para luego ser embebido en parafina, cortado y teñido con H-E para su evaluación histológica. Para cada LID se realizaron 4 cortes parasagittales, con el objetivo de evaluar zonas cercanas a la vía aérea y a la superficie del pulmón.

**5. Análisis histológico**

Cada corte fue evaluado por el patólogo del grupo de investigación (MMC) por medio de un sistema de puntuación de daño pulmonar agudo recientemente publicado, modificado para incorporar elementos de daño sub-agudo<sup>9</sup>. La Tabla 1 muestra el sistema de puntuación para cada uno de los parámetros evaluados. Brevemente, cada placa (4 por animal) fue analizada para evaluar el componente agudo y sub-agudo que se esperaba encontrar y luego se obtuvo un promedio de las 4 placas. Al realizar este análisis el patólogo no estaba ajeno al tiempo de evolución de las muestras que evaluó. Estudios preliminares mostraron una distribución peribroncovascular del daño por lo que al sistema de puntaje anterior se le incorporó la evaluación del porcentaje de bronquiolos comprometidos en relación al total de bronquiolos observados en la placa.

Para cuantificar la inflamación se realizó un conteo aleatorio de las células tanto a nivel intra-alveolar como intersticial identificando el tipo celular predominante para cada tiempo. Se buscó además la presencia de membranas hialinas y material proteináceo en los espacios alveolares. Para la evaluación del engrosamiento septal, se comparó el grosor del tabique de un alvéolo nor-

mal con el del tabique alveolar más afectado en la placa. Para evitar incluir tabiques falsamente engrosados debido a una inadecuada expansión pulmonar, solamente se compararon unidades alveolares que estuvieran apropiadamente expandidas. Con respecto a los cuerpos de Masson y granulomas (incluyendo en estos a células gigantes), se les asignó la categoría SI cuando existía al menos uno en la placa y NO cuando no se observó ninguno. Los valores se informan como la fracción de animales que presentó cuerpos de Masson y granulomas en relación al total de animales evaluados en cada tiempo.

**6. Análisis estadístico**

Se utilizó análisis de varianza por el método de Kruskal-Wallis. Los resultados se expresan como medias ± 1 DS, considerándose significativo un valor de p < 0,05. Se utilizó el programa estadístico GraphPad Prism 6.

**Resultados**

En las Figuras 1 y 2 se observan los hallazgos histológicos más relevantes para los diferentes tiempos evaluados en este estudio.

En la Figura 3a se observa el porcentaje de bronquiolos que presentan infiltrado intersticial peribronquiolar (inflamatorio-hemorrágico entre 4 y 24 h, e inflamatorio-granulomatoso después de las 24 h). El porcentaje de bronquiolos comprometidos es de 54-75% entre las 4 y 24 h y cae a los 4 y 7 d, pero se mantiene por sobre el grupo control (30%). La Figura 3b muestra el puntaje de engrosamiento del tabique alveolar, que alcanza el puntaje máximo durante todo el período evaluado después de las 4 h.

Las Figuras 4a y b muestran el puntaje de inflamación intra-alveolar e intersticial. El puntaje de inflamación se mantuvo elevado entre las 4 h y los 7 d. Sin embargo, el tipo celular predominante cambió de polimorfonuclear neutrófilo a mononuclear entre las 24 h y los 4 d.

La Figura 4c muestra el puntaje de membranas hialinas. Se observa un aumento significativo a las 12 h, mientras que a las 4 y 24 h y a los 4 y 7 d no se observan diferencias con el grupo control. La Figura 4d muestra el puntaje de material proteináceo intra-alveolar. Este es significativamente mayor entre las 4 y 24 h y cae a valores control a los 4 y 7 días.

Con respecto a la formación de granulomas, estos se observan en casi un 100% de los animales entre los 4 y 7 días (Figura 5a). Al igual que para granulomas, entre las 4 y 24 h no se observan cuerpos de Masson (Figura 5b). Estos se

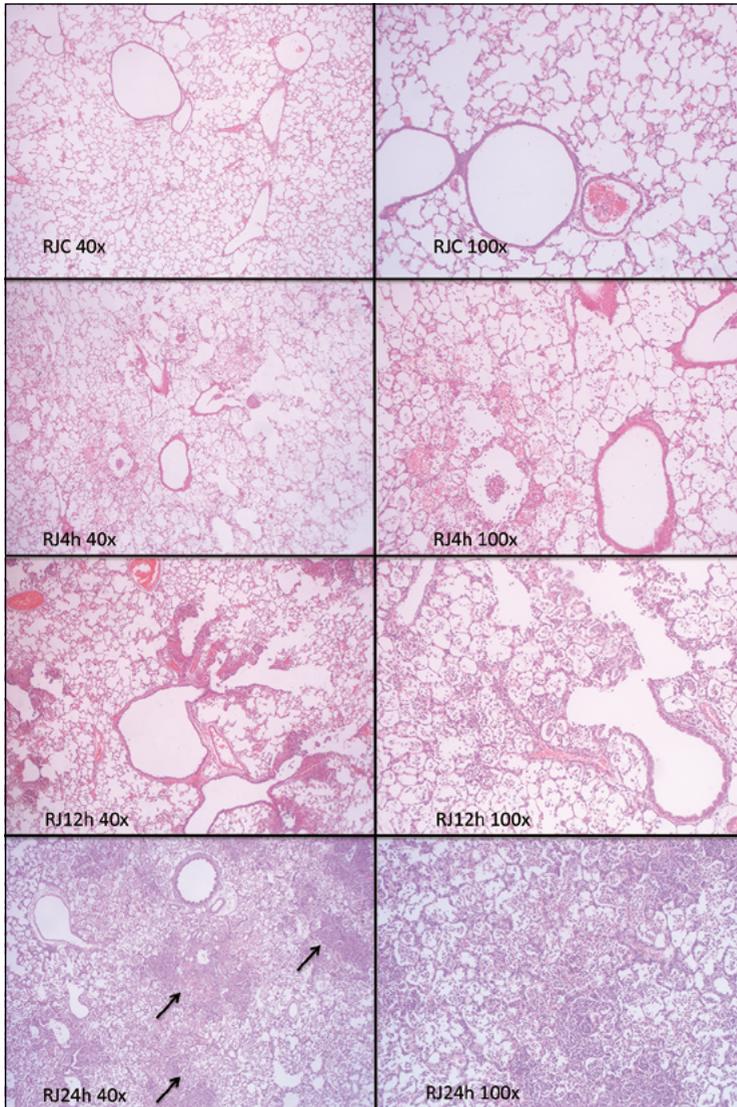
**Tabla 1. Sistema de puntaje de daño pulmonar**

A)

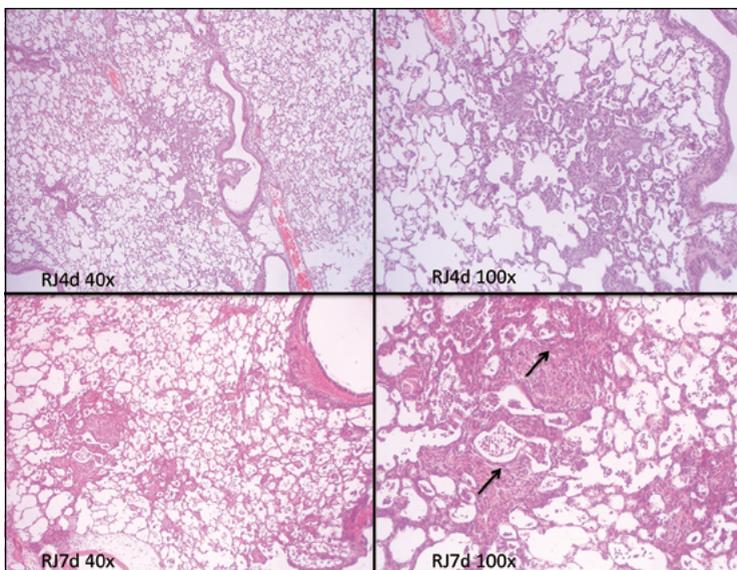
Parámetros de daño agudo	Puntaje		
	0	1	2
A. Infiltrado alveolar	0	1 a 5	> 5
B. Infiltrado intersticial	0	1 a 5	> 5
C. Membranas hialinas	0	1 a 10	> 10
D. Material proteináceo	0	1 a 10	> 10
E. Engrosamiento septal	< 2x	2x a 4x	>4x

B)

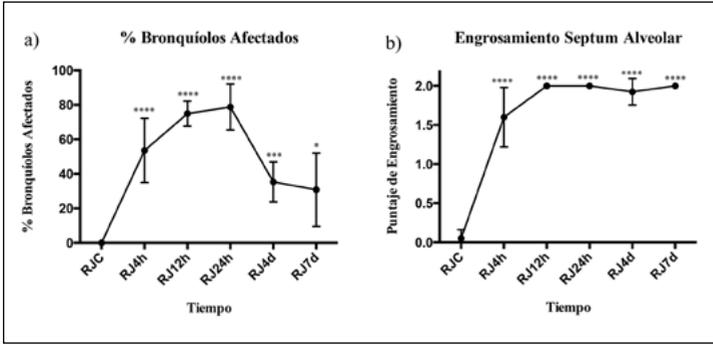
Parámetros de daño sub-agudo	Categoría	
G. Cuerpos de Masson	Presente	Ausente
H. Granulomas y células gigantes	Presente	Ausente



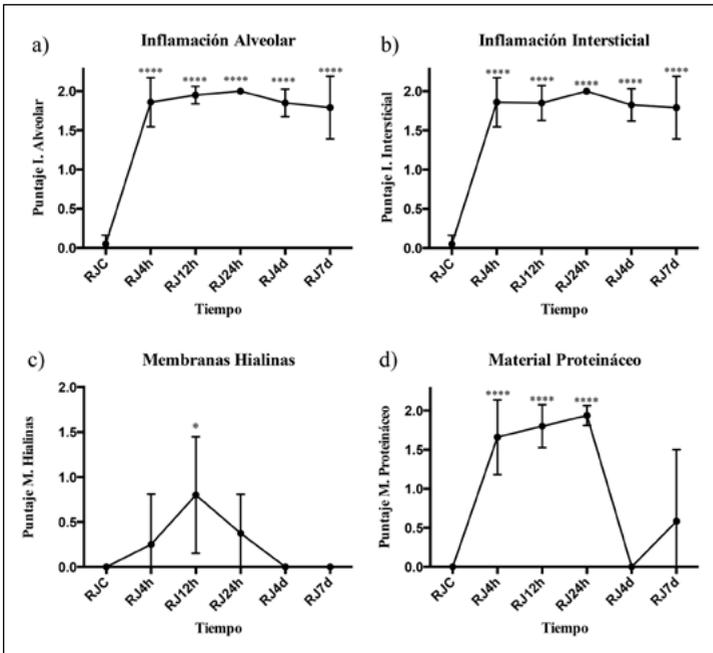
**Figura 1.** Cambios histológicos en el pulmón de la rata a las 4, 12 y 24 h después de la instilación intra-traqueal de jugo gástrico. Tinción con hematoxilina-eosina. Aumento de 40x a la izquierda y 100x a la derecha. Se observa un infiltrado inflamatorio-hemorrágico con abundante material proteináceo de distribución peribronquiolar con tendencia a la confluencia de áreas inflamatorias vecinas (flechas), en especial a las 24 h.



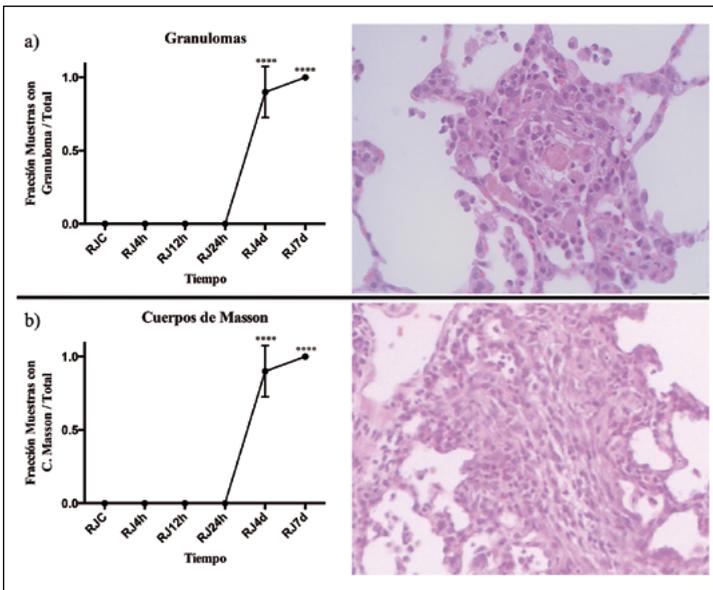
**Figura 2.** Cambios histológicos en el pulmón de la rata a los 4 y 7 d después de la instilación intra-traqueal de jugo gástrico. Tinción con hematoxilina-eosina. Aumento de 40x a la izquierda y de 100x a la derecha. A los 4 y 7 días destaca la aparición de cuerpos de Masson, granulomas y células gigantes multinucleadas y la organización del exudado inflamatorio con zonas de fibrosis (flechas) en las áreas peribronquiolares.



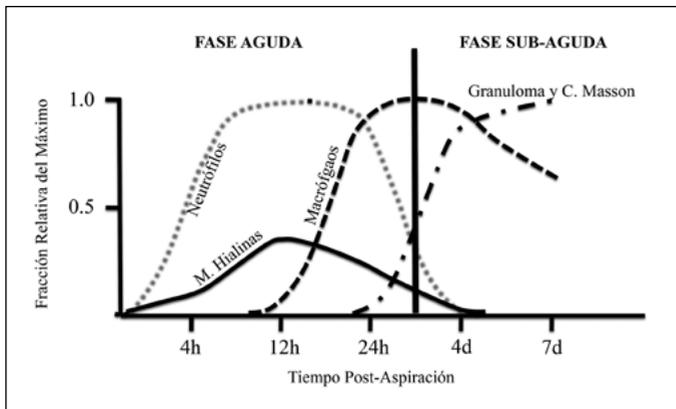
**Figura 3.** a) Porcentaje de bronquiolos afectados; b) Puntaje de engrosamiento del septum alveolar. Valores expresados como media  $\pm$  1DS. \* $p < 0,05$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$ , comparado con el control.



**Figura 4.** Puntaje obtenido para: a) inflamación intra-alveolar; b) inflamación intersticial; c) presencia de membranas hialinas, y d) presencia de material proteínáceo. Valores expresados como media  $\pm$  1 DS. \* $p < 0,05$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$ , comparado con el control.



**Figura 5.** a) Fracción de muestras con presencia de granulomas respecto del total de muestras; b) Fracción de muestras con presencia de cuerpos de Masson respecto del total de muestras. Valores expresados como media  $\pm$  1 DS. \*\*\*\* $p < 0,0001$ , comparado con el control. La foto superior derecha corresponde a un granuloma mientras que la foto inferior derecha muestra un cuerpo de Masson.



**Figura 6.** Esquema que resume el curso temporal de las alteraciones pulmonares post-institilación intra-traqueal de jugo gástrico, elaborado en base a los puntajes obtenidos para cada parámetro con respecto al puntaje máximo posible.

hacen aparentes a los 4 y 7 días con frecuencias de presentación similares a lo descrito para los granulomas.

La Figura 6 resume de forma esquemática la duración y magnitud relativa de los hallazgos histológicos más relevantes.

## Discusión

El estudio de las alteraciones histológicas inducidas en el pulmón por el jugo gástrico instilado por vía IT permite establecer una secuencia de alteraciones que: a) se inicia con lo que se conoce como daño alveolar difuso (DAD) localizado a la región peribronquiolar, con aumento de la permeabilidad alvéolo-capilar e infiltración por células inflamatorias que engruesan el intersticio y ocupan el espacio alveolar; b) continúa con un patrón de neumonía en organización con formación de cuerpos de Masson y c) evoluciona a un patrón de neumonía intersticial granulomatosa con células gigantes multinucleadas de distribución peribronquiolar y focos de tejido fibroso laxo.

La literatura existente es controversial respecto a las consecuencias pulmonares de la aspiración<sup>12,13</sup>. Existen estudios que intentan aproximarse al tema examinando el efecto de la instilación de ácido clorhídrico a nivel pulmonar. Un estudio en ratas encontró que la instilación de ácido clorhídrico a un pH similar al del contenido gástrico, produce alteraciones histológicas semejantes a las encontradas en las primeras horas en nuestro estudio (incluyendo edema, hemorragia alveolar e inflamación de predominio neutrofílico)<sup>13</sup>. Por otro lado, estudios más recientes han evaluado de forma separada el efecto de distintos componentes del jugo gástrico (ácido y partículas de alimento libres de ácido), encontrando que el determinante principal del daño pulmonar

sería el contenido del material particulado, más que la acidez<sup>12</sup>. Las alteraciones histológicas observadas como efecto de las partículas en el trabajo de Downing y cols., fueron similares a las encontradas en la etapa sub-aguda de nuestro modelo (neumonía intersticial con formación de granulomas y células gigantes multinucleadas)<sup>12</sup>. En base a los efectos diferentes de los distintos componentes del jugo gástrico, los autores concluyen que es probable que las consecuencias histológicas de la aspiración aguda sean distintas de las que se observan con la aspiración crónica, de modo que las alteraciones histológicas agudas dependerían del contenido ácido, mientras que las crónicas de la presencia de material particulado<sup>12</sup>.

Los escasos trabajos disponibles en la literatura que abordan el efecto del jugo gástrico en el pulmón adolecen del problema de estudiar sólo las etapas relativamente más tardías (1 semana), sin evaluar el efecto en las primeras horas, lo que permitiría entender como las alteraciones precoces evolucionan a alteraciones crónicas<sup>12,14</sup>. En nuestro estudio, la evaluación histológica seriada nos permitió demostrar claramente la interdependencia existente entre las alteraciones agudas y sub-agudas que ocurren luego de la aspiración de jugo gástrico. Knight y cols.<sup>6</sup>, observaron que el daño producido por el componente ácido determina una respuesta pulmonar difusa que, histológicamente, comienza a las 6 h, pero que se autolimita a 48 h post-instilación, mientras que la instilación de material particulado sin ácido genera una respuesta levemente más tardía, pero que se perpetúa, generando un patrón granulomatoso que comienza a las 48 h. Además, ellos encontraron que la instilación de una mezcla de ácido con material particulado es capaz de generar un daño histológico sinérgico. Si bien nosotros no evaluamos la diferencia entre al daño asociado a la instilación de ácido y de material particulado

por separado, sí confirmamos que, utilizando un jugo gástrico completo, se genera un daño agudo con las características de DAD que luego evoluciona hacia un patrón organizativo y de tipo granulomatoso. Por lo tanto, nuestros resultados muestran que la fase granulomatosa deriva de una respuesta inicial correspondiente al diagnóstico de DAD y que no son entidades independientes.

Existe evidencia que permite establecer un posible vínculo patogénico entre la aspiración de contenido gástrico y la generación de enfermedades pulmonares crónicas como neumonía granulomatosa bronquiolo-céntrica y fibrosis pulmonar idiopática (IPF)<sup>2,15</sup>. Por ejemplo, se ha visto que en pacientes con neumonía granulomatosa de tipo bronquiolo-céntrica de larga data y con diagnóstico concomitante de reflujo gastro-esofágico, la terapia anti-reflujo es efectiva en detener y revertir la enfermedad pulmonar<sup>15</sup>. Esta asociación ha sido recientemente sugerida para pacientes con IPF, entidad clínica que se asocia con una alta prevalencia de reflujo gastro-esofágico proximal, con elevada probabilidad de ser aspirado al pulmón<sup>15</sup>. El hallazgo de que el engrosamiento anormal del septum alveolar persistió hasta los 7 días, sumado a la abundante presencia de cuerpos de Masson (nódulos de tejido intraluminal con un estroma de soporte fibroblástico y células pleomórficas en su interior)<sup>16</sup> en las vías aéreas terminales indica la existencia de un fenómeno de tipo proliferativo. El significado que se puede atribuir al hallazgo de los cuerpos de Masson en este estudio, es que permitirían inferir que la aspiración de contenido gástrico determina una respuesta inflamatoria aguda que conduciría a un patrón organizativo con cuerpos fibrosos (Masson) que alteran la arquitectura pulmonar normal.

Basados estrictamente en este modelo, es imposible determinar si estos animales habrían evolucionado hacia un cuadro más grave, en caso de haberlos evaluado más tardíamente. Sin embargo, y aún si este no fuera el caso, nuestros resultados son alentadores en la búsqueda de establecer un modelo para estudiar fibrosis. Los granulomas son agregados de células multinucleadas gigantes que rodean al material extraño. Se ha postulado que si la enfermedad granulomatosa se perpetúa en el tiempo, el paso siguiente sería la acumulación de fibroblastos alrededor y dentro del granuloma, estableciéndose eventualmente la fibrosis como tal<sup>17</sup>. Los macrófagos, células predominantes en la estructura del granuloma, son capaces de liberar numerosos mediadores que modulan la función de los fibroblastos, incluyendo a TNF $\alpha$ , TGF B-1, IL-1 $\beta$ , entre otros<sup>17</sup>.

La utilización del puntaje histológico sugerido

por Matute-Bello y cols<sup>9</sup>, fue útil para evaluar la fase aguda del daño. Sin embargo fue necesario modificarlo. Un aspecto incluido en nuestro puntaje fue la evaluación de los bronquiolos afectados respecto del total. Este aspecto fue clave en la evaluación del daño inducido por instilación de jugo gástrico debido a que la distribución de las alteraciones fue predominantemente peribronquiolar.

Por otro lado, el puntaje de Matute-Bello y cols<sup>9</sup>, otorga pesos relativos a cada parámetro evaluado, y entrega finalmente un puntaje único que es un continuo entre 0 y 1. En nuestro estudio evaluamos cada parámetro como un puntaje independiente y comparamos a los grupos por cada uno de estos parámetros. Un puntaje único e integrativo de todos los parámetros evaluados es importante como herramienta para comparar globalmente entre grupos estudiados y entre estudios de diferentes autores, mientras que la puntuación de parámetros individuales es útil para cuantificar y así discriminar aquellos aspectos más afectados y relevantes de estudiar para cada modelo de injuria pulmonar particular.

El puntaje observado para la formación de membranas hialinas fue relativamente bajo, incluso en las etapas iniciales de la respuesta pulmonar. Las membranas hialinas son consideradas como la marca histológica distintiva del daño pulmonar agudo. Es posible que las ratas tengan una capacidad limitada para formar membranas hialinas, dado que se ha descrito que estas estructuras no se observan frecuentemente en modelos murinos<sup>9</sup>. Si bien es posible que nuestro sistema, en comparación al propuesto por Matute-Bello y cols<sup>9</sup>, pudiera estar subestimando la presencia de membranas hialinas (puesto que en su estudio la presencia de más de una membrana hialina por campo observado, recibe el puntaje máximo mientras que en el nuestro solo aquellas muestras con más de 10 membranas reciben tal puntaje) esto es poco probable. En su estudio, los autores incluyen la observación de sólo 5 campos para determinar la presencia o ausencia de membranas hialinas, mientras que en el nuestro, si bien el punto de corte para otorgar un puntaje máximo es mayor, se observó toda la placa y no solamente campos aislados de ésta en busca de membranas hialinas.

La evaluación del daño en etapas posteriores a los 4 días requiere complementar el puntaje para daño pulmonar agudo con otro que evalúe la formación de granulomas y cuerpos de Masson. A diferencia de la metodología utilizada para evaluar los aspectos agudos de nuestro modelo, la descripción de la etapa sub-aguda fue cualitativa.

Esto se debió principalmente al desconocimiento de las características de esta fase previo al diseño del sistema de puntaje. En estudios futuros será necesario cuantificar en cada corte histológico el número de granulomas y cuerpos de Masson.

En conclusión, este estudio es relevante por varios motivos. En primer lugar, demuestra que las alteraciones granulomatosas observadas a fines de la primera semana se originan de una respuesta inicial aguda, histológicamente diferente, y compatible con el diagnóstico de DAD. Demostramos así, una continuidad que vincula al daño agudo con el sub-agudo, sugiriendo la posibilidad de que existan efectos similares en el ser humano. En segundo lugar, los resultados indican que, a pesar de que se logró un modelo de neumonía intersticial granulomatosa temprana y no de fibrosis, es factible esperar que la instilación repetida y frecuente de jugo gástrico conduzca a alteraciones más severas que eventualmente lleven a la formación de cicatrización pulmonar anormal. Por último, la modificación del puntaje de daño pulmonar agudo de Matute-Bello y cols.<sup>9</sup>, incluyendo criterios de evaluación de la distribución del daño (porcentaje de bronquiolos afectados *versus* el total) y de parámetros cualitativos para evaluar la respuesta pulmonar en su fase sub-aguda podría ser aplicable a otros modelos de injuria pulmonar de distribución bronquiolo-céntrica.

## Bibliografía

- 1.- BLONDEAU K, MERTENS V, VANAUDENAERDE B A, VERLEDEN G M, VAN RAEMDONCK D E, SIFRIM D, et al. Gastro-oesophageal reflux and gastric aspiration in lung transplant patients with or without chronic rejection. *Eur Respir J* 2008; 31: 707-13.
- 2.- SAVARINO E, CARBONE R, MARABOTTO E, FURNARI M, SCONFENZA L, GHIO M, et al. Gastro-oesophageal reflux and gastric aspiration in idiopathic pulmonary fibrosis patients. *Eur Respir J* 2013; 42: 1322-31.
- 3.- HARTWIG M G, APPEL J Z, LI B, HSIEH C, HAN YOON Y, LIN S, et al. Chronic aspiration of gastric fluid accelerates pulmonary allograft dysfunction in a rat model of lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 131: 209-17.
- 4.- LI B, HARTWIG M G, APPEL J Z, BUSH E L, BALSARA K R, HOLZKNECHT Z E, et al. Chronic aspiration of gastric fluid induces the development of obliterative bronchiolitis in rat lung transplants. *Am J Transplant* 2008; 8: 1614-21.
- 5.- KENNEDY T P, JOHNSON K J, KUNKEL R G, WARD P A, KNIGHT P R, FINCH J S. Acute acid aspiration lung injury in the rat: biphasic pathogenesis. *Anesth Analg* 1989; 69: 87-92.
- 6.- KNIGHT P R, RUTTER T, TAIT A R, COLEMAN E, JOHNSON K. Pathogenesis of gastric particulate lung injury: a comparison and interaction with acidic pneumonitis. *Anesth Analg* 1993; 77: 754-60.
- 7.- BASTARACHE J A, BLACKWELL T S. Development of animal models for the acute respiratory distress syndrome. *Dis Model Mech* 2009; 2: 218-23.
- 8.- BORZONE G, MORENO R, URREA R, MENESES M, OYARZÚN M, LISBOA C. Bleomycin-induced chronic lung damage does not resemble human idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1648-53.
- 9.- MATUTE-BELLO G, DOWNEY G, MOORE B B, GROSHONG S D, MATTHAY M A, SLUTSKY A S, et al. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011; 44: 725-38.
- 10.- PATEL B V, WILSON M R, TAKATA M. Resolution of acute lung injury and inflammation: a translational mouse model. *Eur Respir J* 2012; 39: 1162-70.
- 11.- GROMMES J, VIJAYAN S, DRECHSLER M, HARTWIG H, MÖRGELIN M, DEMBINSKI R, et al. Simvastatin Reduces Endotoxin-Induced Acute Lung Injury by Decreasing Neutrophil Recruitment and Radical Formation. *PlosOne* 2012; 7: e38917.
- 12.- DOWNING T E, SPORN T A, BOLLINGER R, DAVIS R D, PARKER W, LIN S S. Pulmonary histopathology in an experimental model of chronic aspiration is independent of acidity. *Exp Biol Med (Maywood)* 2008; 233: 1202-12.
- 13.- JAMES C F, MODELL J H, GIBBS C P, KUCK E J, RUIZ B C. Pulmonary aspiration-effects of volume and pH in the rat. *Anesth Analg* 1984; 63: 665-8.
- 14.- APPEL J Z, LEE S M, HARTWIG M G, LI B, HSIEH C, CANTU E, et al. Characterization of the innate immune response to chronic aspiration in a novel rodent model. *Respir Res* 2007; 8: 87.
- 15.- BARNES T W, VASALLO R, TAZELAAR H D, HARTMAN T E, RYU J H. Diffuse bronchiolar disease due to chronic occult aspiration. *Mayo Clin Proc* 2006; 81: 172-6.
- 16.- HERBUT P A. MANGES W E. The "Masson Body" in Rheumatic Pneumonia. *Am J Pathol* 1945; 21: 741-51.
- 17.- MORNEX J F, LEROUX C, GREENLAND T, ECOCHARD D. From granuloma to fibrosis in interstitial lung diseases: molecular and cellular interactions. *Eur Respir J* 1994; 7: 779-85.

Correspondencia a:  
 Dr. Joaquín Araos B.  
 Departamento Enfermedades Respiratorias, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. Marcoleta 350. Santiago, Chile.  
 Email: juaccoco@gmail.com