

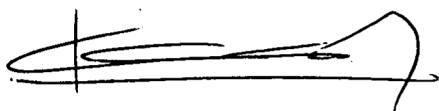
UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE BIOLOGIA

**COMPOSICION DE LOS GASES PULMONARES EN RELACION A DISTINTAS
TEMPERATURAS EN LA TORTUGA *Mauremys caspica***

Memoria presentada por
TERESA PAGES COSTAS para
optar al Grado de Doctor
en Biología.

El director de la Tesis:



Prof. Dr. Luis Palacios Raufast

Catedrático de Fisiología

Departamento de Bioquímica y Fisiología

Universidad de Barcelona

Barcelona, Abril de 1990

AGRADECIMIENTOS

Al concluir un trabajo cuyo desarrollo ha durado tantos años y costado tantos esfuerzos y que suele suponer el cierre de una etapa en la vida profesional, es lógico hacer una pequeña revisión de todas aquellas personas que más o menos directamente han contribuido a que se pudiera realizar este trabajo. A todos ellos y sin querer caer en el error de olvidar a nadie, les agradezco la ayuda prestada.

De forma particular, deseo expresar mi agradecimiento:

Al Prof. Dr. Luis Palacios Raufast por haber aceptado la dirección de esta Tesis, así como por la valiosa ayuda científica que constantemente me ha ofrecido, brindándome además de sus amplios conocimientos, su más sincera y generosa amistad.

Así mismo quiero hacer extensiva mi gratitud al Prof. Dr. José Planas Mestres por los consejos y orientaciones prestados, así como por haberme introducido en el campo de la investigación científica, ayudándome a descubrir su profundo significado.

Especial mención deseo hacer a la inapreciable ayuda prestada por José F. Fuster, especialmente en la obtención de muestras y análisis, además de por su constante colaboración.

Agradezco también a Juan Carlos Gutiérrez Buendía su colaboración, tanto en la consecución de los contactos y permisos necesarios con la Agencia del Medio Ambiente de La Junta de Andalucía en Almería, como en la captura directa de los animales con los que he trabajado, en detrimento de su tiempo libre.

Expreso también mi agradecimiento a todos los compañeros de la Unidad de Fisiología Animal, que de alguna manera han contribuido en el presente estudio, ofreciéndome su desinteresada colaboración.

De forma muy particular agradezco al Dr. Ginés Viscor, mi compañero dentro y fuera del trabajo, el apoyo tanto científico como moral que me ha prestado día a día y a lo largo de todos estos años, animándome en los momentos necesarios y sufriendo con resignación mis interferencias en su trabajo.

Quiero dedicar además un agradecimiento muy especial a Daniel y Víctor por haber tenido que soportar la merma de dedicación hacia ellos que ha representado el llevar a término esta Tesis.

SIMBOLOS Y DEFINICIONES 1

1. INTRODUCCION 4

1.1. DESCRIPCION E INTERES DEL TEMA 5

1.2. VENTILACION EN LOS REPTILES 7

1.2.1. DESCRIPCION GENERAL 7

1.2.2. MODELOS DE PULMONES Y MECANISMOS VENTILATORIOS 12

1.2.3. MECANICA PULMONAR 24

1.2.4. CONTROL Y REGULACION DE LA VENTILACION 30

1.2.4.1. Agentes reguladores 34

1.2.4.1.1. Oxígeno 35

1.2.4.1.2. Anhídrido carbónico 36

1.2.4.1.3. Variaciones del equilibrio ácido-básico 36

1.2.4.2. Mecanismos reguladores de la ventilación 38

1.2.4.2.1. Organización de un sistema ventilatorio neuromecánico 38

1.2.4.2.2. Estímulos respiratorios 43

1.2.4.2.2.1. *Hipoxia* 43

1.2.4.2.2.2. *Hipercapnia* 44

1.2.4.2.3. Mecanismos ventilatorios para el control del equilibrio ácido-básico 48

1.2.4.3. Factores que afectan la respiración 51

1.3. BASE TEORICA 56

1.3.1. DIAGRAMA VOLUMEN-PRESION 56

1.3.2. DIAGRAMA O₂-CO₂ 63

1.3.2.1. Gases pulmonares 63

1.3.2.1.1. Gas inspirado, espirado y alveolar 64

1.3.2.1.2. Espacio muerto anatómico y fisiológico 66

1.3.2.2. Ventilación alveolar. Presiones alveolares 68

1.3.2.3. Intercambio gaseoso: cociente respiratorio (R) 70

| | |
|---|-----|
| 1.3.2.4. Diagrama O ₂ -CO ₂ : Descripción | 72 |
| 1.3.2.5. Diagrama triaxial | 81 |
| 1.3.3. EQUILIBRIO ACIDO-BASE Y TEMPERATURA: REGULACION VENTILATORIA | 84 |
| 1.4. AJUSTES TERMICOS EN LOS REPTILES | 88 |
| 1.4.1 TERMORREGULACION DESCRIPCION GENERAL | 88 |
| 1.4.2. TASAS TERMICAS EN REPTILES | 99 |
| 1.5. OBJETIVOS DE LA TESIS | 102 |
| <u>2. MATERIAL Y METODOS</u> | 103 |
| 2.1. ANIMALES | 104 |
| 2.1.1. DESCRIPCION | 104 |
| 2.1.2. CAPTURA | 104 |
| 2.1.3. MANTENIMIENTO | 105 |
| 2.2. TECNICAS QUIRURGICAS Y OBTENCION DE MUESTRAS | 105 |
| 2.2.1. ANESTESIA | 105 |
| 2.2.2. CANULACION PULMONAR | 105 |
| 2.2.3. CANULACION TRAQUEAL | 106 |
| 2.2.4. MEDIDA DEL ESPACIO MUERTO ANATOMICO | 107 |
| 2.2.5. OBTENCION DE GASES ESPIRADOS | 107 |

| | |
|--|------------|
| 2.3. OBTENCION DE DATOS Y REGISTROS | 108 |
| 2.3.1. TEMPERATURAS | 108 |
| 2.3.2. FRECUENCIAS VENTILATORIAS | 109 |
| 2.3.3. CURVA DE PRESION-VOLUMEN | 110 |
| 2.3.3.1. Compliancia | 110 |
| 2.3.3.2. Histéresis | 111 |
| 2.3.3.3. Volumen pulmonar | 111 |
| 2.3.3.4. Trabajo ventilatorio | 112 |
| 2.4. TECNICAS ANALITICAS DE GASES Y CALCULO DE PARAMETROS RESPIRATORIOS | 113 |
| 2.4.1. ANALISIS DE GASES PULMONARES Y ESPIRADOS | 113 |
| 2.4.1.1. Descripción del analizador de gases (Scholander) | 113 |
| 2.4.1.2. Transferencia y lectura de las muestras | 114 |
| 2.4.1.3. Reactivos | 117 |
| 2.4.2. CALCULO DE PARAMETROS RESPIRATORIOS | 118 |
| 2.4.2.1. Concentraciones fraccionales de las muestras de gas pulmonar en seco | 118 |
| 2.4.2.2. Conversión de las concentraciones fraccionales a presiones parciales | 119 |
| 2.4.2.3. Parámetros de gases espirados: V_E , \dot{V}_E , \dot{V}_{CO_2} , \dot{V}_{O_2} , R | 120 |
| 2.4.2.4. Intercambio de gas alveolar y ventilación alveolar | 126 |
| 2.4.2.4.1. Gas alveolar | 126 |
| 2.4.2.4.2. Ventilación alveolar | 127 |
| 2.4.2.4.3. Cálculo de la ventilación relativa y del equivalente ventilatorio | 128 |
| 2.4.2.5. Cálculo del cociente respiratorio instantáneo (Ri) | 130 |

| | |
|---|------------|
| 2.5. PROTOCOLOS EXPERIMENTALES | 133 |
| 2.5.1. EXPERIENCIAS EN REGIMEN ESTABLE A TEMPERATURAS CONSTANTES | 133 |
| 2.5.1.1. Ventilación espontánea | 133 |
| 2.5.1.2. Gases espirados | 134 |
| 2.5.1.3. Diagrama Volumen-Presión (Adaptabilidad pulmonar) | 134 |
| 2.5.2. EXPERIENCIAS DINAMICAS DE TERMORREGULACION | 136 |
| 2.5.2.1. Tasas de variación térmica | 136 |
| 2.5.2.2. Evolución de los gases pulmonares durante calentamiento y enfriamiento | 137 |
| 2.6. ANALISIS ESTADISTICOS | 138 |
| | |
| <u>3. RESULTADOS</u> | 139 |
| | |
| 3.1. ADAPTABILIDAD PULMONAR (COMPLIANCIA) | 140 |
| 3.1.1. DIAGRAMA VOLUMEN-PRESION | 140 |
| 3.1.2. VOLUMENES PULMONARES | 146 |
| 3.1.3. TRABAJO VENTILATORIO PULMONAR | 151 |
| 3.2. VENTILACION EN REGIMEN ESTABLE | 153 |
| 3.2.1. DIAGRAMA O ₂ -CO ₂ Y TEMPERATURA | 153 |
| 3.2.2. GASES ESPIRADOS Y TEMPERATURA | 176 |
| 3.3. VENTILACION EN REGIMENES TRANSITORIOS TERMICOS | 191 |
| 3.3.1. VARIACION DE LA P _{ACO₂} CON LA TEMPERATURA: CICLO DE HISTERESIS | 191 |

3.3.2. TASA DE INTERCAMBIO RESPIRATORIO FRENTE A VARIACIONES TERMICAS 193

3.4. ACLIMATAACION 195

3.4.1. TEMPERATURAS AMBIENTALES 195

3.4.2. TASAS TERMICAS 197

3.4.3. AJUSTES TERMICOS 206

4. DISCUSION 212

4.1. ADAPTABILIDAD PULMONAR 213

4.1.1. DIAGRAMA VOLUMEN-PRESION 213

4.1.2. VOLUMENES PULMONARES 215

4.1.3. TRABAJO VENTILATORIO PULMONAR 217

4.2. VENTILACION EN REGIMEN ESTABLE 219

4.2.1. DIAGRAMA O₂-CO₂ Y TEMPERATURA 219

4.2.1.1. Presiones alveolares de O₂ y CO₂ 219

4.2.1.2. Tasas de intercambio respiratorio instantáneo (R_i) 220

4.2.1.3. Ventilación alveolar relativa y P_{Aco2} 221

4.2.2. DISTINTOS PARAMETROS VENTILATORIOS CON RESPECTO A VARIACIONES TERMICAS 223

4.2.2.1. Frecuencias 223

4.2.2.2. Ventilación minuto (\dot{V}_E), volumen corriente (V_T), volumen del espacio muerto fisiológico (V_D) 224

4.2.2.3. Tasas de intercambio de gas (\dot{V}_{CO_2} , \dot{V}_{O_2}), equivalente ventilatorio (\dot{V}_E/\dot{V}_{O_2}), ventilación relativa (\dot{V}_E/\dot{V}_{CO_2}) 229

4.2.2.4. Cociente respiratorio (R_E) 236

4.3. VENTILACION EN REGIMENES TRANSITORIOS TERMICOS 240

4.3.1. VARIACION DE LA P_{ACO_2} CON LA TEMPERATURA: CICLO DE HISTERESIS 240

4.4. ACLIMATACION 241

4.4.1. COMPORTAMIENTO TERMORREGULADOR 241

4.4.2. TASAS TERMICAS 243

4.4.3. AJUSTES TERMICOS 248

5. CONCLUSIONES 254

6. BIBLIOGRAFIA 257

SIMBOLOS Y DEFINICIONES

A : alveolar

a : arterial

ATPS : temperatura y presión ambiente, saturada de vapor de agua (°K, presión barométrica, P_{vH_2O} ambiente)

B : barométrica

b : sangre

BTPS : temperatura corporal y presión atmosférica, saturada de vapor de agua (°K, presión barométrica, P_{vH_2O} a temperatura corporal)

B : coeficiente de capacitancia (solubilidad)

B_{bO_2} : coeficiente de capacitancia o solubilidad del O_2 de la sangre

B_{xO_2} = coeficiente de solubilidad del oxígeno en un líquido o sustancia X

c : capilar

C_{Hb} : concentración de hemoglobina

C_{HbO_2} : concentración de oxihemoglobina

$C_{HbO_2,max}$: concentración máxima de oxígeno como HbO_2

$C_{O_2,dis}$: concentración de O_2 disuelto

$CO_{2,total}$: concentración total de CO_2

C : adaptabilidad o compliancia

C_L : adaptabilidad (=compliancia) pulmonar

C_B : adaptabilidad de la pared corporal, calculada como:

$$\frac{1}{C_B} = \frac{1}{C_T} + \frac{1}{C_L}$$

C_T : compliancia del sistema total (pulmones más pared corporal)

C_x : concentración de una sustancia x

D_{Lo_2} : capacidad difusión pulmonar (conductancia) para O_2

E : coeficiente de extracción

E_{wO_2} : coeficiente de extracción del O_2 del H_2O

E : gas espirado

F : concentración fraccional de gas en fase seca

F_{Ax} : concentración fraccional de un gas alveolar

F_{Lx} : concentración fraccional de un gas pulmonar en seco. Durante los períodos de apnea F_{Lx} es igual a F_{Ax}

FRC : capacidad residual funcional

F_E : concentración fraccional de gas espirado

F_D : concentración fraccional de gas del espacio muerto

f : frecuencia respiratoria

f' : frecuencia respiratoria instantánea

f_H : frecuencia cardíaca

g : gas

G : conductancia

$G_{I,A}$: conductancia entre gas inspirado y alveolar
 G_{aw} : conductancia de las vías respiratorias
 H : índice de histéresis
 H_T : índice del grado de histéresis para un sistema total (pulmones más pared corporal en animal intacto).
 H_L : índice del grado de histéresis pulmonar
 I : gas inspirado
 M : cantidad de sustancia
 \dot{M} : cantidad de sustancia por unidad de tiempo
 \dot{M}_{O_2} : consumo de O_2 = cantidad de oxígeno transportado por unidad de tiempo
 MVV : ventilación máxima voluntaria
 w : trabajo elástico de respiración (inspiración)
 w = tasa de trabajo ventilatorio ($g \times cm/min$) = $w/b \times f$
 (ml $\times cm H_2O/min \times kg$)
 P = presión parcial de un gas (mm Hg o Torr)
 P_B = presión barométrica
 P_{LO_2} y P_{LCO_2} = presión parcial pulmonar de O_2 y CO_2 Durante la respiración contenida (apnea) se asume que la P_{AO_2} y P_{ACO_2} son iguales a la P_{LO_2} y P_{LCO_2} respectivamente, ya que la anatomía de los pulmones de tortugas no hace pensar en ningún efecto marcado de estratificación homogénea. En nuestro trabajo se han usado indistintamente.
 P_{AO_2} y P_{ACO_2} = presión parcial alveolar de O_2 y CO_2
 P_{50} = presión parcial de O_2 a 50% de Hb oxigenada
 \dot{Q} = flujo sanguíneo (l/min)
 R = constante de los gases
 R_E = tasa de intercambio gaseoso pulmonar ($\dot{V}_{CO_2}/\dot{V}_{O_2}$) = cociente respiratorio
 $R_{(t)}$ = tasa de intercambio respiratorio instantáneo
 S = saturación
 $STPD$ = temperatura y presión estándar, en seco ($^{\circ}C$, 760 mmHg)
 t = tisular
 T = temperatura absoluta
 TLC = capacidad pulmonar total
 TGV = volumen de gas torácico
 v = sangre venosa
 \bar{v} = mezcla venosa
 V = volumen de gas
 V_{Lr} = volumen pulmonar en reposo (= volumen de reserva espiratorio)
 V_T = volumen corriente
 $V_L = V_p$ = volumen pulmonar
 V_{Lmax} = volumen pulmonar máximo
 V_{Lmin} = volumen pulmonar mínimo
 VC = capacidad vital
 VR = volumen residual
 \dot{V} = flujo gaseoso = volumen minuto
 \dot{V}_I = flujo inspiratorio = volumen de aire inspirado por unidad de tiempo
 \dot{V}_A = ventilación alveolar = volumen ventilatorio alveolar espirado en unidades BTPS

\dot{V}_{CO_2} y \dot{V}_{O_2} = ml de O₂ y CO₂ intercambiados por minuto (STPD)

V_E = volumen de aire espirado

\dot{V}_E = flujo espiratorio = volumen minuto de aire espirado

V_D = volumen del espacio muerto

\dot{V}_D = volumen del espacio muerto por unidad de tiempo

$V_B = V_c$ = volumen corporal

V-P diagrama volumen-presión = representación gráfica del volumen (ordenadas) y presión pulmonar (abcisas)

$\dot{V}_A/\dot{V}_{\text{O}_2}$ = ventilación alveolar en relación a O₂ captado en ml BTPS/mlSTPD

$\dot{V}_E/\dot{V}_{\text{O}_2}$ = requerimiento de convección de aire por unidad de O₂ captado = equivalente ventilatorio en ml BTPS/ml STPD $\dot{V}_A/\dot{V}_{\text{CO}_2}$ = ventilación alveolar relativa al CO₂ cedido (mlBTPS/mlSTPD)

$\dot{V}_E/\dot{V}_{\text{CO}_2}$ = ventilación relativa en relación al CO₂ cedido (mlBTPS/mlSTPD)

$W_B = P_c$ = peso corporal

$W_L = P_L$ = peso pulmonar

1. INTRODUCCION

1.1. DESCRIPCION E INTERES DEL TEMA

Nuestro interés en el tema se basaba en el hecho de que los reptiles presentan un patrón ventilatorio particular, con una ventilación intermitente, experimentando amplias fluctuaciones en las tensiones de gas pulmonar durante los periodos de apnea. A esto tenemos que añadir la capacidad de ciertos reptiles acuáticos, como los quelonios, de prolongar de manera considerable los periodos de apnea entre cada ciclo ventilatorio, durante el buceo, pudiendo así incrementar el tiempo de permanencia bajo el agua.

Los reptiles presentan además, unas adaptaciones particulares a los cambios de temperatura ambiental, tanto fisiológicas como de comportamiento, modificando su ventilación en función de la temperatura ambiental.

Por todo ello, creímos interesante realizar un estudio de como varía el patrón ventilatorio en función de la temperatura, durante la ventilación espontánea de los reptiles.

Como modelo de ectotermo acuático que presentara todas estas características pensamos en una especie de tortuga de agua dulce como es *Mauremys caspica*. Esta especie tiene una distribución mediterránea (sur de Europa y norte de Africa), por lo que su temperatura corporal está sometida a variaciones térmicas diarias bastante amplias, aunque mitigado por su condición de vida semiacuática, por lo que presenta una estrategia particular para regular su temperatura corporal.

Mauremys caspica es una especie ectotérmica, poco estudiada, de fácil mantenimiento y que por su condición de animal heterotermo, nos permite trabajar con un amplio rango de temperaturas. Aunque por esta misma condición de individuos ectotermos, su aparato respiratorio es relativamente simple, la superficie aérea para intercambio de gas con el medio, así como los mecanismos respiratorios, son muy complejos, ya que en reptiles, la respiración es aérea, por pulmones simples, pero además puede haber una respiración cutánea importante (Standaert y Johansen, 1974; Dejours, 1975; Graham, 1974; Belkin, 1968), así como también bombeo bucofaríngeo, tal como se ha descrito en tortugas.

Por su patrón ventilatorio discontinuo, presentan también una ventaja frente a los

homeotermos de cara al análisis de muestras de gas. Además, al ser los quelonios animales con la cavidad torácica limitada por el caparazón, nos permitía estudiar el efecto que podía causar este exoesqueleto rígido sobre la capacidad respiratoria y en consecuencia, sobre la mecánica pulmonar estática durante el ciclo ventilatorio.

Debemos señalar que si bien la distribución de esta especie en la península Ibérica es bastante restringida y que la mayor parte de las poblaciones se hallan en áreas norteafricanas, los ejemplares con los que hemos trabajado se capturaron en uno de los últimos enclaves que presenta en territorio peninsular, situado en la Laguna de Adra (Almería). En esta zona se pueden alcanzar temperaturas ambientales de entre 40 y 45°C en aire durante el verano, por lo que es presumible que se producirá una cierta adaptación estacional de estos individuos a las correspondientes oscilaciones térmicas anuales de su hábitat.

Durante la exposición de un ectotermo tanto a temperaturas fisiológicas como extremas, se producen una serie de respuestas ventilatorias como sistema de termorregulación y adaptación al nuevo ambiente, y que serán distintas dependiendo del periodo de aclimatación del individuo. Los datos existentes de respuestas ventilatorias frente a cambios de temperatura, sobre todo extremas, en tortugas son escasos e inexistentes en *Mauremys caspica*. Este hecho unido al reciente desarrollo que ha experimentado la fisiología respiratoria en el estudio de sus sistemas reguladores o de adaptación, configuran el interés de los objetivos que nos propusimos al iniciar este trabajo.

1.2. VENTILACION EN LOS REPTILES

1.2.1. DESCRIPCION GENERAL

A lo largo de su evolución, los vertebrados han adaptado la respiración primero al agua como medio respiratorio y después al aire, desarrollando diversos mecanismos respiratorios en ambos casos.

De especial interés para los fisiólogos, es la transición del agua al aire (Hughes, 1967), puesto que las propiedades físicas de estos dos medios marcan vastas diferencias en la demanda de todo el sistema respiratorio (Dejours, 1976), y las tensiones de CO_2 de la sangre y tejidos en la respiración aérea, son mucho más altas que en la respiración acuática. Estas relaciones han sido descritas entre otros, por Rahn (1967) y Piiper (1982).

Las especies con mayor éxito (en un sentido evolutivo) son aquellas que pueden alcanzar tasas metabólicas más elevadas, en un amplio rango de requerimientos energéticos y de disponibilidad de O_2 . Para lograrlo, se precisa de la actividad de dos sistemas estrechamente integrados: 1) el sistema respiratorio, ya sea de ambiente aéreo o acuático, que posee una superficie permeable para la difusión de los gases entre el medio y la sangre; y 2) el sistema cardiovascular, el cual renueva la sangre en la zona interna de intercambio de gases y transporta el oxígeno hasta las células, donde es utilizado.

Vamos a centrarnos en el primer proceso y dentro de éste, dejamos aparte la ventilación acuática y describimos la ventilación aérea pulmonar.

Este modelo de ventilación, tiene lugar en todos los vertebrados terrestres y en algunos acuáticos, pero existe una gran diversidad en la morfología comparada de los pulmones de los vertebrados y en los mecanismos ventilatorios básicos. Existen dos modelos básicos de ventilación pulmonar. El primero de ellos entraña la existencia de una presión positiva, que infla los pulmones (como si se tratasen de un globo). Este tipo se observa en los peces de respiración aérea y en anfibios. El otro modelo básico, funciona por presión negativa, mediante la cual se agranda la cavidad pulmonar y ello provoca una aspiración o "succión" del aire dentro de los pulmones. Esta diferencia

de modelo está asociada o bien a la ausencia o la existencia de una caja torácica y de un aparato muscular relacionado con ella.

En los peces y anfibios con respiración aérea, ésta es mecánicamente semejante a la ventilación branquial, pero el grado de modificaciones estructurales para la respiración aérea, es proporcional a la cantidad de aire utilizado durante todo el intercambio gaseoso. En los tres géneros de peces pulmonados conocidos, la cavidad bucal es equivalente a una bomba de presión positiva para el llenado de los pulmones. El pez *Lepisosteus* también utiliza la presión bucal para el hinchamiento de la vejiga natatoria, la cual es utilizada como un pulmón funcional durante la respiración aérea facultativa.

La ventilación en los pulmones de los anfibios también está afectada por la acción bucal (bomba bucofaríngea). Primero, la entrada a los pulmones (glotis) permanece cerrada, se abren las narinas y el descenso del piso de la boca permite que la cavidad bucofaríngea se llene con aire fresco. Luego, se cierran las narinas, se abre la glotis, se eleva el piso de la boca y la presión que se genera infla los pulmones. La aspiración es totalmente pasiva y depende de la capacidad elástica de los pulmones inflados.

Para su ventilación, los mamíferos, reptiles y aves, dependen de un bombeo de presión negativa en lugar de uno positivo. En los mamíferos, la bomba de presión negativa utilizada para expandir los pulmones, está formada por el diafragma y los músculos intercostales externos, los cuales al contraerse, aumentan el tamaño del tórax, reduciendo la presión intratorácica, intrapleurales e intraalveolar a valores subatmosféricos. Tienen una inspiración activa y una espiración pasiva.

Las aves poseen un sistema singular conformado por pulmones y sacos aéreos, representando un modelo de intercambio gaseoso intermedio entre el sistema de contracorriente de las branquias de los peces y el sistema periódico de otros pulmones. La inspiración es activa, pero la espiración, debido al bajo rendimiento de sus pulmones, requiere la participación de los músculos espiratorios.

Los reptiles, utilizan la ventilación bucofaríngea pero fundamentalmente para el olfato ("olfateo") y no para la inspiración pulmonar. Algunos lagartos utilizan este bombeo como medio de expresar algunas formas de comportamiento o para inflar sus cuerpos como un sistema de defensa. En las víboras, los pulmones son alargados y

asimétricos ya que el pulmón derecho está reducido o es un simple vestigio. Todavía no se entiende completamente la mecánica de la ventilación en los reptiles, pero aparentemente la exhalación es activa, producida por el movimiento de las costillas o por compresión del cuerpo por medio de la musculatura transversal. En los cocodrilos, el volumen de la cavidad pleural resulta modificado fundamentalmente por los movimientos del hígado, empujado por la contracción de los músculos abdominales y estirado por la contracción del diafragma.

En todos los diversos modelos de intercambio de O_2 y CO_2 que existen, se tiene que considerar principalmente la difusión entre los dos compartimentos (sangre y gas pulmonar), teniendo en cuenta los tamaños respectivos de cada uno, el grado de uniformidad en su composición, densidad o espesor y calidad de la pared de cada compartimento, así como su resistencia a la difusión y la existencia de flujo en cada uno de los medios y su respectiva velocidad.

En la Figura 1 se describen los cuatro modelos o sistemas de intercambio de gases realizados por Piiper y Scheid (1972) y producidos por Dejours (1975), que pueden encontrarse en los vertebrados teniendo en cuenta la dirección y sentido del flujo del medio ventilado y la del flujo de sangre capilar:

a) En el modelo "countercurrent" (contracorriente) de branquias de peces, el agua y la sangre fluyen en sentidos opuestos. Es el más eficiente para el intercambio de gases aunque esta eficacia viene contrarrestada por las desventajas del agua como intercambiador de gases, resultante de sus propiedades físicas, como gran viscosidad, elevada densidad, bajo contenido de O_2 y pequeño coeficiente de difusión para el O_2 y CO_2 .

b) En el sistema "concurrent" para anfibios en fase adulta y reptiles, el aire y la sangre tienen sentidos paralelos. Las presiones parciales no son uniformes. Hay una ventilación heterogénea en las distintas partes de los pulmones.

c) En el sistema "cross-current" para pulmones de aves, la sangre fluye en sentido perpendicular al aire. Tienen las paredes de los bronquios rodeados de una red de capilares de aire y de sangre, en los cuales se realiza el intercambio gaseoso. Los capilares sanguíneos fluyen en ángulo recto con respecto a los capilares aéreos.

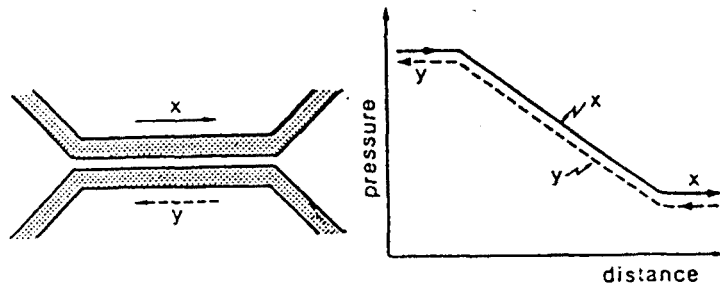
d) En el modelo "uniform-pool" (ventilación de mezcla) de pulmones de mamíferos

la sangre capilar se equilibra con el medio externo en el espacio alveolar en el cual las presiones parciales son uniformes.

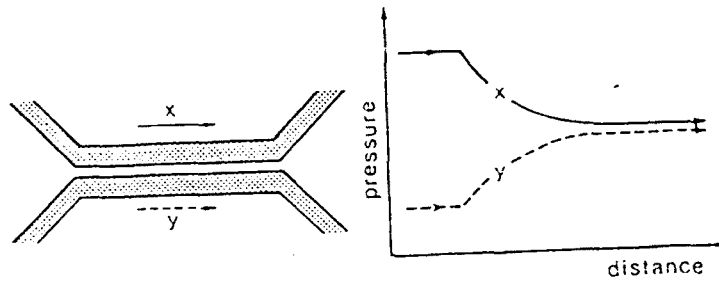
La eficacia absoluta y relativa de estos sistemas ha sido analizada por diversos autores, entre ellos Piiper y Scheid (1972, 1975) y White (1978).

FIGURA 1: Modelos de intercambio de gas según Piiper y Scheid, 1972.

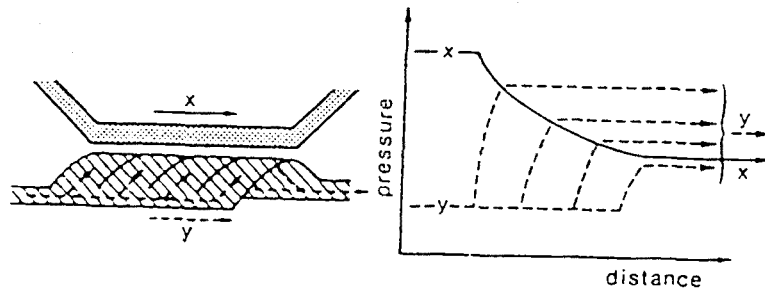
a) Countercurrent: contracorriente. Branquias de peces.



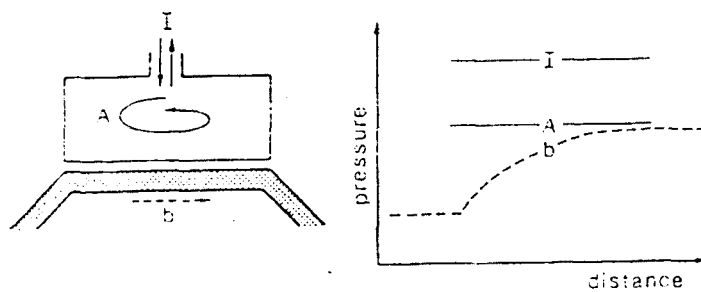
b) Concurrent: flujos paralelos. Anfibios en fase adulta y reptiles.



c) Cross-current: flujo de aire perpendicular al de la sangre. Aves.



d) Uniform-pool: ventilación homogénea en todos los alvéolos. Mamíferos.



1.2.2. MODELOS DE PULMONES Y MECANISMOS VENTILATORIOS

Siguiendo el estudio de la evolución, se puede observar que se han identificado diferentes tipos de pulmones y que un tipo determinado puede dar lugar a otro, en respuesta a diferentes demandas fisiológicas. Esto hace necesario, considerando siempre la evolución pulmonar, el caracterizar y describir ciertos tipos estructurales. Duncker (1977,1978) propuso un sistema de clasificación similar al empleado por Milani (1894, 1897) 90 años antes:

Los pulmones de todos los mamíferos son similares en estructura, siendo de tipo broncoalveolar. El sistema respiratorio de todas las aves puede ser descrito como un sistema de sacos aéreos pulmonares y un pulmón parabronquial. Por el contrario, las estructuras pulmonares observadas en reptiles son más complejas. Un primer tipo serían los pulmones simples de forma unicameral como el de *Sphenodon* u otros tipos de lagartos. Este tipo de pulmón posee un lumen central no dividido y la superficie respiratoria se localiza a nivel de pared pulmonar, que tiene particiones primarias. Los pulmones traqueales de algunas serpientes (Brongersma, 1957a,b) se pueden clasificar dentro de este tipo unicameral, debido a la presencia de una tráquea intrapulmonar (pulmón extratraqueal) y a que la separación entre cámaras es deficiente. Un segundo tipo es el pulmón paucicameral en el cual, el lumen central está dividido por un pequeño número de septos largos. Este tipo lo presentan Camaleones, Agámidos e Iguánidos. El tercer tipo de pulmón serían los multicamerales como el de cocodrilos, varánidos y quelonios. Este tipo de pulmón presenta unos refuerzos de cartílago, bronquios intrapulmonares y conductos conectados con un número de cámaras separadas entre sí.

Esta distinta estructura o tipos de pulmones está relacionada con el volumen pulmonar. En la Figura 2 obtenida de Perry (1983) se presentan estas relaciones. Este autor encontró en reptiles, ratas y palomas (pulmones y sacos aéreos), que los volúmenes pulmonares correspondientes, se podían agrupar según su estructura pulmonar. Los valores bajos indican la capacidad residual funcional. Los valores altos, indican la capacidad vital. Dentro de cada tipo de pulmón, los que tienen el parénquima distribuido homogéneamente tienden a ser más pequeños que los que tienen el parénquima distribuido más heterogéneamente.

FIGURA 2a: Tipos de estructura pulmonar siguiendo el árbol filogenético de algunos grupos de amniotas (Perry, 1983)

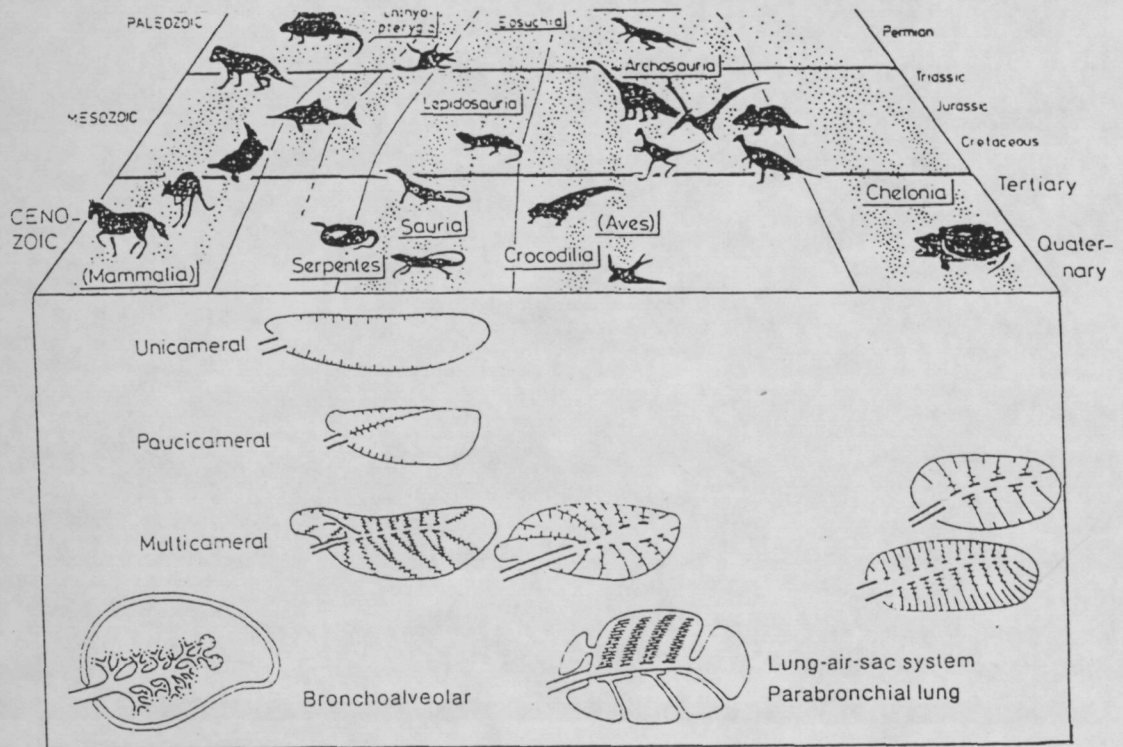
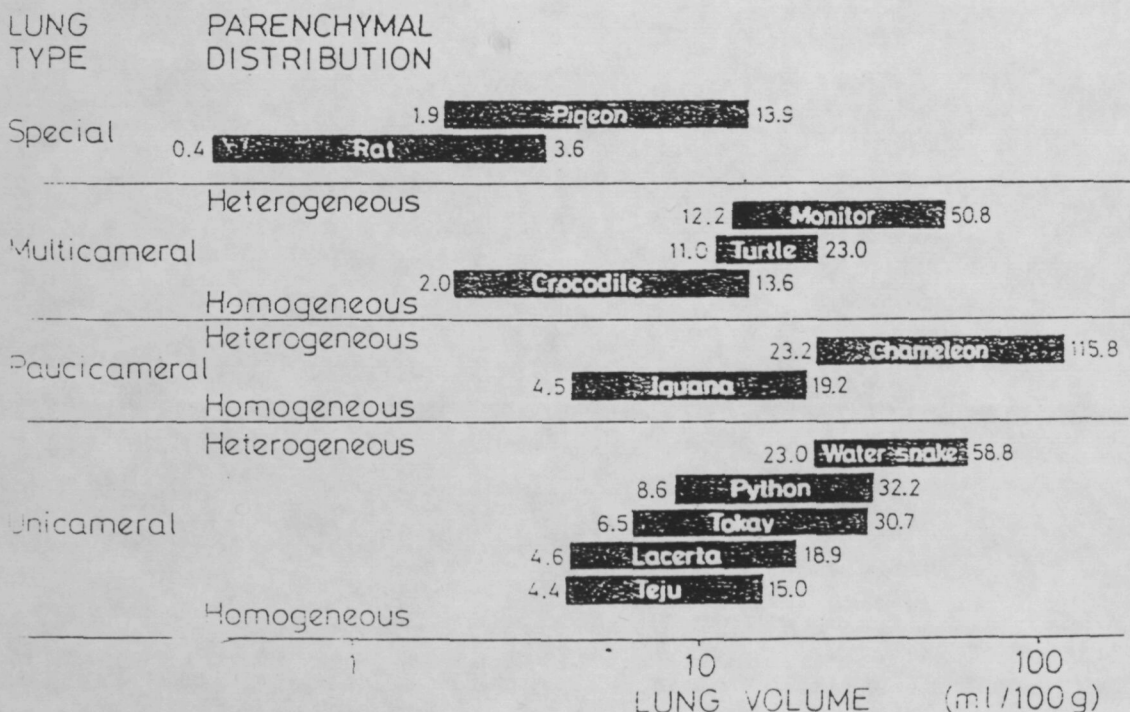


FIGURA 2b: Volúmenes pulmonares de distintos reptiles y de rata y paloma, agrupados según la estructura pulmonar (Perry, 1983).



Bajo este punto de vista, se puede considerar la relación entre estructura pulmonar y estrategias de intercambio de gas, tal como muestra la Figura 3 obtenida de Perry (1983).

Funcionalmente, un sistema respiratorio de vertebrados puede estar dividido en dos partes: un intercambiador y una bomba. La función del 1º sería la del intercambio de gases entre aire y sangre. La bomba se puede descomponer a la vez en dos partes: la parte activa, la cual mueve los pulmones o sacos aéreos y la parte pasiva (siendo los propios pulmones o sacos aéreos) que son movidos por la parte activa.

Morfológicamente, la parte activa se halla localizada principalmente fuera del pulmón. La autoinflación de los pulmones, que es común en la vejiga natatoria de peces y especulativamente en salamandras neoténicas de la familia Proteidae, desde fuera de la pared corporal, es rara en amniotas. En tortugas, el peso de las vísceras, las cuáles pueden estar vinculadas a los pulmones, pueden ayudar a la inflación de éstos bajo ciertas condiciones (Gans y Hughes, 1967; Gauñt y Gans, 1969).

En general, la inflación pulmonar es un proceso activo produciendo un incremento del volumen de la cavidad corporal por movimiento de las costillas (aves, mamíferos y reptiles no quelonios), por contracción de los músculos de la pared corporal y cintura escapular (tortugas), por músculos respiratorios especiales (cócodrilos, mamíferos), por bombeo de aire desde la cavidad bucal a los pulmones (anfibios anuros) y por efectos no respiratorios, en numerosos reptiles.

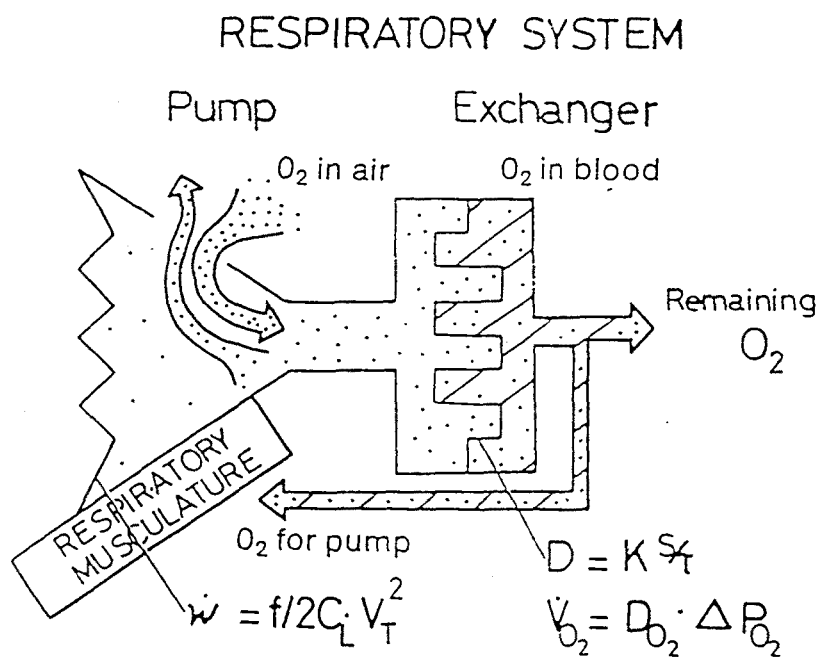
La causa de la deflación del pulmón, por otro lado, puede ser debida a la contracción pasiva de las cavidades hinchadas de aire, como resultado de las condiciones de tensión superficial a que se encuentran sometidas las concavidades de los espacios aéreos del parénquima pulmonar. Este fenómeno, se puede aplicar de forma particular a los pulmones homogéneos y densamente divididos de los mamíferos. Además estos pulmones por su abundante tejido elástico, almacenan energía durante la inflación, la cual utilizan para la deflación.

Los sistemas divididos heterogéneamente (aves, monitor) en los cuales hay zonas sin travéculas o están parcialmente divididas, tienen una deflación activa. Esta puede producirse por la elasticidad del tejido conectivo o por gravedad. Sin embargo, todos los amniotas tienen y usan músculos para espirar activamente.

La ventilación de los pulmones de todos los vertebrados excepto los anfibios, se produce mayoritariamente por la acción de una bomba de succión. Reptiles, aves y mamíferos tienen costillas y músculos intercostales, los cuales al contraerse agrandan la cavidad corporal y producen la inspiración. El diafragma muscular, exclusivo de los mamíferos, realiza la misma función. La relajación de los músculos inspiratorios y eventualmente la contracción de los músculos espiratorios, principalmente las paredes musculares abdominales, producen la espiración.

Dentro de los reptiles, requieren especial atención las tortugas por tener el cuerpo encerrado en un caparazón rígido con una abertura anterior para la cabeza y extremidades anteriores y una posterior para el perineo y extremidades posteriores. Desplazan las partes móviles de su cuerpo a través de estas aberturas, produciendo cambios de presión y de volumen en la cavidad toraco-abdominal, por inflación y deflación pulmonar.

FIGURA 3: Modelo de sistema respiratorio como una combinación de dos componentes funcionales: una bomba de aire y un intercambiador de gases. La capacidad de difusión se expresa a partir del producto entre el coeficiente de difusión de Krogh (K) y el factor de difusión (S/τ). (Perry, 1983).



En relación a la interacción existente entre el intercambio de gas y la bomba impulsora dentro de la estrategia ventilatoria y estableciendo comparaciones morfológicas entre varios tipos de sistemas respiratorios, está claro que el intercambio no depende solamente de la capacidad de difusión, sino también de las vías anatómicas seguidas. Dependiendo de la combinación existente entre densidad de la estructura pulmonar, tipo y distribución de parénquima y morfología de la red capilar, el intercambio y la bomba pueden tener propiedades completamente distintas. La Tabla 1 obtenida de Perry (1983), resume los trabajos hechos hasta ahora sobre esta cuestión.

TABLE 1: Correlación entre estructura y función en el sistema respiratorio de reptiles. (Perry, 1983).

| Key | Lung morphology | Exchanger | Passive pump |
|-------|--|---|---|
| 1. | <i>Structural type</i> | | |
| 1.1 | Unicameral | Small primary surface area; surface/volume ratio greatest when lung is elongate | - |
| 1.2 | Paucicameral | Greater primary surface area than unicameral | - |
| 1.3 | Multicameral | Potentially greater primary surface area than paucicameral; ventilation of surfaces by intrapulmonary bronchus | - |
| 2. | <i>Parenchyma</i> | | |
| 2.1 | <i>Distribution</i> | | |
| 2.1.1 | Homogeneous | Gas exchange in all lung parts; tendency toward small lungs | Trabeculae necessary for maintenance of lung shape; lung equally flexible in all parts; relatively low compliance; high work of breathing |
| 2.1.2 | Heterogeneous | Regional distribution of gas exchange surfaces; tendency toward large lungs | Lung shape maintained by attachment to body wall and intracoelomic septa; trabeculae for support of partitions; regions of high compliance kinetic; low work of breathing |
| 2.2 | <i>Type</i> | | |
| 2.2.1 | Atrabecular | Minimal surface area/volume ratio; no hindrance of convection | Potentially extremely flexible; if smooth muscle lacking, poor potential for maintenance of lung shape |
| 2.2.2 | Trabecular | Small surface/volume ratio; little hindrance of convection | Potentially very flexible; full potential for maintenance of lung shape |
| 2.2.3 | Edicular (shallow, sparse-dense) | Potentially large surface/volume ratio; convection possible | Potentially less flexible than above; full potential for maintenance of lung shape |
| 2.2.4 | Faveolar (deep, dense) | Potentially very large surface/volume ratio; convection in deep portions only during breathing movements | Least flexible of reptilian parenchymal types; full potential for maintenance of lung shape |
| Key | Lung Morphology | Exchanger | Passive pump |
| 3. | <i>Capillary net</i> | | |
| 3.1 | <i>Disposition</i> | | |
| 3.1.1 | Double | Large blood volume; low %RC; diffusion barrier thick on one side of each net | - |
| 3.1.2 | Pseudo-single | Small blood volume; high %RC, but diffusion barrier thick on one side of net | - |
| 3.1.3 | Single | Small blood volume; high %RC and diffusion barrier potentially thin on both sides of net | - |
| 3.2 | <i>Bulging</i> | | |
| 3.2.1 | Steep sided | Potentially large proportion of surface area with uniform, thin diffusion barrier; enlargement of pulmonary surface area due to "bulging" | Potentially large surface tension due to steep-sided concavities in lung surface; potentially low compliance and high work of breathing |
| 3.2.2 | Embedded | Potentially small proportion of surface area with uniform, thin diffusion barrier; little enlargement of pulmonary surface area | Gradual concavities; potentially little increase in compliance due to surface tension factors |
| 3.3 | <i>Barrier thickness (harmonic mean)</i> | | |
| 3.3.1 | Thick | Small diffusing capacity per unit pulmonary surface area | Large mechanical stability |
| 3.3.2 | Thin | Large diffusing capacity per unit pulmonary surface area | Small mechanical stability |

Los primeros reptiles pertenecen probablemente al grupo de los Captorhinomorfos (Figura 4 de Perry, 1983) los cuales se separaron de los anfibios Gephyrostegidos hace aproximadamente 300 millones de años.

Según Gans (1970a,b) los primitivos protoanfibios podían haber tenido ya un mecanismo de aspiración ventilatoria, según la cual el movimiento de las costillas podían haber sido sólo uno de los posibles mecanismos relacionados con aquella función.

Con la progresiva pérdida de la armadura dérmica dorsal (Romer, 1972), las especies acuáticas desarrollaron la capacidad de descargar el CO₂ directamente desde la piel al agua. Los requerimientos de O₂ podrían satisfacerse por mecanismos ventilatorios de bombeo hacia dentro, lo cual posiblemente no ha sido nunca abolido totalmente.

La estructura de la caja torácica con costillas de los primitivos Captorhinomorfos, sugería de cualquier modo un mecanismo ventilatorio costal. La naturaleza no especializada de la caja torácica formada por las costillas en los primitivos Captorhinomorfos, no indica una particular estructura pulmonar, de manera que unos pulmones unicamerales podían haber satisfecho las necesidades metabólicas de estos animales.

Otras posibles líneas de investigación apuntarían a la posible presencia de pulmones multicamerales simples en los primeros reptiles, con la evidencia de que la mayoría de descendientes vivos de estos primeros reptiles tienen una estructura pulmonar multicameral, incluyendo a todos los anápsidos, sinápsidos y entre los diápsidos, los monitores, cocodrilos y aves (Figura 2 y 4).

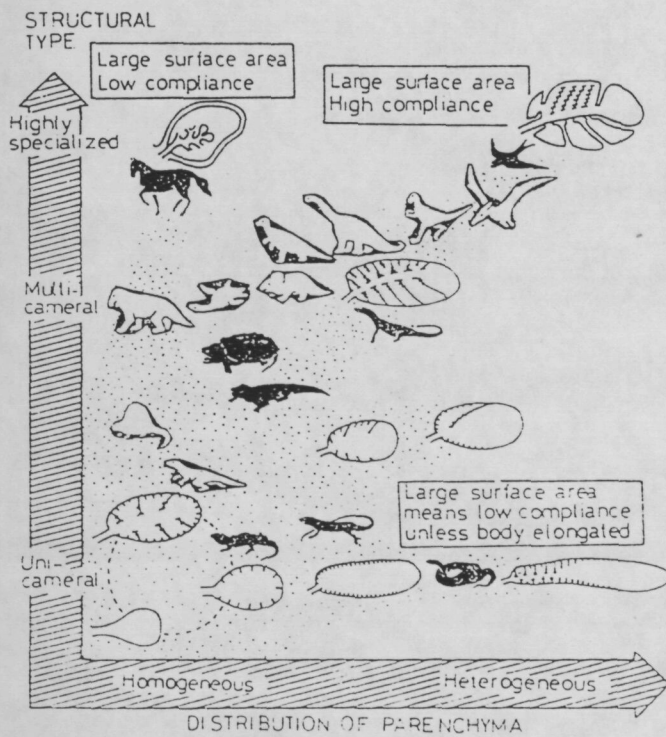
Sobre la evolución de la estructura pulmonar en amniotas (Figura 4) y de acuerdo a la demanda fisiológica y a los mecanismos ventilatorios en varios grupos, se han observado básicamente dos diferentes estrategias en la evolución del sistema respiratorio: una estrategia de reducido trabajo (aves, saurios, pterosaurios y monitores) y una estrategia de alto trabajo (mamíferos). Los cocodrilos y tortugas, se encuentran ocupando un grupo intermedio. El gran éxito del sistema de los mamíferos, puede ser atribuible a la evolución simultánea de los pulmones broncoalveolares y su efectivo mecanismo de bombeo.

La presencia en algunos reptiles de unos movimientos rítmicos de la gola y la ausencia de un músculo homólogo al diafragma, crearon unas ideas confusas respecto a los mecanismos de ventilación pulmonar en reptiles. Hasta 1940 se aceptó que los movimientos de la gola en tortugas y lagartos eran para ventilar sus pulmones. La respiración sería por bombeo dando presión positiva como en anfibios y peces pulmonados. Hansen en 1941 y McCutcheon en 1943, demostraron que los pulmones no podían ser ventilados de esta manera en tortugas ya que la apertura y cierre de la glotis no se acomodaba (no se abría) en relación a los movimientos del bombeo gular. McCutcheon, apoyando a Krogh (1941) propuso que el bombeo gular en tortugas era olfatorio, llegando a la misma conclusión Gans (1970a) y Naifeh et al. (1970) para cocodrilos.

No está claro, a pesar de la ausencia de diafragma, que todos los reptiles utilicen una presión negativa en la espiración ventilatoria. Estos factores estarían acoplados a otros mecanismos ventilatorios que se observaron por electromiografía de los músculos respiratorios con mediciones muy precisas de flujos de aire y presión (Gans, 1970a).

Este no es el modelo típico de ventilación de reptiles. En algunas especies, cada ciclo ventilatorio tiene tres componentes: espiración-inspiración-espiración (Randall et al. 1944). En otros, en cambio, el ciclo respiratorio es difásico (Gans y Hughes, 1967; Naifeh et al. 1970) y en algunas especies, los movimientos respiratorios son trifásicos pero el flujo de aire es difásico (Boelaert, 1941). Sin embargo, una característica que se observa en todos los reptiles, son períodos variables de apnea interrumpiendo los ciclos ventilatorios. Estos períodos de apnea pueden ser considerablemente más largos que los períodos ventilatorios y en relación a otras variables respiratorias. Por ejemplo, con cambios del volumen corriente y tasa respiratoria, los reptiles pueden variar la duración del período apneico.

FIGURA 4: Posibles caminos de la evolución estructural de pulmones de Amniotas. Los grupos actuales se han representado por siluetas negras. Los grupos extinguidos, por siluetas blancas (Perry, 1983).



En tortugas, estos problemas se asocian a que los pulmones están encerrados dentro de un caparazón rígido. McCutcheon (1943); Gans y Hughes (1967); Gaunt y Gans (1969) y Hughes y Gans (1966) estudiaron el papel que podía jugar este caparazón en la respiración dando descripciones detalladas de los mecanismos básicos de control de la ventilación en especies acuáticas y terrestres. Las tortugas acuáticas podrían tener como ventaja la presión hidrostática utilizándola como fuerza respiratoria. En la tortuga *Chelydra serpentina*, datos electromiográficos sugieren que cuatro grupos de músculos mayores son capaces de variar el volumen de la cavidad visceral para producir la ventilación (Figura 5 obtenida de Gaunt y Gans, 1969). Durante la espiración los músculos diafragmático y transversal abdominal comprimen la cavidad visceral e incrementan la presión intrapulmonar por encima de la atmosférica. Durante la inspiración el testocoraideo y oblicuo abdominal expanden la cavidad visceral y decrece la presión intrapulmonar a subatmosférica. Se reduce el esfuerzo espiratorio y se incrementa el inspiratorio en *Chelydra*, cuando está sumergida parcialmente, por efecto de la presión hidrostática sobre el volumen visceral. Cuando está totalmente fuera, el efecto de la gravedad sobre el volumen visceral tiene efectos opuestos (Figura 5).

En tierra, la espiración de *Chelydra* es activa, mientras que la inspiración es pasiva, al revés de lo que pasaba en el agua, debido a que su peto es reducido y blando, las vísceras penden sobre él incrementando su volumen visceral. En la tortuga terrestre (*Testudo graeca*), los mecanismos ventilatorios parecen diferir respecto a las tortugas acuáticas. El volumen visceral cambia dependiendo del movimiento de la cintura pectoral (Figura 5). Este volumen se incrementa durante la inspiración por contracción de los músculos antagonistas, serrato y oblicuos abdominal. El diafragmático de *Chelydra* está ausente en *Testudo* y su función la asume el cinturón pectoral. El peto es más fuerte y soporta las vísceras.

Nuestra intención en este trabajo, era conocer el patrón ventilatorio de *Mauremys caspica*, considerando su hábitat semiacuático, así como las posibles relaciones morfológicas con respecto a la mecánica y ventilación pulmonar.

FIGURA 5a: Presiones intrapulmonares (1) y actividad de los músculos ventilatorios (2,3,4,5) en *Chelydra serpentina*. (Gaunt y Gans, 1969).

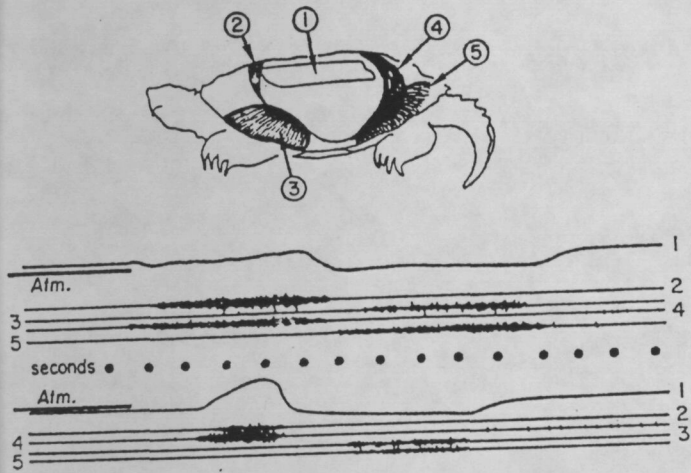


FIGURA 5c: Presiones intrapulmonares durante el ciclo ventilatorio de *Testudo graeca*. (Gaunt y Gans, 1969).

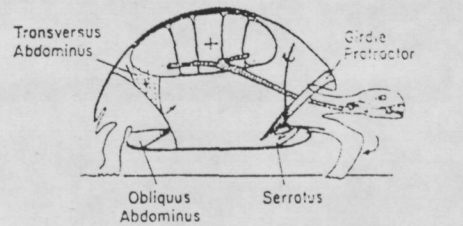
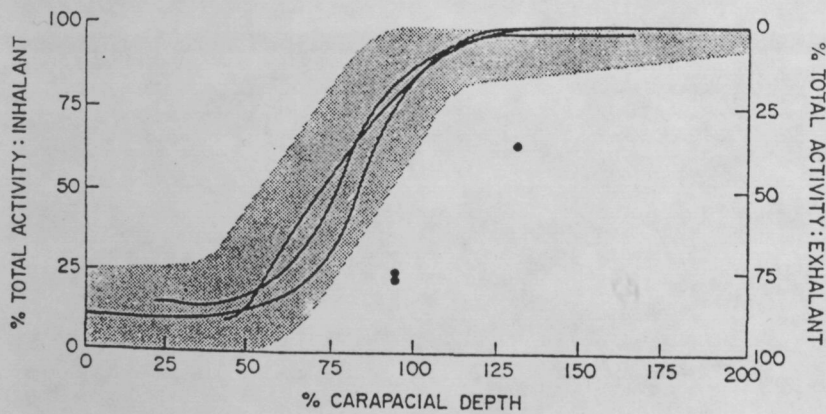
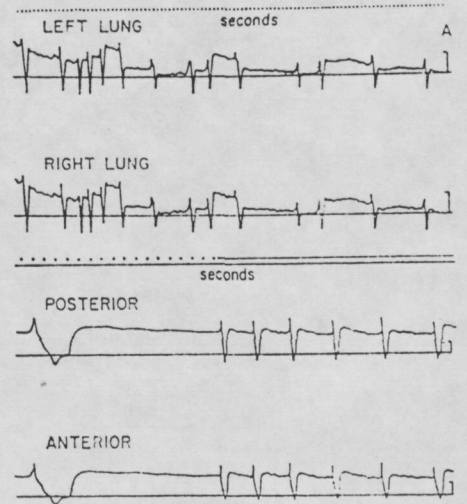


FIGURA 5b: Efectos de la inmersión sobre la actividad de los músculos ventilatorios. En tierra, la inspiración es pasiva (a favor de la gravedad) y la espiración es pasiva. En agua, la inspiración es activa (opuesta a la presión hidrostática) y la espiración es pasiva. (Gaunt y Gans, 1969).

1.2.3. MECANICA PULMONAR

La mecánica pulmonar analiza las respuestas del pulmón a las diferentes fuerzas que son aplicadas al mismo por los músculos respiratorios y la caja torácica y busca información sobre su estructura y sobre las propiedades de los materiales que lo constituyen.

El pulmón aislado puede considerarse como una estructura homogénea formada por un material distensible y elástico y formada por más o menos cavidades, dependiendo del tipo de pulmón, que va desde anfibios con simples sacos pulmonares, a mamíferos con innumerables microcavidades.

In situ, en el tórax, ésta estructura sufre, debido a la gravedad, importantes deformaciones y en particular, un aplastamiento que lo hacen heterogéneo y modifican sus propiedades mecánicas de una zona a otra. Esta disparidad regional de las propiedades mecánicas, tiene importantes consecuencias en la distribución de la ventilación en el pulmón y en los intercambios gaseosos.

Por estática pulmonar se entienden las relaciones que existen entre las fuerzas que son aplicadas al pulmón y las deformaciones que las mismas inducen. La resistencia del pulmón a las fuerzas de estiramiento impuestas por los movimientos de la caja torácica, transmitidos a su vez por la cavidad pleural, depende de tres factores: a) de la extensibilidad de los materiales que constituyen el tejido pulmonar y principalmente de las fibras elásticas; b) de la distensibilidad o compliancia del pulmón por sí mismo como estructura geométrica tridimensional. La distensibilidad es la misma propiedad que la extensibilidad pero aplicada a un sistema, ya que el ordenamiento espacial de un material desempeña un papel importante en su resistencia a las fuerzas aplicadas al mismo; la inversa de la distensibilidad es la elastancia; c) de la película líquida que recubre las paredes alveolares y constituye una interfase gas-líquido desarrollando importantes fuerzas de retracción, tanto mayores cuanto menor es el tamaño del pulmón y de los alvéolos.

Según la Ley de Laplace, para una esfera, la relación existente entre la tensión T y la presión P es:

$$P = \frac{2T}{R}$$

siendo R el radio de la esfera. Si la interfase líquido-gas es curva, la resultante de las fuerzas de atracción intermolecular aplicadas a las moléculas de la superficie se dirige hacia el centro de la concavidad, originando una sobrepresión en el interior de la estructura curva. Estas fuerzas de retracción intersuperficiales están disminuidas por el surfactante alveolar.

La cantidad de surfactante y función en los pulmones de reptiles está poco estudiado. Se cree que representa un papel evolutivo dentro de la respiración pulmonar aérea, y que su papel es semejante al de los mamíferos.

La presión transpulmonar o presión estática pulmonar que determina el volumen pulmonar, comprende dos términos: la presión de distensibilidad, denominada presión elástica y la presión de equilibrio de las fuerzas de superficie.

La relación presión-volumen es prácticamente lineal para pequeñas variaciones de volumen. En la zona correspondiente a la ventilación en reposo normal, la pendiente de la recta dV/dP es la distensibilidad del pulmón. Cuando las variaciones de volumen son más acusadas, la relación deja de ser lineal y las curvas de insuflación y vaciado ya no se superponen, dicho de otra forma, aparece una histéresis. Se observa un mismo volumen para una presión mucho más baja en la espiración que en la inspiración. La forma general de las curvas inspiratorias y espiratorias, es sigmoidea, al menos en reptiles. La histéresis, es tanto más importante cuanto mayor es el volumen inspirado y más bajo el volumen preinspirado.

Existen tres razones que explican la histéresis de los lazos presión-volumen: a) la viscoelasticidad del tejido pulmonar, que después del estiramiento no vuelve a su posición de equilibrio instantáneamente, sino que conserva una cierta deformación residual durante algunos instantes; b) la película tensoactiva alveolar que manifiesta cierta lentitud de respuesta a las variaciones cíclicas de la superficie alveolar, añadiendo una histéresis de intersuperficie a la elasticidad; c) la desigualdad en el número de

bronquiolos y unidades pulmonares abiertas para una misma presión en la inspiración y espiración.

El trabajo elástico de ventilación es inversamente proporcional a la adaptabilidad pulmonar, de manera que unos pulmones con distribución del parénquima heterogéneo, y con porciones no respiratorias largas y flexibles, tienen un bajísimo trabajo elástico de ventilación.

Tanto en pulmones unicamerales como multicamerales puede haber una septación heterogénea. Ahora bien, en los de tipo unicameral, una gran superficie de ellos puede realizar un bajo trabajo elástico ventilatorio, sólo si el pulmón es muy alargado. Sin embargo, en los multicamerales, puede darse un pequeño trabajo ventilatorio incluso en los pulmones cortos y pequeños.

Los vertebrados de respiración aérea, usan como mínimo dos distintos mecanismos de bombas respiratorias, tal como se ha descrito anteriormente. Uno depende sólo de la presión negativa de los pulmones con respecto a la atmosférica (mamíferos), mientras que el otro mecanismo está ayudado por movimientos bucofaríngeos (anfibios). Los reptiles se pueden considerar como un grupo intermedio entre los dos.

Es de especial interés en el caso de quelonios, las modificaciones que pueden sufrir en los mecanismos ventilatorios debido a la rigidez de su caparazón. El emplazamiento de los pulmones dentro de un armazón rígido sugiere analogías con ciertas condiciones que presentan las aves y que se han reflejado en algunas relaciones fisiológicas descritas por algunos autores (Wolf, 1933; Spragg et al. 1980).

La literatura contiene gran variedad de descripciones funcionales explicando como las tortugas llenan y vacían sus pulmones. Antiguamente, algunos autores, entre ellos Malpighi (1671), Milne-Edwards (1858) y Agassiz (1857), ya describían que las tortugas hinchaban los pulmones a partir de una bomba bucal, apoyándolo en las observaciones hechas por ellos, viendo que producían movimientos de bombeo de la garganta.

En 1719, Morgagni dijo que las tortugas respiraban de un modo semejante a las ranas. Posteriormente Townson (1799); Mitchell y Morehouse (1863); Hansen (1941) y McCutcheon (1943), también aportaron evidencias de que el movimiento de bombeo del cuello era el principal mecanismo inspiratorio.

Estos autores consideraban que se producían cambios en el volumen pulmonar

debido a la alternancia de contracciones de los músculos respiratorios, formados por dos colecciones de músculos antagónicos, que abarcaban los flancos de las cavidades laterales de las extremidades.

Anteriormente a estos trabajos, Tauvery (1701) afirmó que las tortugas respiraban sólo cuando caminaban, basándose aparentemente en la observación hecha sobre los marcados movimientos de bombeo que se producían al mover las extremidades. Esto indujo a Wolf en 1933, a afirmar que este movimiento accionaría y marcaría el ciclo respiratorio. Lüdicke (1936) aceptó la función de los músculos respiratorios, pero declaró que *Emys orbicularis* y en general todas las tortugas dulceacuícolas, durante ciertos estados de emergencia, pueden "absorber" aire por medio de contracciones convulsivas de la región bucal. McCutcheon (1943) no pudo confirmar esta teoría en *Malaclemys* y en algunas otras especies norteamericanas.

Más recientemente, George y Shah (1954, 1955, 1959a,b) en una serie de estudios, señalaban que existía una variación muy marcada de la musculatura respiratoria en diferentes grupos de tortugas. Sus investigaciones empiezan después del descubrimiento de una envoltura de músculo estriado que rodea los pulmones en la tortuga *Lissemys*. Estas investigaciones demostraron diferencias mayores, por tanto, entre *Emys* y *Malaclemys* lo cual reconciliaba en parte los conflictos existentes entre distintos investigadores. Estos dos últimos autores sugirieron además, que podían haber cambios fisiológicos más importantes en las tortugas. En formas avanzadas evolutivamente, incluyendo las Testudinae, la inspiración sería activa, mientras que la espiración ocurriría de forma pasiva por la relajación de los músculos respiratorios.

Posteriormente se han hecho trabajos para demostrar la importancia de los músculos respiratorios sobre la actividad y patrón ventilatorio, relacionándolo con los movimientos de las extremidades (Hughes, 1963; Walker, 1963; Hughes y Gans, 1966; Gans y Hughes, 1967).

Como ya hemos dicho antes, la respiración normal en reptiles, está marcada por una intermitencia, mientras que en los mamíferos es continua. El modelo en reptiles, se caracteriza por respiraciones simples a intervalos, separadas por periodos de apnea de duración variable (McCutcheon, 1943; Gans y Hughes, 1967; Naifeh et al. 1970; Gans y Clark, 1976; Glass y Johansen 1976). Los cambios en el patrón ventilatorio son

estimulados por hipoxia, hipercapnia o incremento de temperatura.

Debido a su baja tasa metabólica, los poiquiloterms no tienen normalmente una respiración continua, sino que presentan varios patrones de ventilaciones periódicos. Este rango de patrones va desde ciclos con inspiraciones simples separadas por períodos variables de apnea, como en *Tokay gecko* o otro que consiste en un ciclo con varias inspiraciones continuas en cada fase, separados por períodos variables de apnea, como es el caso de tortugas semiacuáticas (McCutcheon, 1943; Gans y Hughes, 1967; Shelton et al. 1985).

Se ha sugerido que el trabajo requerido para llevar a cabo la ventilación en animales con respiraciones simples (una sola inspiración y espiración) y periódicas, es un criterio más significativo para evaluar la eficiencia mecánica, que no la que utilizan animales de respiración continua, como los mamíferos (Milsom, 1984). Según esto, se podría postular que la respiración periódica que usa *Tokay geko*, representaría una estrategia adaptativa para minimizar el coste de la respiración.

El patrón de respiración a intervalos que presentan *Pseudemys scripta* y *Mauremys caspica* estaría entre el patrón de respiración continua de los mamíferos y el patrón de respiración simple de los lagartos.

El primer suceso evolucionista de los reptiles para colonizar el medio terrestre, fue la queratinización de la piel, por lo que tuvieron que desarrollar unos pulmones para realizar el intercambio de gas con el exterior. Este intercambio depende de la tasa de difusión y está claro que la superficie y espesor de la membrana alveolar, es el factor morfológico limitante del intercambio de gas pulmonar. Los pulmones parecidos a sacos de algunos reptiles parecen muy poco apropiados y poco efectivos para el intercambio de gas a causa de la pequeña relación entre superficie y volumen. Sin embargo está claro que hay especies con pulmones muy heterogéneos (Milani, 1894; Wolf, 1933; Marcus, 1937, Tenney y Tenney, 1970). Además el grado de compartimentación, que incrementa el área por unidad de volumen, resulta ser directamente proporcional al \dot{V}_{O_2} en reposo y en actividad. El volumen pulmonar máximo de los reptiles es un poco más grande en comparación con el de los mamíferos, sin embargo, el área es sólo una centésima parte del de éstos últimos como mucho.

En especies acuáticas, un volumen pulmonar grande representa una ventaja debido

a que les proporciona una mayor capacidad de flotación. Así, se ha visto en algunas especies de serpientes acuáticas que su volumen pulmonar es mucho más grande que el de los reptiles terrestres. Este volumen se incrementa debido a la presencia de una sección caudal avascular (poco o nada vascularizada) en forma de sacos aéreos y que pueden extender hasta la cloaca. Estos sacos aéreos en especies terrestres, termina más o menos a nivel de los riñones (Underwood, 1967). En tortugas, un gran volumen pulmonar no sólo supone una considerable reserva de O_2 , sino que también es esencial para una flotación equilibrada. Jackson (1968, 1969, 1971b) ha analizado estas funciones en *Pseudemys scripta elegans*. Ha demostrado que para mantener una flotación neutra y compensar la fuerza del caparazón necesita un volumen de 14 ml/100g de peso corporal. Demostró que las tortugas, en contraste a otros vertebrados, eran capaces de ajustar el volumen pulmonar residual a valores comprendidos entre 6-20 ml/100g de peso, como respuesta a variaciones de peso o flotabilidad. En tortugas es posible esta variación de volumen ya que su único mecanismo respiratorio, está relacionado con los cambios de presión que ejerce sobre toda la cavidad corporal y que acompañan a la actividad respiratoria.

El área pulmonar de los reptiles es de aproximadamente el 1 % del de los mamíferos de igual tamaño. Estas diferencias, sin embargo son consistentes con la diferencia que presentan en el requerimiento de O_2 y que es aproximadamente de 10 a 100 veces superior en los mamíferos (Brett, 1972). En éstos, el mantenimiento de una tasa constante de \dot{V}_{O_2} respecto a la superficie pulmonar, viene dada por la variación en el número de alvéolos por unidad de volumen pulmonar. Así, en pequeños mamíferos tienden a tener pocos alvéolos y son pequeños (Tenney y Remmers, 1963). En reptiles sin embargo, el tamaño y número alveolar por unidad de volumen pulmonar es constante.

Se ha visto también (Bennet, 1973b; Dejourns et al. 1970) que los reptiles adaptan morfológicamente sus pulmones con respecto a las demandas aeróbicas. El equivalente ventilatorio o volumen de aire que puede ser ventilado por unidad de O_2 intercambiado (\dot{V}_E/\dot{V}_{O_2}) es casi idéntico en lagartos y en mamíferos. Así lo han comprobado estos autores para nueve especies de lagartos en que esta tasa es de 37.7 en lagartos, comparada a los 35.5 de los mamíferos. Según Kinney et al (1977), el intercambio de

gas en los pulmones depende a la vez de una ventilación, difusión y perfusión apropiados y de un buen ajuste de la ventilación-perfusión. Uno de los factores que pueden modificar estos parámetros sería la inhomogeneidad en la distribución del intercambio de gas en los pulmones, como consecuencia de una no uniformidad anatómica pulmonar. Así lo ha sugerido Wood y Lenfant (1976) y Spragg et al. (1980).

En el presente trabajo, el patrón de la respiración espontánea hallado en *Mauremys* y las respuestas ventilatorias que exhibe frente a cambios producidos en la respiración conducida, son analizados en términos de trabajo requerido para realizar respiraciones simples y la energía requerida para continuar respirando.

Los resultados de estos análisis se han utilizado para analizar la hipótesis de que los patrones de respiraciones periódicas observados en poiquiloterms tienden a minimizar el coste de la ventilación.

1.2.4. CONTROL Y REGULACION DE LA VENTILACION

A diferencia del corazón, que tiene un ritmo generado intrínsecamente, los músculos respiratorios no lo presentan, y por ello necesitan un sistema neural capaz de generar y mantener una actividad regular, que es cíclica o acíclica dependiendo de las especies, para asegurar el intercambio de gases entre alvéolos y medio ambiente.

Es evidente que los organismos, y más los ectotermos, están sujetos a alteraciones del medio ambiente, al igual que la actividad mitocondrial lo está a cambios internos fisiológicos (actividad muscular, temperatura). Por lo tanto, está clara la necesidad de un sistema que pueda modificar y regular este ciclo respiratorio y así producir un intercambio de gas que satisfaga cada uno de los estados fisiológicos funcionales del individuo. Estos sistemas deben tener receptores para los parámetros de mayor importancia del sistema respiratorio (P_{O_2} , P_{CO_2} , pH, estado de inflación del pulmón, nivel de actividad muscular, etc.). Teniendo en cuenta estos factores y estableciendo prioridades con respecto a las necesidades del individuo, los organismos han establecido un sistema de control respiratorio, mecánico, químico y neuronal, interconectado entre sí y con receptores específicos. De esta manera, se forma un sistema capaz de generar impulsos en los nervios motores de los músculos ventilatorios, interviniendo en el

intercambio de gases entre medio ambiente y alvéolos, variando en intensidad según las necesidades del organismo, para mantener así la homeostasis del P_{O_2} , P_{CO_2} y equilibrio ácido-base. En nuestro trabajo hemos descrito solamente los factores que actúan directamente sobre el control de la ventilación, es decir, sobre el cambio de volumen pulmonar e intercambio de gas, primero de forma general y después describiendo las características particulares de los reptiles.

Describiremos solamente los factores mecánicos que afectan al control del patrón ventilatorio por tratarse de los que nos ofrecen un interés prioritario en nuestro trabajo.

El volumen corriente espirado e inspirado requieren la actividad de los músculos inspiratorios y espiratorios, adaptados al volumen pulmonar y a la configuración de la caja torácica. El conjunto de fuerzas de la pared y pulmones, determina cuanta fuerza se necesita para variar el volumen y en que dirección. Pequeños volúmenes corrientes (V_T) inspirados requieren sólo la actividad de los músculos inspiratorios, la espiración, generalmente es pasiva por retorno elástico de las paredes, aunque en quelonios acuáticos se ha descrito una cierta espiración activa. Para grandes volúmenes pulmonares y un mismo volumen corriente, se requiere más fuerza inspiratoria con objeto de contrarrestar el incremento de la fuerza de retroceso elástico de los pulmones y la pared de la caja torácica. Estos distintos V_T modificarían, a partir de los centros correspondientes, el patrón ventilatorio, variando su amplitud y modificando, en consecuencia, la ventilación.

Durante los últimos 25 años, se ha progresado considerablemente en la descripción cuantitativa de la fisiología respiratoria del intercambio de gases. Los desarrollos teóricos en esta área, han ayudado a clarificar y sistematizar mucho el tema, acumulándose información que sugiere nuevos conceptos e investigaciones experimentales. Este período ha estado marcado también por el desarrollo de una nueva instrumentación, lo cual ha facilitado el análisis de gases espirados y la medición de flujos y volúmenes de gases.

En muchos peces, aves y mamíferos, la ventilación de las branquias o pulmones, es un proceso continuo y cíclico. La perfusión sanguínea en el intercambio de gas está íntimamente ligada con la ventilación y el transporte de gases hacia y desde los tejidos, produciéndose dentro de unos límites estrechos y en rangos bien definidos de

condiciones internas.

El control de los mecanismos que envuelven al mantenimiento de esta homeostasis es bien conocido en aves y mamíferos, pero lo es menos en anfibios y reptiles. Muchos de éstos ventilan sus pulmones de forma intermitente y sufren fluctuaciones en las tensiones de gas respirado, en el equilibrio ácido-base y en concentraciones de productos finales metabólicos, dentro de un rango que no podrían tolerar aves y mamíferos. Los mecanismos reguladores de los límites de estas fluctuaciones son bastante desconocidos.

En muchas especies de reptiles no quelonios, tanto acuáticos como terrestres, el patrón respiratorio es intermitente, con períodos de apnea y ciclos ventilatorios. Estos reptiles muestran importantes variaciones internas en los niveles de gases espirados durante su respiración normal intermitente (Lenfant et al. 1970) o con buceo forzado (Jackson et al. 1974; Penney, 1974).

También algunos quelonios acuáticos son capaces de mantener largos períodos de apnea, intercalados con ciclos de ventilación. Lo mismo ocurre en algunas especies terrestres (Shaw y Baldwin, 1935; McCutcheon, 1943; Randall et al. 1944; Boyer, 1965; Gans y Hughes, 1967; Lenfant et al. 1970; Burggren et al. 1979). A la vez, algunos quelonios acuáticos tienen un potencial limitado para el intercambio de gases con el agua circundante (Girgis, 1961; Belkin, 1968a).

Es de destacar la notable capacidad de los tejidos de los quelonios para mantener su metabolismo frente a un progresivo descenso en los niveles de O₂ (Belkin, 1968b) y a sobrevivir durante largos periodos de total anoxia, presumiblemente por medio de glucólisis anaeróbica (Robin et al. 1964; Belkin, 1968a). Un segundo factor a tener en cuenta es la capacidad de ajuste de su sistema circulatorio, observada en gran variedad de especies de quelonios, de tal manera que durante la apnea modifican su frecuencia cardíaca y redistribuyen la sangre arterial hacia las zonas más necesitadas (Shelton y Burggren, 1976). El grado en que las células de diferentes tejidos pueden exponerse a las consecuencias fisiológicas de la apnea, está por tanto sujeto a amplias variaciones en los quelonios. Por ello, no resulta sorprendente que incluso en la actualidad no se hayan aclarado suficientemente algunos aspectos de las tasas de cambio de fenómenos respiratorios tales como el metabolismo de los tejidos, transporte de gases por la sangre

o intercambio de gases a nivel pulmonar.

Los reptiles en general y particularmente las tortugas han sido considerado desde la antigüedad como criaturas pasivas, lentas e ineficaces. Algunas investigaciones recientes han arrojado serias críticas sobre las vías clásicas del estudio de las capacidades funcionales de los reptiles. A la luz de las notables diferencias morfológicas entre los quelonios y otros reptiles, han cobrado interés los estudios sobre varios aspectos de la ventilación en las tortugas.

Una de las variables determinadas en quelonios es la capacidad metabólica aeróbica (Fry, 1947), es decir, el rango en el que el animal puede producir energía utilizable para la actividad sin incurrir en una deuda de O_2 . El metabolismo anaeróbico es utilizado por los reptiles para cubrir los requerimientos metabólicos tanto en el ejercicio como durante el buceo. Los lagartos emplean la glucólisis para conseguir la mayoría de energía necesaria para su actividad (Bennet y Dawson, 1972; Bennet y Licht, 1972), mientras que algunas tortugas recurren a la anaerobiosis como principal fuente de energía durante largos períodos de buceo (Belkin, 1961; Berkson, 1966), pudiendo hacer uso de su extraordinaria capacidad glucolítica también en condiciones de máximo ejercicio (Gatten, 1974). El conocimiento acerca de la posible utilización de metabolismo aeróbico o anaeróbico como respuesta frente a cambios de temperatura y a distintos grados de actividad ofrece pruebas de la respuesta evolutiva que ha permitido la conservación de ciertos grupos de reptiles. Así, se ha observado que el metabolismo aeróbico es significativamente mayor en tortugas más activas como es el caso de *P. scripta* frente a especies más pasivas como *Terrapene ornata* (Gatten, 1974).

Se han realizado trabajos sobre el control ventilatorio en reptiles, que como ya sabemos, tienen normalmente una ventilación discontinua (Wood y Lenfant, 1976; Glass et al. 1978). También se ha estudiado la naturaleza dinámica de la perfusión pulmonar y de sus mecanismos (White, 1976; Shelton y Burggren, 1976; Burggren, 1977; Johansen et al. 1977) y se ha examinado la relación entre ventilación y perfusión pulmonar y su control por medio de quimiorreceptores (Burggren et al. 1978).

1.2.4.1. Agentes reguladores

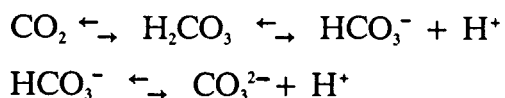
Puede presumirse que todos los animales con respiración aeróbica y metabolismo energético pueden regular su sistema de intercambio de gases, en respuesta a los niveles de oxigenación del medio ambiente, respondiendo a variaciones de tensión del oxígeno ambiental con cambios apropiados en su ventilación y circulación. Consecuentemente, los dos principales problemas que se presentan sobre el control de la respiración son:

- 1.- Cuál es el agente regulador fundamental.
- 2.- Cuáles son los mecanismos de la regulación.

Las dos cuestiones presentan dificultades para su explicación, principalmente la segunda, puesto que puede complicarse por variaciones ambientales o por alteraciones en los requerimientos convectivos internos, para cubrir las necesidades respiratorias y no respiratorias como nutrición, termorregulación, etc.

La regulación química de la respiración, ha sido objeto de atención desde mucho tiempo atrás, así como el papel del CO₂ y del O₂ sobre el patrón ventilatorio de los reptiles (Siefert, 1896; Babak, 1914a,b; Sealfed, 1934a; Vos, 1936; Boelaert, 1941; Randall et al. 1944; Nielsen, 1961)). Obviamente, la respiración se regula con respecto a la demanda de O₂ de las células y a la cantidad de CO₂ acumulado.

En el caso del CO₂, el problema es más complejo que para el O₂, ya que el CO₂ se transporta en sangre, en su mayoría como ion bicarbonato, de manera que la excreción de CO₂ debe de estudiarse dentro del contexto del equilibrio ácido-básico, a partir de sus reacciones de hidratación:



En el caso del O₂, la mitocondria es capaz de reducirlo a muy bajas presiones parciales, sin embargo para que los tejidos puedan obtener unos adecuados niveles de O₂ desde la sangre, o desde otro medio transportador, han de cumplirse dos condiciones: (1) que el gradiente de presión entre sangre y mitocondria sea suficiente

y (2) que la cantidad de O_2 de la sangre que perfunde los tejidos también sea suficiente.

Estos dos factores implican, por una parte un adecuado flujo de sangre y por otra, que las propiedades de la sangre como transportador sean idóneas. Además en el sistema de intercambio de gas entre dos compartimentos, deberá mantenerse un gradiente de presiones adecuado para la transferencia de O_2 de la sangre a los tejidos.

Dado que el fin primordial del control de la respiración es la adecuada oxigenación de los tejidos, algunos fisiólogos han considerado que la ventilación estaría regulada por los cambios de presión del CO_2 y por el equilibrio ácido-básico, mientras que otros han sostenido que el controlador principal sería el propio O_2 , basándose en observaciones efectuadas sobre los efectos fisiológicos provocados por diversos estados de oxigenación del medio ambiente y por las condiciones del CO_2 . Vamos a describir cada una de estas hipótesis.

1.2.4.1.1. Efectos del O_2

Una alteración de la oxigenación del medio o de los niveles de demanda de O_2 , producen cambios importantes en la actividad enzimática de los tejidos. Las variaciones de niveles de O_2 del medio pueden producir modificaciones estructurales de pulmones y branquias (Babák, 1914; Drastich, 1925; Bartels, 1971; Remmers, 1970). En condiciones de hiperoxia estarían menos desarrollados que con hipoxia o normoxia. También pueden producir alteraciones en las propiedades transportadoras de la sangre así como un cambio en el grado de capilarización de los tejidos (Ou y Tenney, 1970).

Se produce un aumento de la ventilación como respuesta a la hipoxia, además de un incremento de la frecuencia respiratoria (Nielsen, 1962; Jackson, 1973; Black y Tenney, 1980), pudiendo alcanzarse valores extremadamente elevados de la ventilación minuto en una hipoxia marcada, mientras que con hiperoxia se produce hipoventilación. Obviamente, un aumento de la V_E conduce a hipocapnia y alcalosis. También se puede dar el caso recíproco. Así, a altitudes no excesivas, la alcalosis por hipocapnia puede ser compensada por un descenso en la concentración del ion bicarbonato, pero a grandes alturas, se produce una marcada alcalosis no compensada, tal como se ha

descrito en humanos (Velasquez, 1959; Dejours, 1979, 1981, 1982; West, 1983).

1.2.4.1.2. Efectos del CO₂

Los mecanismos que favorecen la transferencia de O₂ hacia el medio interno, intervienen en el intercambio de CO₂ en sentido opuesto, a través del movimiento de convección de aire. Así mismo, las variaciones de las propiedades transportadoras del O₂ afectan el transporte de CO₂, que en sangre está relacionado con los compuestos carbamino de la hemoglobina y con las propiedades como ligando del ion H⁺ sobre la Hb.

En respiración aérea, la hipercapnia incrementa más la respiración que no en respiración acuática. Este fenómeno, bien estudiado en mamíferos, está también claro en lagartos (Nielsen, 1962) y en tortugas (Jackson, 1973), además de en otros invertebrados y vertebrados terrestres. La hipercapnia, en respiración aérea, raramente ocurre con ausencia de condiciones de hipoxia, es decir, la hipercapnia generalmente es exponente de un estado de disnea. Realmente, la hiperventilación hipercápica no es la corrección de una hipoxia, sino que se produce para conseguir la reducción de un incremento de P_{CO₂} y la consiguiente acidosis.

La estimulación de la ventilación por hipercapnia aparentemente también existe en la respiración aérea de animales buceadores, pero suele ser baja, como es el caso del león marino (Robin et al. 1963; Dejours, 1975). La compensación a largo plazo de la acidosis se hace posiblemente por incremento de la [HCO₃⁻] en el plasma, como mecanismo no ventilatorio.

En la respiración aérea, con ligera hipoxia, normoxia o hiperoxia, inhalando mezclas enriquecidas con CO₂, se incrementa la ventilación. La hipercapnia pulmonar y arterial son los estímulos, tal como propusieron Haldane y Priestley en 1935. La literatura es muy abundante en este aspecto.

1.2.4.1.3. Variaciones del equilibrio ácido-básico

La regulación del equilibrio ácido-básico en homeotermos tiende a mantener

relativamente constante los valores del pH dentro de un estrecho rango (entre 7.3 y 7.5), excepto cuando las condiciones del medio son extremadamente calurosas o frías. En ambientes muy calurosos, los homeotermos hiperventilan e incrementan el pH de la sangre. En cambio, los poiquilotermos que están afectados muy directamente por cambios de la temperatura ambiental, siguen estrategias completamente diferentes:

1°.- El consumo de O_2 y producción de CO_2 varía con la temperatura. A incrementos de ésta, se producen aumentos del metabolismo energético lo que implica incrementos de la demanda de O_2 y de las necesidades de eliminación del CO_2 .

2°.- El estado del equilibrio ácido-básico es dependiente de la temperatura. Este fenómeno fue observado por primera vez por Austin et al. (1927), aunque la importancia de este control sobre el intercambio de gas y el equilibrio ácido-básico ha sido apreciado solamente en estos últimos años (Rahn, 1967; Robin et al. 1969; Howell et al. 1970; Reeves, 1972; Howell y Rahn, 1976).

En las tortugas el pH de la sangre decrece casi de forma lineal al incrementarse la T_c , como es el caso de *Chelidra serpentina*, en la que a $5^\circ C$ el pH es de 8.05 mientras que a $37^\circ C$ es de 7.48, dando un decrecimiento de 0.016 unidades de pH por cada $1^\circ C$ de incremento de la T_c (Howell et al. 1970). La variación del pH de la sangre con respecto a la temperatura evoluciona paralelamente en las especies poiquilotermas al valor del pH de neutralidad para el agua, a lo que Rahn (1967) denominó constante de alcalinidad relativa.

La hipercapnia por exceso de CO_2 ambiental no debe producir cambios morfológicos. Sin embargo, la acidosis, en particular la acidosis hipercápica, es un excitador muy importante de la ventilación en la respiración aérea, pero no tanto en respiración acuática. En algunos poiquilotermos, la reacción que presentan frente a un cambio de temperatura es tal, que se mantiene la constante de alcalinidad relativa para el agua. Sin embargo, la regulación del equilibrio ácido-básico, está subordinado, frente a una deficiencia de O_2 , al cambio de la ventilación la cual rectifica la hipoxia o hiperoxia que provoca desequilibrios ácido-básicos, que pueden ser compensados de forma secundaria.

1.2.4.2. Mecanismos reguladores de la ventilación

Algunos mecanismos de control de tipo morfológico como tipos de pulmones, superficie de intercambio de gas, o mecánica pulmonar, ya han sido descritos en otros apartados de esta tesis. Otros como tasas cardíacas, capilarización de los tejidos o flujo de sangre no entran dentro del ámbito de este trabajo, al menos de forma directa, por tanto nos referiremos sólo a los mecanismos de control que afectan directamente al intercambio del CO₂ y O₂ y su repercusión sobre el equilibrio ácido-básico.

1.2.4.2.1. Organización de un sistema ventilatorio neuromecánico.

El siguiente modelo se ajusta a los mamíferos, pero sin duda puede servir para describir también el modelo en otros invertebrados y vertebrados de respiración aérea, e incluso peces.

Los centros respiratorios (CR) envían periódicamente impulsos a los músculos respiratorios los cuales al contraerse alteran el volumen de la cavidad torácica provocando la ventilación. (Figura 6 obtenida de Dejours 1975).

El volumen de los pulmones o la tasa de cambio del volumen pulmonar, estimula algunos mecanorreceptores pulmonares. Estos receptores de estiramiento se hallan conectados a los centros respiratorios a través del nervio vago, y modulan la actividad de los centros respiratorios, a través del reflejo de Hering-Breuer, común a todos los mamíferos, aunque con variable intensidad (Widdicombe, 1964). Este importante circuito de control ventilatorio neuromecánico, actúa en cooperación con el formado por los mecanorreceptores de los músculos respiratorios, nervios aferentes intercostales, motoneuronas alfa intercostales y músculos respiratorios (Sears y Davies, 1968; Von Euler, 1973; Remmers, 1970; Gautier, 1973).

La integridad de las vías aferentes de la pared torácica y los pulmones es necesaria para que se mantenga el patrón ventilatorio normal. La supresión de estas vías nerviosas causa cambios permanentes en el patrón ventilatorio y disminuye las respuestas de los centros respiratorios para estimular la respiración (Bouverot, 1978; Gautier, 1973).

Otra forma de regulación de la ventilación es por variaciones de las tensiones de CO_2 , considerándose como proporcionales, es decir, la señal es proporcional a la desviación respecto a un punto en equilibrio: se regulan las oscilaciones que se producen en torno a un valor dado que se considera el punto de ajuste. Con todo, el control integral se halla asociado con el proporcional, dándose una regulación excelente con muy pequeños cambios en la P_{CO_2} de la sangre (Coon et al. 1984). Posiblemente los niveles de CO_2 en el líquido cefalorraquídeo pueden jugar un papel muy importante en este control integral.

Las respuestas ventilatorias mecánicas a cambios de O_2 y CO_2 ambientales se muestran en la Figura 7 (obtenida de Dejours, 1988). Este diagrama presenta el sistema neuromecánico ventilatorio con las distintas líneas aferentes que pueden modificar su actividad.

El sistema neuromecánico es una unidad funcional constituida por los centros respiratorios conectados a través de motoneuronas al aparato respiratorio, el cual está formado por dispositivos diferentes dentro de cada grupo zoológico: pulmones y complejos músculos cefálicos en anfibios; branquias y bomba opérculo-bucal en peces; y branquias, cilios y músculos en invertebrados. En peces, reptiles, aves y mamíferos, existen aferencias sensoriales con origen en el aparato respiratorio, que envían información a los centros respiratorios cerrando un circuito de retroalimentación (Fedde y Kuhlmann, 1978; Ballintijn, 1982).

Una P_{O_2} ambiental baja tenderá a provocar una disminución de la P_{O_2} de los líquidos corporales. A partir de ciertos valores, la P_{O_2} arterial activa un grupo de quimiorreceptores, que en reptiles están también en contacto con la sangre arterial. Al ser activados estos quimiorreceptores, los centros respiratorios son estimulados y se incrementa la ventilación. Por tanto, una hipoxia induce un aumento de la ventilación minuto.

La respuesta a la estimulación hipóxica en reptiles es similar a la de otros vertebrados, según se deduce de algunos trabajos que describen la existencia de quimiorreceptores arteriales (Franckel et al. 1969). Sin embargo, los cuerpos carotídeos o aórticos similares a los de mamíferos o aves, no han sido descritos para ningún tipo de reptil (Adams, 1958. Aunque en 1985 Ishii et al. encontraron quimiorreceptores

aórticos en la tortuga *Geoclemmys reevesii*.

Un estímulo ventilatorio es un factor de control respiratorio en el cual las variaciones fisiológicas actúan directa o indirectamente sobre los centros respiratorios e informan de las necesidades respiratorias del organismo. Esta definición pone de relieve que los estímulos respiratorios son factores naturales que varían en su intensidad dentro de unos límites fisiológicos (Dejours, 1959). Su acción sobre la ventilación se realiza a través de los centros respiratorios.

FIGURA 6: Diagrama del sistema ventilatorio neuromecánico de mamíferos mostrando la secuencia de los varios elementos desde los centros respiratorios a los pulmones, así como los retroalimentadores neuronales (Dejours, 1975).

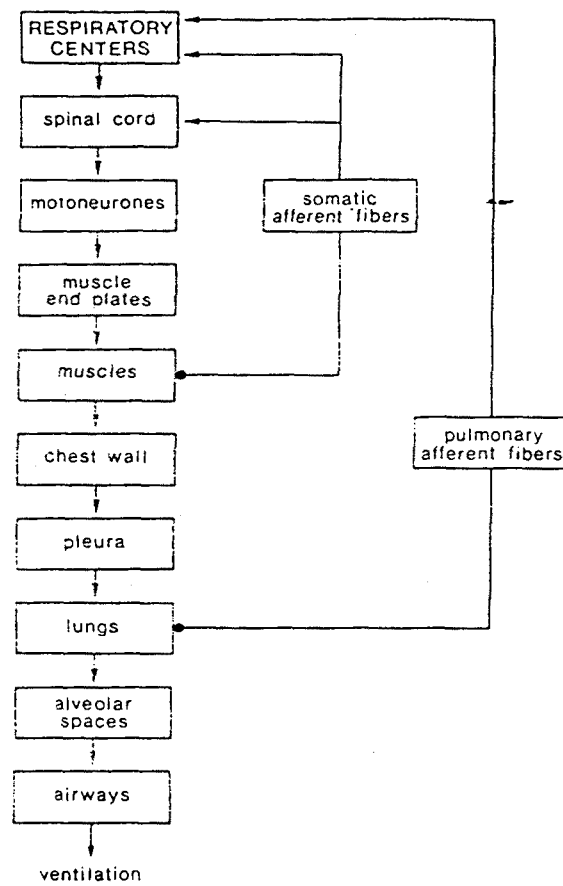
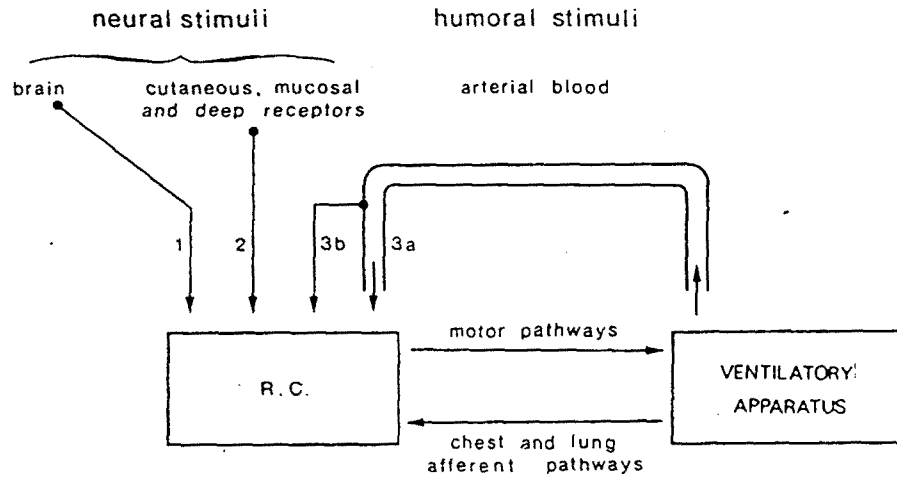


FIGURA 7: Esquema del sistema ventilatorio neuromecánico formado por los centros nerviosos (R.C.), las vías motoras hasta el aparato ventilatorio y las vías aferentes conectando el aparato ventilatorio a los centros nerviosos (Dejours, 1966).



| | | |
|---|---------------------------|--|
| | Intercentral (pathway 1) | cortical or subcortical origin |
| Neural stimuli (pathways 1, 2 and 4) | Reflex (pathways 2 and 4) | cutaneous receptors mucosal receptors proprioceptors (somatic mechanoreceptors) pulmonary or branchial chemoreceptors or mechanoreceptors |
| | | |
| Humoral stimuli (Blood-borne stimuli (pathway 3)) | Chemical | hypoxia (pathway 3b) $\cdot O_2$ hypercapnia, acidosis (pathways 3a and b) $CO_2 \cdot H^+$ catecholamines other chemical factors |
| | Physical | blood temperature blood pressure (pathway 3b) |

1.2.4.2.2. Estímulos respiratorios

En vertebrados, los receptores pulmonares con descarga de impulsos correlacionada con la tasa de ventilación pulmonar son mayoritariamente de dos tipos: quimiorreceptores intrapulmonares y receptores intrapulmonares extensos. Los primeros que han sido descritos en aves (Fedde y Peterson, 1970; Osborne y Burger, 1974) y en lagartos (Fedde et al. 1977) son principalmente sensibles a cambios en la concentración del CO_2 de las vías respiratorias. Los segundos han sido descritos en pulmones de mamíferos (Adrian, 1933), tortugas (Milsom y Jones, 1976), lagartos (Fedde et al. 1977) y ranas (Taglietti y Cassela, 1966; McKean, 1969) y a pesar de que el estímulo adecuado para estos receptores es una deformación mecánica, se ha demostrado que poseen varios grados de sensibilidad al CO_2 (Mustafa y Purves, 1972; Milsom y Jones, 1976, 1977, 1979; Fedde et al. 1977; Jones y Milsom, 1979). La función primaria sugerida para estos receptores en mamíferos (Widdicombe, 1964) y aves (Osborne y Mitchell, 1977) es controlar la relación entre V_T y f_R y minimizar el trabajo ventilatorio. Más recientemente, debido a su sensibilidad al CO_2 , se ha sugerido su implicación en la regulación de la P_{aco_2} durante el ejercicio muscular, y en la carga de CO_2 venoso e inhalación de CO_2 experimentales (Wasserman et al. 1967, 1975; Osborne y Mitchell, 1977). Las tortugas poseen quimiorreceptores intrapulmonares, pero parecen tener sólo la misma función refleja de los mecanorreceptores pulmonares, que también presentan (Milsom y Jones, 1979).

Como ya se ha mencionado, Benchetrit et al. (1977) y Ishii et al. (1985) han descrito quimiorreceptores en tortugas, perfundidos por la arteria pulmonar e inervados por las ramas derecha e izquierda del nervio vago.

1.2.4.2.2.1. La hipoxia como mecanismo regulador

Un decrecimiento de la P_{O_2} ambiental tiende a inducir una caída del P_{O_2} de los líquidos corporales, estimulando a partir de determinados valores a los correspondientes quimiorreceptores. En los mamíferos, éstos son células sensoriales agrupadas en los arcos aórticos y del seno carotídeo (Heyman y Neil, 1958). En aves (Bouverot, 1978)

y ciertos reptiles (Ishii et al. 1985), también se han descrito grupos de células quimiorreceptoras perfundidas por sangre arterial. Una disminución de la P_{O_2} estimula estos quimiorreceptores que envían impulsos a los centros respiratorios incrementándose la ventilación (Figura 7). En los quelonios se han descrito quimiorreceptores tipo Heymans (Heymans y Neil, 1958) con las mismas propiedades que en mamíferos y aves, y son excitados tanto por hipoxia como por hipercapnia, acidosis y ciertas drogas (Benchetrit et al., 1977; Ishii et al., 1985).

Wasser y Jackson (1988) hallaron un incremento de la ventilación minuto frente a anoxia (100 % N_2) en *C. pictabellii*. Las tortugas tienen una buena tolerancia a prolongadas anoxias (Belkin, 1964, 1968 a, b; Robin et al. 1964), pero también exhiben respuestas ventilatorias quimiosensibles a P_{CO_2} elevada (Silver y Jackson 1985) y P_{O_2} reducida (Jackson, 1973; Benchetrit et al. 1977; Benchetrit y Dejours, 1980; Glass et al. 1983). Hitzig y Nattie (1982) aportan datos de un aumento de los períodos de apnea en *P. scripta* sometida a una ventilación con mezclas de gas anóxico. La magnitud de la respuesta ventilatoria está relacionada directamente con el % de CO_2 de esta mezcla.

1.2.4.2.2. La hipercapnia como mecanismo regulador

La hipercapnia actúa como factor en el control de la ventilación de modo que un incremento de la concentración de CO_2 y HCO_3^- en la sangre arterial aumenta la ventilación. La hipercapnia estimula los receptores mucosales y tegumentarios y provoca una respuesta ventilatoria contrarrestando la hipercapnia de los fluidos corporales. Algunos incrementos notables de CO_2 del ambiente, pueden estimular varios tipos de receptores. En la mayoría de vertebrados los centros respiratorios y los quimiorreceptores tipo Heymans responden a la hipercapnia. El mecanismo de estimulación de los centros nerviosos por hipercapnia y acidosis se ha descrito en numerosos trabajos. La acción principal de la hipercapnia fue descrita al final del siglo XIX y los quimiorreceptores tipo Heymans y quimiorreflejos hacia 1930, recientemente se han descrito nuevos receptores pulmonares de CO_2 (Milsom, 1979; Scheid et al. 1978; Shelton et al. 1986). Su respuesta es inversamente proporcional al P_{CO_2} y su actividad inhibe los centros respiratorios. Al aumentar la P_{CO_2} , su descarga decrece, los centros nerviosos resultan menos inhibidos y se incrementa la respiración. Estos

receptores también son estimulados por deformaciones mecánicas y se han encontrado en algunas especies de reptiles (Glass and Wood, 1983). Por otra parte, los mecanorreceptores pulmonares de algunos anfibios y reptiles, son también sensibles a las disminuciones de CO_2 . AL estimularse mecánicamente estos receptores, a través del clásico reflejo de Hering-Breuer, se produce una hiperventilación. Sin embargo este mecanismo quizá no juega un importante papel en el rango de variaciones normales de valores de P_{CO_2} .

Estos dos tipos de receptores pulmonares, los puramente quimiorreceptores de CO_2 y los mecanorreceptores sensibles al CO_2 , no son estimulados por hipoxia, por tanto no son quimiorreceptores del tipo Heymans, ya que éstos son estimulados por hipoxia e hipercapnia.

La Tabla 2 obtenida de Dejourns (1988), presenta un resumen de todas las vías a través de las que el CO_2 afecta a la ventilación. En mamíferos, la inducción de la hiperventilación por el CO_2 es debida a la estimulación de los quimiorreceptores Heymans y de los sensores centrales. En aves y reptiles la situación es más compleja ya que los receptores pulmonares tienen respuesta inversa al incremento de CO_2 , por lo que indudablemente responden a variaciones de P_{CO_2} dentro de un rango de valores normales. Además, la ventilación en reptiles, es un fenómeno cíclico, durante el cual va variando la tensión de P_{CO_2} en el gas de las vías respiratorias, gas alveolar y sangre arterial. La descarga de varios sensores de CO_2 está en fase con el ciclo ventilatorio, y estos quimiorreceptores informan a los centros nerviosos induciendo al aumento o disminución de la ventilación. Esta cuestión es muy controvertida (Cunningham, 1987). También la hipercapnia es un estímulo respiratorio efectivo en algunos reptiles (Glass y Johansen, 1976), además de que los sistemas que rigen el patrón ventilatorio de estas especies son sensibles a la hipoxia (White, 1978). Wood y Lenfant (1976) en un estudio comparativo de la sensibilidad al CO_2 en diferentes especies han puntualizado que es difícil de establecer esta sensibilidad, debido a las variaciones y diferencias arterioalveolares en el P_{CO_2} y P_{O_2} , las cuales son debidas a una derivación sanguínea intracardiaca, además la temperatura corporal dificulta aún más estas comparaciones.

La ventilación en tortugas está asociada a la derivación izquierda-derecha intracardiaca, ya que en apnea y buceo, se desarrolla ésta (Millen et al. 1964; Shelton

y Burggren, 1976; Steggerda y Essex, 1957; White, 1976; White y Ross, 1965; Wilkens, 1976). El significado funcional de estos cambios en la relación \dot{V}_E/Q (ventilación-perfusión) no está muy claro (White, 1978). La taquicardia ventilatoria es muy común en reptiles en los que la ventilación es discontinua con periodos de apnea de duración variable. Las variaciones en la resistencia vascular pulmonar durante el ciclo respiratorio y el buceo, puede estar ligado al control cardíaco por los centros nerviosos (Burggren, 1975). Cada sistema integrador puede ajustar la relación ventilación-perfusión a los niveles más favorables de las diferencias de presiones parciales, favoreciendo el intercambio de gas durante la ventilación y apnea (White, 1978).

TABLA 2: Diferentes tipos de receptores sensitivos al CO₂ en vertebrados excepto peces (Dejours, 1988).

| | Effect of hypercapnia on ventilation of: | | | |
|---|--|-----------|--------------|----------|
| | Amphibians | Reptiles | Birds | Mammals |
| Central chemoreceptors | ? | + (1, 1a) | + (12) | + (10) |
| Heymans-type chemoreceptors | + (7) | + (8) | + (2, 3, 11) | + (3, 6) |
| Intrapulmonary CO ₂ -chemoreceptors | | + (9) | + (5) | |
| Pulmonary CO ₂ -sensitive mechanoreceptors | + (5) | + (5, 9) | | +?(3, 4) |

+ indicates an increase of ventilation.

1 Benchetrit and Dejours (1980)

1a Davies and Sexton (1987)

2 Bouverot and Leitner (1972)

3 Bouverot (review) (1978)

4 Coleridge *et al.* (1978)

5 Fedde and Kuhlmann (review) (1978)

6 Heymans and Neil (review) (1958)

7 Ishii *et al.* (1966)

8 Ishii *et al.* (1985)

9 Jones and Milsom (1979)

10 Kellogg (review) (1964)

11 Nye and Powell (1984)

12 Sébert (1979)

1.2.4.2.3. Mecanismos ventilatorios para el control del equilibrio ácido-básico

El control respiratorio del equilibrio ácido-básico lógicamente es un mecanismo de control válido sólo para respiración aérea, permitiendo la regulación del pH a través del control mediante anteroalimentación positiva de la eliminación del CO₂ y en consecuencia del ácido carbónico. La acidosis estimula los quimiorreceptores centrales a nivel del bulbo raquídeo y en condiciones drásticas este fenómeno es potenciado por las descargas de los quimiorreceptores carotídeos y aórticos y facilita la eliminación de CO₂ y por lo tanto de ácido.

Cuando hay una alteración del equilibrio ácido-base se produce una respuesta con cambios fisiológicos secundarios que reducen la desviación del pH sanguíneo. Este efecto secundario se denomina "compensador". Los mecanismos compensadores son respuestas reguladoras respiratorias o renales que ajustan la P_{CO₂} por medio de cambios de la ventilación alveolar o de variaciones en la tasa de excreción renal de ácido. Ambas reacciones tienden a revertir hacia su valor normal la relación [HCO₃⁻]/^α·P_{CO₂} y por lo tanto el pH que sabemos guarda una relación directa con este cociente a través de la ecuación de Henderson-Hasselbalch:

$$\text{pH} = \text{pK}' + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{\alpha_{\text{CO}_2} \cdot \text{P}_{\text{CO}_2}}$$

La acidosis respiratoria estimula la eliminación renal de H⁺ y la reabsorción de HCO₃⁻ y una insuficiencia ventilatoria provoca el efecto contrario. Recíprocamente, el exceso o escasez de base estimula o deprime la ventilación. Vemos pues que la forma tradicional de regulación del equilibrio ácido-básica ha significado en mamíferos la regulación del pH. Esta regulación del pH se logra por medio del control que los sistemas ventilatorio y renal ejercen respectivamente sobre numerador y denominador del cociente [HCO₃⁻]/^αCO₂ · P_{CO₂}, cuyo valor debe mantenerse estabilizado alrededor de 20, lo que condiciona el citado pH de 7.4.

La respuesta reguladora tiende a restablecer el valor normal de base amortiguadora (HCO₃⁻ + Buf⁻) y del llamado bicarbonato estándar.

Aparece pues como variable regulada prioritaria el pH y como variables controladas

el complejo $\text{CO}_2\text{-HCO}_3^-$, es decir aquellas que se mantienen constantes cuando el sistema biológico se mantiene en estado estable pero pueden modificarse por acción de perturbaciones para regular la variable más crítica o pH.

Pues bien, esta visión recogida en la mayoría de textos actuales no es más que la manifestación particular de una estrategia regulatoria general en los animales que se ha podido dilucidar gracias a los esfuerzos en la investigación comparada, llevados a cabo por fisiólogos como Rahn et al. (1975), por lo que su consideración tiene un significado especial en el marco de la fisiología animal. El estudio en la escala animal demuestra que esta visión de una estrategia encaminada a regular prioritariamente el pH es obsoleta hoy en día. En el buen entendido de que los mecanismos descritos son válidos.

Los reptiles utilizan distintos mecanismos para eliminar productos ácidos del metabolismo fuera del cuerpo y a la misma tasa en que son producidos. Uno de estos mecanismos, es la excreción de CO_2 por los pulmones y otras superficies de intercambio a partir del control del P_{CO_2} , regulando así el equilibrio ácido-básico.

Una pérdida de CO_2 extrapulmonar reduce la fracción de CO_2 metabólico expulsado por los pulmones aunque no afecta la validez de la relación $\dot{V}_A/\dot{V}_{\text{CO}_2}$, que está relacionada además con la temperatura descendiendo con ésta. Por tanto el animal eleva su ventilación a causa del ascenso de PA_{CO_2} , causado por una elevación de temperatura.

La acidosis respiratoria inducida por la respiración de CO_2 , produce una variedad de respuestas ventilatorias en reptiles dependiendo de las especies y de la importancia de los estímulos. Jackson et al. (1974) en *P. scripta*; Glass y Johansen (1976) en *Acrochordus javanicus*; Boelaert (1941), Nielsen (1961), Templeton y Dawson (1963) en lagartos; Jackson et al. (1979) en *Chelonia mydas*; Davies, 1978; Davies et al. (1982) en *Alligator mississippiensis*, encuentran un incremento de la ventilación y de la frecuencia respiratoria con altos porcentajes de CO_2 , aunque con diferentes intensidades. Asumiendo que el control de la respiración normal en reptiles está basado principalmente en el CO_2 más que en el O_2 , ya sea directamente o por vía del pH o cambios en el α -imidazol, la gran variedad de resultados frente a cambios en el CO_2 ventilado, es difícil de interpretar. Dos posibles explicaciones pudieran ser, de una

parte, los requerimientos respiratorios y hábitats particulares de los reptiles y, por otra, la estructura de los quimiorreceptores que actúan mediando la respuesta. La primera de ambas (hábitat - necesidades respiratorias) es bastante especulativa, ya que la interpretación puede estar basada en muchas evidencias fragmentadas. Con respecto a la relación entre sensibilidad al CO_2 y hábitats normales de los animales, pueden considerarse las respuestas en condiciones extremas. Por ejemplo, *Acrochardus* intercambia gas principalmente por respiración cutánea, por lo cual la ventilación pulmonar puede ser insignificante en el control respiratorio (Glass y Johansen, 1976). Estudios en anfibios han mostrado que el intercambio de gas cutáneo está pobremente controlado (Jackson, 1978). En contraste *Pseudemys* y *Alligator* tienen principalmente intercambio pulmonar. Reptiles buceadores pueden desarrollar una notable acidosis respiratoria como resultado de la apnea. Para estos animales el poseer una sensibilidad alta al CO_2 con altas PaCO_2 , puede ser una importante adaptación que promueve recuperaciones rápidas del equilibrio ácido-base durante el buceo (Jackson y Silverblett, 1974). Los lagartos, por otra parte, no sufren normalmente exposiciones severas a acidosis respiratorias y su margen de control puede estar limitado a pequeños desplazamientos de los valores normales; altas concentraciones de CO_2 inspirados puede representar un estímulo nocivo inespecífico, que inhibe la respiración, pero no produce cambios fisiológicos significativos. La información sobre funciones receptoras está limitada a algunas especies y sólo en el caso de tortugas semiacuáticas es suficiente para permitir una tentativa de interpretación de la respuesta al CO_2 .

Estudios con estimulación selectiva de zonas dotadas de supuestos receptores indican la existencia de un quimiorreceptor central dominante en *P. scripta* (Hitzig y Jackson, 1978) que produce principalmente incremento de la frecuencia respiratoria (Hitzig, 1977) y un quimiorreceptor pulmonar inervado por el nervio vago en *Chrysemys picta* (Milsom y Jones, 1979) que interviene sobre un 20 % de la respuesta total para pequeños incrementos de la tasa y volumen de CO_2 (Milsom y Jones, 1980). También se han identificado receptores pulmonares mediados por el vago en el lagarto *Tupinambus nigropunctatus* y presumiblemente se encuentran también en alguno más de los animales sensibles a CO_2 (Fedde et al. 1977). Considerando la débil respuesta de los lagartos estudiados, es tentador especular que este grupo carece del control

quimiorreceptor central del que disponen las tortugas de agua dulce.

1.2.4.3. Factores que afectan la respiración

Tres factores pueden variar considerablemente el gasto energético de un animal: temperatura ambiente, actividad muscular y alimentación. Sólo trataremos aquí el primer factor, ya que los otros dos no se encuadran en nuestro ámbito de trabajo.

Las variaciones de la temperatura ambiente tienen diferentes efectos sobre poiquiloterms y homeoterms. En los primeros, la exposición al frío produce un decrecimiento del consumo de oxígeno, sin embargo en los homeoterms, se incrementa. Considerando las tortugas como ejemplo de animales poiquiloterms, Kinney et al. (1977) aportó datos de su sistema respiratorio, observando que el incremento de ventilación causado por aumento de temperatura es proporcionalmente menor que la elevación en el consumo de O_2 , consecuentemente, la P_{aCO_2} asciende y el pH decrece con la temperatura. Así mismo, aumenta el flujo sanguíneo, como lo evidencia el que mientras que la presión pulmonar y sistémica de la sangre apenas varían, se producen amplios decrecimientos de las resistencias sistémicas y pulmonares. Los mecanismos reguladores de estas reacciones a los cambios térmicos son poco conocidos.

En poiquiloterms, contrariamente a lo que ocurre en homeoterms, la reacción frente a un incremento de la temperatura es un aumento de la intensidad respiratoria. Sin embargo, las leyes que gobiernan estos cambios de consumo de O_2 no son simples.

Un cambio en la temperatura afecta no sólo a los parámetros físicos asociados con el intercambio de gas y transporte, sino que también afecta a las tasas de consumo de O_2 y producción de CO_2 , tanto en anfibios como en reptiles (Whitford, 1973; Bennet y Dawson, 1976).

En reptiles, los efectos de la temperatura son muy variables. En *Pseudemys scripta*, por ejemplo, se ha encontrado que una bajada de la temperatura entre 30 y 10°C no causa cambios respiratorios en el volumen minuto (Jackson, 1978). Por el contrario, en *Chelonia midas* (Kraus y Jackson, 1980) y *Terrapene ornata* (Glass et al. 1979), el volumen minuto decrece a bajas temperaturas, igual que en la iguana marina

Amblyrhynchus cristatus (Ackerman y White, 1980). Los varánidos muestran así mismo un marcado descenso del volumen minuto si baja la temperatura (Wood et al. 1977). En la mayoría de los casos estos descensos son debidos a un decrecimiento de la frecuencia respiratoria alargando así la duración de los periodos de apnea.

De esta forma se han podido seguir los cambios de las variables respiratorias durante periodos de apnea voluntaria y prolongada a niveles de temperatura extremos.

La tortuga *Mauremys caspica* presenta un control ventilatorio muy efectivo dentro de un rango normal de temperaturas corporales (15-35°C). Este control no se da a temperaturas extremas (40°C) en que su patrón se desvía del patrón corriente dado en otras tortugas.

El control a temperaturas fisiológicas se manifiesta por valores consistentes del pH y P_{CO_2} de la sangre (Robin, 1962; Frankel et al. 1966) y por una comparación cerrada entre \dot{V}_E y \dot{V}_{O_2} (Jackson, 1971). Los valores particulares de todas las variables controladas, dependen de la T_c del animal.

Jackson et al. (1974), describieron un control respiratorio a un cambio de temperatura entre 10-35°C sobre pH, P_{CO_2} , \dot{V}_E y \dot{V}_{O_2} . A 10°C y con un 2 % de CO_2 inspirado, observaron que se producía una disminución de la ventilación, mientras que al 6 % de CO_2 causa sólo un pequeño incremento comparando la misma concentración de CO_2 a 20 y 30°C.

Con la temperatura la P_{CO_2} arterial aumenta mientras que el pH decrece aparentando ser este efecto de la temperatura sobre el pH de la sangre un principio general de la fisiología ácido-básica en los poiquilotermos (Austin et al. 1927; Howell et al. 1970, 1973).

En *Pseudemys scripta* parece que el efecto de la temperatura en la regulación del pH sanguíneo y su P_{CO_2} se produce aparentemente por un ajuste fisiológico de la relación entre ventilación pulmonar y tasa metabólica, causando un decrecimiento del equivalente ventilatorio (\dot{V}_E/\dot{V}_{O_2}) (Jackson, 1971; Funck y Milsom, 1987. Algo parecido sucede en lagartos (Nielsen, 1961) y en *Iguana iguana* (Giordano y Jackson, 1973).

Numerosos estudios sobre el control ventilatorio de reptiles han proporcionado detallada información sobre las tensiones de gas arterial y pH (Wood y Lenfant, 1976; Dupré et al. 1985). Así mismo se han evaluado las respuestas ventilatorias a bajas P_{O_2} .

inspirados, teniendo en cuenta la considerable diferencia entre gas inspirado alveolar y arterial (Burggren y Shelton, 1979). Se han estudiado las respuestas ventilatorias al descenso de P_{O_2} arterial en *C. picta bellii* (Pritchard, 1979), relacionándolos con el pH y temperatura (Glass et al. 1983). Un aumento de ésta implica un incremento de la ventilación y un decrecimiento de la P_{O_2} arterial, disminuyendo la afinidad de la Hb por el O_2 (Edwards y Dill, 1935; Wood y Moberly, 1970; Jackson, 1973; Jackson et al. 1979; Howell et al. 1970; Frankel et al. 1966; Jackson, 1973).

Los pulmones de las tortugas tienen un gran volumen pulmonar en comparación a su capacidad de difusión (Crawford et al. 1976). Se ha señalado que cuando el metabolismo se incrementa con la temperatura, lo hace también la frecuencia ventilatoria durante la apnea, con la glotis cerrada (White y Kinney, 1976). Estas contracciones musculares producen diferencias de presión en los pulmones. Esto indudablemente causa un flujo de gas intrapulmonar y aumento del intercambio de gas por su influencia en la estratificación. El papel cuantitativo jugado por esta actividad muscular modificando las tensiones de gas alveolar no está bien determinada (Kinney y White, 1977).

Aunque se conoce muy poco sobre la regulación de las variaciones de O_2 y CO_2 en función de la temperatura en las tortugas, se pueden resaltar algunos puntos:

- 1.- La respiración de órganos y tejidos incrementa con la temperatura y los capilares pueden abrirse por mecanismos locales; así en *P. floridana* se ha descrito que la resistencia sistémica y pulmonar decrecían con la temperatura (Kinney et al. 1977).
- 2.- La viscosidad de la sangre decrece en la rana toro y en tortugas pintadas al incrementarse la temperatura de 10 a 30°C (Langille y Crisp, 1980). Este fenómeno puede facilitar el incremento de flujo de sangre.
- 3.- La temperatura incrementa la frecuencia cardíaca.
- 4.- Se desconoce si el corazón y los músculos lisos vasculares son afectados por cambios de actividad del sistema nervioso autónomo como resultado de alteraciones térmicas.
- 5.- La actividad ventilatoria aumenta presumiblemente como resultado de la acción directa de la temperatura sobre el encéfalo y los centros respiratorios. Así, Kinney et al. (1977), describen aumentos en el volumen corriente y también, aunque menos

marcado, en la frecuencia ventilatoria.

6.- En la tortuga *Testudo horsfieldi*, Benchetrit et al. (1977) demuestran una conducción de O_2 ventilatorio (conducción quimiorrefleja) la cual incrementa con la temperatura. La conducción de CO_2 de la ventilación (Benchetrit y Dejours, 1980), puede también ser dependiente de la temperatura. La conducción quimiorrefleja presumiblemente existe en la tortuga *P. floridana*. La P_{CO_2} arterial se incrementa con la T_c y puesto que Kinney et al. (1977) aportan que los valores de P_{O_2} decrecen con la temperatura, estos cambios de P_{CO_2} y P_{O_2} pueden ser factores de un incremento de la conducción quimiorrefleja de ventilación.

7.- Hay interferencia mecánica entre la circulación y ventilación, ya que el corazón y vasos sanguíneos están localizados en la cavidad corporal, la cual actúa como una bomba de aire. Esta disposición puede ser importante en el acoplamiento entre ventilación y convección de sangre.

8.- Existe una relación entre bomba ventilatoria y cardíaca. La frecuencia cardíaca es más alta durante los periodos ventilatorios que durante la apnea.

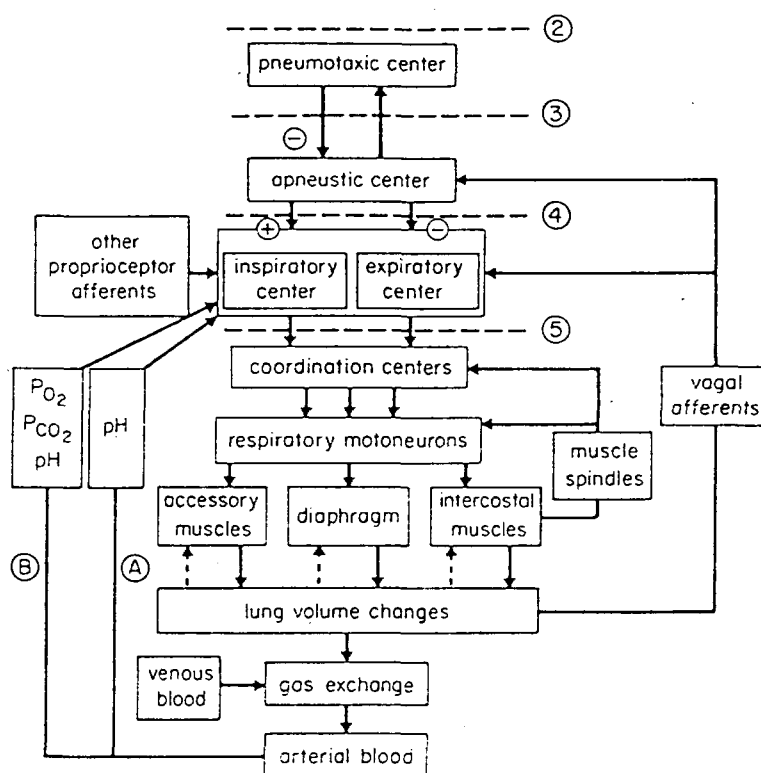
9.- En algunos poiquiloterms expuestos a ambientes con gradiente térmico, pueden existir interrelaciones entre el ambiente elegido y la T_c , termopreferendum y condiciones de oxigenación.

Podríamos resumir todo esto, diciendo que, en mamíferos, el sistema de control de la ventilación, se ajusta a las necesidades de las demandas metabólicas para el intercambio de gas. Para este ajuste, los centros nerviosos usan información de las presiones parciales de O_2 y CO_2 y de la concentración de H^+ en sangre arterial, información proporcionada por células quimiorreceptoras cercanas a sus propios centros así como en zonas estratégicas de arterias importantes (carótida, aorta). Modificaciones apropiadas del motor de arranque requiere el procesamiento, almacenamiento e integración de esta información con otras señales recibidas por los centros. De este modo, se regula la ventilación de los pulmones por unidad de tiempo, con objeto de mantener las tensiones de O_2 y CO_2 constantes, dentro de un estrecho límite bajo condiciones fisiológicas. (Figura 8 obtenida de Bouhuys, 1977). Resume todas las interrelaciones entre respiración externa, ventilación y mecanismos de control tanto nervioso como químico y mecánico.

FIGURA 8: Principales componentes funcionales del sistema de control y aparato ventilatorio. (Bouhuys, 1977).

A: quimiorreceptores centrales.

B: quimiorreceptores periféricos.



1.3. BASE TEORICA

1.3.1. DIAGRAMA VOLUMEN-PRESION

Durante la ventilación, los pulmones se hinchan y deshinchán de forma cíclica. Los movimientos de pulmones y pared torácica, se producen como resultado de las fuerzas ejercidas activamente por los músculos respiratorios y de las propiedades elásticas pasivas de sus propias estructuras. La pared torácica ejerce fuerzas en sentidos opuestos y además hay que contar con las fuerzas elásticas pulmonares y con la resistencia ofrecida por las vías aéreas. La interacción entre fuerza aplicada y opuesta, da lugar a una presión en los pulmones que puede desviarse de la atmosférica. A partir de aquí, se establece una relación entre presión-volumen, que se puede usar para describir la presión máxima que los músculos respiratorios pueden generar, el trabajo ventilatorio y los factores que limitan el volumen inspiratorio y espiratorio.

Los pulmones son estructuras elásticas que pueden expandirse cuando se aplica una fuerza y retornan pasivamente a su estado inicial al ceder aquella. Los tejidos pulmonares tienen también propiedades viscosas, de manera que podríamos decir que los pulmones son unos órganos viscoelásticos más que puramente elásticos, dependiendo esta elasticidad de la presencia de fibras elásticas y colágenas. Si se desea precisar la resistencia elástica normal del pulmón, es necesario conocer también el volumen pulmonar. La relación entre compliancia y volumen pulmonar se conoce como compliancia específica. Una disminución de ésta, significa mayor rigidez pulmonar.

Las propiedades físicas de cada cuerpo, son muy complejas y distintas, pudiéndose usar una misma terminología. Un sistema pulmonar, al estar sometido a una fuerza de distensión puede seguir un camino distinto o igual al de la relajación. Si hay una vía distinta para la inflación y deflación se puede hablar de histéresis pulmonar, siendo una función de la superficie alveolar, dependiendo también del volumen pulmonar y de la dirección que sigue el cambio de volumen. Durante la inflación, los pulmones requieren una presión más alta que durante la deflación para llegar a un mismo volumen. Así mismo, en pulmones vacíos se requiere una presión de abertura mucho más alta para su hinchamiento.

Otros factores que pueden influir sobre la histéresis son la contracción muscular y el efecto de la viscoelasticidad sobre la tensión de relajación, de manera que cuando un pulmón se hincha con un cierto volumen, la presión de distensión decrece con el tiempo, lo que queda reflejado en la reorientación y realineación de las fibras del tejido, dando lugar a una menor histéresis. De forma inversa, a presiones constantes el volumen pulmonar se incrementa con respecto al tiempo, ya que la abertura de alvéolos colapsados puede contribuir a la relajación de los pulmones.

El diagrama volumen-presión de los pulmones es la curva que se obtiene a partir de las variaciones de presión pulmonar como consecuencia de los cambios de volumen. Los valores obtenidos y dibujados sobre un eje de coordenadas muestran un diagrama como el presentado por Perry y Duncker (1978). La pendiente de la parte recta de este diagrama mide la compliancia o adaptabilidad pulmonar, es decir, la modificación del volumen pulmonar frente a cambios de presión transpulmonares o diferencia entre presión pleural y alveolar. El desfase que se produce entre tensión y extensión da lugar a un ciclo de histéresis.

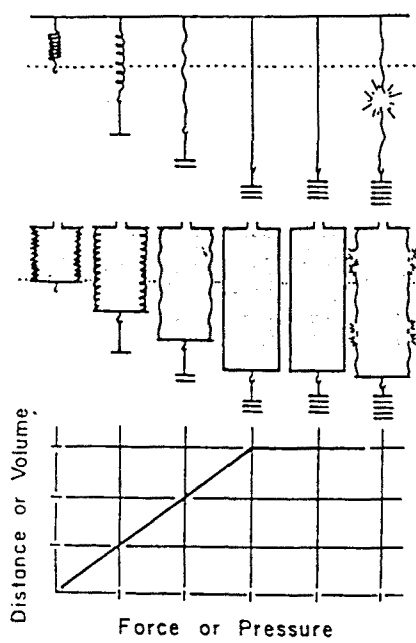
Una vez descrito a grandes rasgos el diagrama V-P vamos a definir cada concepto.

Compliancia

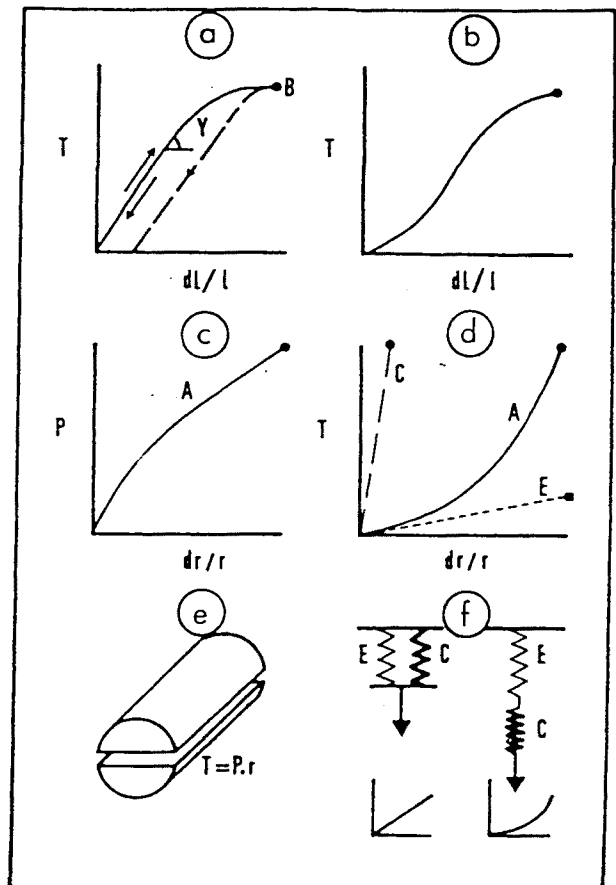
La compliancia también llamada adaptabilidad, dilatabilidad o distensibilidad es la propiedad de una estructura tridimensional (arteria, pulmón) de cambiar su volumen por desplazamiento de sus paredes cuando se le aplica una presión. Robert Hooke hacia finales de 1600 describió que la relación tensión/fuerza es constante para una estructura elástica hasta que se rebasa el límite elástico. La ley de Hooke muestra que el incremento en la longitud o volumen de una estructura elástica varía directamente con el incremento en la fuerza o presión aplicada hasta alcanzar el límite elástico. Algunas de las estructuras fisiológicas obedecen a esta relación lineal en de una parte de su intervalo de distensibilidad (Figuras 9a y 9b).

FIGURA 9a: Ley de Hooke aplicada a un muelle y a los pulmones. Para una estructura elástica, el incremento en la longitud (o volumen varía directamente con el incremento en la fuerza (o presión) hasta que el límite elástico es rebasado (Mines, 1986).

FIGURA 9b: Ley de Hooke: Y, módulo de extensibilidad; B, punto de rotura; 1: elasticidad; 2: pérdida de elasticidad; b) elastómero; c y d) relación presión-longitud de una arteria (A), del colágeno (C) y de las fibras elásticas (E); Ley de Laplace para un cilindro; alargamiento de las fibras elásticas y colágenas en serie y en paralelo. Este módulo de expansión volúmica sólo se aplica a gases y líquidos. (Meyer, 1985).



9 a



9 b

Según esta ley, la relación entre la fuerza F y el alargamiento de un hilo o varilla perfectamente elástica es lineal:

$$F = \frac{Y \cdot dl}{l}$$

Y = módulo de extensibilidad de Young, es la fuerza que duplica la longitud. Es constante hasta un cierto valor de F, por encima del cual el alargamiento se hace importante y conduce a la rotura.

Si se considera la fuerza aplicada sobre sección S de la varilla estirada o de la longitud X de una banda estrecha de pulmón o de vaso, se obtiene una relación entre el alargamiento y la presión:

$$P = F/S$$

o la tensión

$$T = F/X : P = Y \cdot dl/l \text{ y } T = Y \cdot dl/l.$$

La mayoría de los tejidos, piel, pulmón, bronquios y paredes vasculares, no obedecen la ley de la linealidad de Hooke, pero muestran una relación T/l curvilínea con un módulo de extensibilidad (Y) creciente con el alargamiento. Este comportamiento se atribuye en general a la heterogeneidad de los tejidos, formados por elementos de diferente distensibilidad, músculos, fibras elásticas y de colágeno. La relación T/l de cada uno de estos elementos se considera lineal.

Se sabe que la extensibilidad de las fibras elásticas sigue siendo muy superior a la del colágeno, incluso en las elongaciones más importantes y que la relación T/l de las fibras elásticas aisladas, considerada durante mucho tiempo como lineal, muestra ser curvilínea con las técnicas más finas. Es más probable por tanto que la curvilinealidad sea una propiedad intrínseca de las fibras elásticas y que el colágeno, que es prácticamente inextensible (el alargamiento máximo es del 2 %), desempeñe un papel de freno mecánico de seguridad, limitando el volumen máximo de las estructuras anatómicas. Las fibras elásticas tendrían así las propiedades de los elastómeros, sustancias caracterizadas por un ordenamiento molecular especial que les confiere una

relación T/l sigmoidea con una rigidez al principio creciente y más tarde con una tendencia a disminuir en la proximidad del punto de rotura.

Cuando se mide la deformabilidad de un cuerpo, en este caso, la adaptabilidad, la variación de volumen dV es esencial expresarla con relación a su volumen inicial (dV/V), mejor que en valor absoluto, ya que a una misma presión un balón pequeño (en nuestro caso un pulmón), se hincha menos que uno grande, pero sus variaciones relativas son idénticas y características de su estructura, mientras que las deformaciones expresadas en valor absoluto, dependen también de su tamaño.

La distensión en relación al volumen inicial se denomina compliancia específica ($C = dV/V.dP$), pudiéndose calcular con ella, la resistencia elástica normal del pulmón. Una disminución de esta compliancia implica un aumento de rigidez pulmonar. Su inverso es la extensibilidad o coeficiente de elastancia: $E = dP(dV/V)$, que es la variación de volumen de una estructura hueca (vaso, pulmón) por estiramiento uni- o bidireccional, sin que exista necesariamente cambio de volumen del material que forma las paredes.

Histéresis

La distinta trayectoria que sigue un sistema con aplicación o eliminación de una fuerza, es lo que se conoce como histéresis, tal como hemos indicado anteriormente.

Las deformaciones de los cuerpos sometidos a fuerzas de estiramiento no son instantáneas y presuponen bien deslizamientos tisulares, o bien reordenaciones moleculares, o ambos a la vez, como causa de rozamientos internos reflejados como la viscosidad de los tejidos, dando lugar a una pérdida de energía mecánica, producción de calor y retraso entre fuerza y deformación. Inversamente, cuando la tensión cesa, la deformación no desaparece instantáneamente y los materiales no recuperan de forma inmediata sus propiedades iniciales.

Estos hechos se traducen de varias maneras:

a) La extensión brusca de una estructura crea una tensión que disminuye progresivamente para establecerse en un valor más bajo.

b) La aplicación brusca de una tensión produce un alargamiento rápido seguido de un deslizamiento progresivo. En ambos casos la estructura viscoelástica se hace progresivamente más distensible.

c) Cuando una estructura, por ejemplo la pared pulmonar, se somete a rápidas variaciones de tensión, aparece un desfase entre tensión y extensión y se registra un ciclo de histéresis, cuya anchura aumenta con la frecuencia de las oscilaciones y la pared parece más rígida, cómo si sólo interviniera una parte de las propiedades distensibles. Esto supone la existencia de un módulo de distensibilidad dinámica, superior al módulo de distensibilidad estática y que implica dos elementos, uno proporcional al módulo estático e independiente de la frecuencia, mientras que el otro es función de la viscosidad hística y aumenta con la frecuencia, de forma que la estructura parece tanto más rígida cuanto más elevadas son las frecuencias de las oscilaciones a las que se somete.

Con estos conceptos se intenta estudiar las propiedades mecánicas pasivas del sistema ventilatorio. Para ello es necesario obtener una relajación muscular perfecta, que se puede conseguir con anestesia, tratamiento con curare o con pulmones aislados in situ.

La relación presión-volumen es prácticamente lineal para pequeñas variaciones de volumen. En la zona correspondiente a la ventilación en reposo normal, la pendiente de la recta dV/dP es la distensibilidad o compliancia del pulmón; su inversa es la elastancia.

Cuando las variaciones de volumen son más acusadas, la relajación deja de ser lineal y las curvas de insuflación y vaciado ya no se superponen. Dicho de otra forma, aparece la histéresis, observándose un mismo volumen para una presión mucho más baja en la espiración que en la inspiración. La histéresis es tanto más importante cuanto mayor es el volumen inspirado y más bajo el volumen preinspirado. Se reduce por una ventilación previa a volumen alto.

Existen tres razones que explican la histéresis de los bucles presión-volumen:

- 1.- La viscoelasticidad del tejido pulmonar que después de un estiramiento no vuelve instantáneamente a su posición de equilibrio, sino que conserva cierta deformación residual durante algunos instantes. De esta manera, la deformación aparece retrasada con respecto a la variación de presión que la provoca y da lugar a un ciclo de presión-volumen tanto más amplio cuanto más rápidas son las oscilaciones de presión.

2.- La película tensoactiva alveolar también manifiesta cierta lentitud de respuesta a las variaciones cíclicas de la superficie alveolar, añadiendo una histéresis de intersuperficie a la elasticidad.

3.- Desigualdad del número de bronquiolos y unidades pulmonares abiertas para una misma presión en la inspiración y espiración.

Diversos autores (Perry y Duncker, 1978, 1980; Perry, 1978; Newman et al. 1984; Vitalis y Milsom, 1986), señalan una correlación entre la estructura pulmonar y la compliancia o adaptabilidad pulmonar en distintas especies animales, entre ellos anfibios, reptiles y mamíferos. Además establecen también una relación entre el estado de desarrollo del individuo y el grado de compliancia. Con esto se puede sugerir una posible relación funcional entre la compliancia pulmonar y su estructura, con el patrón respiratorio de las distintas especies. Se podría hablar así de los posibles mecanismos de la evolución pulmonar en reptiles y relacionarlo con el origen de los sistemas respiratorios de las aves y mamíferos.

La mayoría de estudios de mecánica respiratoria han estado limitados a los mamíferos. Estudios comparados de mecanismos respiratorios de éstos (Agostoni et al. 1959; Crosfill y Widdicombe, 1961; Drorbaugh, 1960), han demostrado una similitud global en la compliancia pulmonar, estandarizados frente a volumen pulmonar, a pesar de las diferencias interespecíficas en peso corporal de gran magnitud (Leith, 1976). Esta similitud no es sorprendente desde el punto de vista de la carencia general de diversidad en la arquitectura de los alveolos pulmonares en las distintas especies de mamíferos. En contraste, la compliancia de la pared corporal en mamíferos parece ser diferente en relación a las adaptaciones ecológicas de estos animales (Leith, 1976).

En reptiles, los trabajos que se han hecho de mecánica respiratoria son pocos y dispersos (Jackson, 1971; Tenney et al. 1974; Gans y Clark, 1976). Las descripciones anatómicas de pulmones de reptiles, indican sin embargo, amplio rangos de diferencias estructurales, en contraste a la uniformidad general en la estructura observada en los pulmones de mamíferos (Duncker, 1977b).

En *Pseudemys scripta*, con pulmones multicamerales más complicados que los de lagartos, pero menos que los de mamíferos, Vitalis y Milsom (1986) indicaron que los factores estáticos que intervienen en la mecánica del sistema respiratorio total están

determinados primariamente por la pared corporal más que los pulmones, ya que el caparazón hace que todo el sistema sea mucho más rígido. Esto también es así bajo las condiciones dinámicas de bombeo ventilatorio a bajas frecuencias. Cuando la frecuencia respiratoria se incrementa, el trabajo requerido para inflar los pulmones multicamerales de las tortugas, contribuye a incrementar una porción del trabajo total mecánico requerido para producir cada ventilación en las curvas de presión-volumen.

Establecidas estas combinaciones de factores, resulta de interés analizar como las diferencias en la arquitectura de los pulmones y de la pared corporal se reflejan en los mecanismos del sistema respiratorio, y por extensión, los mecanismos dinámicos pueden ser usados para predecir probables patrones de ventilación en la respiración intermitente.

El presente estudio sobre *Mauremys caspica* y en base a la estructura multicameral de los pulmones de tortugas, examina el volumen máximo, el fisiológico y las propiedades de mecánica pulmonar estática (compliance estática). Además se establecen posibles relaciones de todos estos parámetros con el peso corporal, intercambio de gases y ventilación, comparándolo con otras especies de reptiles.

1.3.2. DIAGRAMA O₂-CO₂

1.3.2.1. Gases pulmonares

Una de las tareas del sistema respiratorio es la de ajustar el flujo de gas transferido entre el medio ambiente y los alveolos, de acuerdo a las demandas relacionadas con el metabolismo y la composición del aire. Este flujo de gas ambiental, teniendo una P_{O₂} mayor que la del gas alveolar y una P_{CO₂} menor, tiende a reemplazar el O₂ que pasa desde el gas alveolar a la sangre y a facilitar el traslado de CO₂ hacia los alveolos, variando el flujo con respecto a la tasa metabólica. En la ventilación intermitente como es el caso de las tortugas, la P_{ACO₂} y P_{AO₂} tienden a variar por encima y por debajo de los valores medios dados para la ventilación continua.

1.3.2.1.1. Gas inspirado, gas espirado, gas alveolar.

Se ha considerado el gas inspirado como una mezcla homogénea de O_2 , CO_2 y N_2 , mientras que en la espiración, la composición del gas no es constante. En gas seco, la primera parte del gas espirado coincide con la composición del aire ambiente, no conteniendo CO_2 ; la fracción siguiente es relativamente pobre en O_2 y rico en CO_2 , de esta manera el gas espirado que se recoge en una bolsa o espirómetro es una mezcla de dos gases en proporciones variables.

La importancia relativa de los desniveles de CO_2 y de O_2 entre la primera y segunda parte del gas espirado corresponde al cociente respiratorio. Se observa también, que sólo una parte del aire inspirado interviene en el intercambio de gas. En efecto, la última parte de este aire no entra en los espacios alveolares dónde se efectúa el intercambio de O_2 y CO_2 , sino que permanece en el árbol tráqueo-bronquial, donde no se produce ningún tipo de intercambio respiratorio, manteniendo este gas la composición del aire inspirado y constituyendo la primera parte del espirado. Esta es la primera fracción de aire expulsado, precediendo al proveniente de los alvéolos pulmonares, rico en CO_2 y pobre en O_2 .

Gas alveolar

Es el que se encuentra dentro de los espacios alveolares. Este gas cede el O_2 a la sangre y recibe el CO_2 de ella. Al final de la inspiración los pulmones no están llenos de gas alveolar ya que una parte de ellos no poseen alveolos, siendo ésta zona la ocupada por el árbol tráqueo-bronquial que constituye el espacio muerto anatómico. Al final de la inspiración, este espacio se encuentra lleno de aire ambiental, que en el curso de la espiración es empujado por el proveniente de los alvéolos. El gas alveolar contiene más CO_2 y menos O_2 que el aire espirado, debido precisamente a que este último es una mezcla del alveolar con el del espacio muerto.

Medida del gas alveolar

Todos los valores de P_{AO_2} y P_{ACO_2} no pueden ser más que una media, por dos razones principales:

- 1) El gas alveolar no tiene la misma composición en todas las partes de los

pulmones. Así, de dos territorios pulmonares con el mismo débito de sangre, el más ventilado será el que tenga la composición del gas más parecido al atmosférico. Hay pocos estudios sobre el valor preciso de la dispersión de las presiones alveolares de O_2 y CO_2 en distintos territorios pulmonares, siendo de gran importancia porque en ciertas circunstancias, algunas zonas pulmonares pueden recibir poca sangre, en consecuencia, el aire que llega allí no sufre ningún intercambio de gas, siendo zonas ventiladas, pero mal perfundidas. Por el contrario, pueden haber otras zonas pulmonares con una circulación normal, pero nada o poco ventiladas, siendo territorios perfundidos pero mal ventilados. Esta zona será rica en CO_2 y pobre en O_2 , al revés del primer caso.

2) El gas alveolar varía dentro de un mismo ciclo ventilatorio (DuBois, 1952), ya que es un fenómeno periódico: Durante la inspiración el aire fresco de la atmósfera entra dentro de los alveolos pulmonares después del proveniente del espacio muerto anatómico que se había rellenado durante la espiración precedente con gas alveolar. En los alveolos la PA_{O_2} baja y la PA_{CO_2} se eleva. Cuando en el árbol tráqueo-bronquial se renueva la composición de aire alveolar y se sustituye por aire atmosférico, éste penetra en los espacios alveolares, elevándose la PA_{O_2} y disminuyendo la PA_{CO_2} . Durante la espiración se produce el caso contrario. Este ciclo ventilatorio se puede dibujar sobre el diagrama P_{CO_2} - P_{O_2} en forma de bucle. El camino de ida y vuelta, no tienen porque tener la misma duración. La amplitud y la rapidez de la variación en la composición del gas alveolar durante el curso de un ciclo ventilatorio depende de varios factores:

a) Cuanto mayor sea el volumen pulmonar, menos importantes serán las oscilaciones de las presiones alveolares.

b) La amplitud, así como la evolución en función del tiempo, de las variaciones de PA_{O_2} y PA_{CO_2} , dependen del tipo de ventilación. La amplitud de las variaciones es más grande en sujetos con un régimen ventilatorio lento y amplio.

c) Los cambios en el flujo de sangre de los capilares pulmonares durante un ciclo ventilatorio influye sobre las P_{CO_2} y P_{O_2} .

d) El ejercicio muscular, también puede hacer variar el ciclo ventilatorio.

Volumen corriente alveolar

Es el volumen de aire atmosférico que en el transcurso de un ciclo ventilatorio

participa en el intercambio alveolo-capilar y se transforma en gas alveolar medio espirado. Pueden describirse una serie de hechos fundamentales:

1) Si la producción de CO_2 y el débito ventilatorio alveolar aumentan proporcionalmente, P_{ACO_2} no varía. Nos hallamos en un caso de normocapnia alveolar. Las mismas relaciones existen para el O_2 , se trataría de una normoxia alveolar.

2) En caso de hipoventilación alveolar, con una alta producción de CO_2 , la P_{ACO_2} se eleva. Es una hipoventilación alveolar relativa a la producción de CO_2 o hipercapnia. El mismo fenómeno existe para la P_{AO_2} , de manera que aumenta la diferencia $P_{\text{IO}_2} - P_{\text{AO}_2}$ por disminución de la P_{AO_2} . Es una hipoxia alveolar.

La hipercapnia por disminución de la ventilación alveolar implica un descenso del pH arterial o acidosis respiratoria.

3) En caso de hiperventilación alveolar con poca producción de CO_2 , disminuye la P_{ACO_2} dando una hiperventilación alveolar relativa o hipocapnia. Con respecto al O_2 esta hiperventilación implica una disminución de la diferencia $P_{\text{IO}_2} - P_{\text{AO}_2}$ por aumento de la P_{AO_2} o hiperoxia alveolar.

La hipocapnia que resulta de la hiperventilación alveolar relativa, provoca una elevación del pH arterial o alcalosis respiratoria.

1.3.2.1.2. Espacio muerto anatómico y fisiológico.

Se da el nombre de espacio muerto anatómico (V_D) al volumen de aire que no participa en el intercambio de gases. Correspondería a las vías respiratorias, desde la boca y fosas nasales hasta los bronquios terminales. Su composición es la del aire inspirado y no difunde en el aire alveolar. Su volumen no depende únicamente de las características anatómicas sino también de las condiciones fisiológicas de la difusión en las vías aéreas. Así, el espacio muerto, aumenta al incrementarse la densidad de los gases inspirados, que retrasa la difusión; al incrementarse el flujo inspiratorio que acerca el frente de difusión a los alveolos; y con el aumento del volumen pulmonar, que distiende las vías aéreas y acrecienta las distancias de difusión; y al elevarse la frecuencia respiratoria que disminuye el tiempo de difusión. Inversamente, disminuye después de una apnea de algunos segundos.

En los mamíferos, el aire inspirado llega por ventilación convectiva hasta los canales alveolares distribuido más o menos homogéneamente en función de las propiedades regionales. Se establece una frontera móvil en el ciclo respiratorio entre aire inspirado y alveolar. A una y otra parte de este frente de difusión, el gas alveolar difunde hacia la tráquea mientras que el aire inspirado lo hace hacia los alveolos. Este proceso de interdifusión es tan lento, que serían necesarios varios minutos de apnea para que el aire inspirado y el alveolar se mezclaran de forma homogénea en la totalidad del volumen del pulmón y de los bronquios. Al final de la inspiración normal, existe, pues, un gradiente de concentración entre los bronquiolos y los alveolos.

El espacio muerto fisiológico se considera que es la suma del espacio muerto anatómico y del espacio muerto alveolar. Normalmente es mayor que el anatómico, a excepción de casos excepcionales como puede ser el de un régimen ventilatorio caracterizado por una muy elevada frecuencia respiratoria y un volumen corriente muy pequeño.

Del volumen de gas inspirado o volumen corriente (V_T), sólo una fracción interviene en zonas respiratorias de los pulmones o espacios alveolares. Una parte del gas inspirado permanece en las vías respiratorias y no sufre intercambio de O_2 y CO_2 con la sangre pulmonar. El gas inspirado que ocupa estas zonas, es el volumen del espacio muerto (V_D) y no sufre cambios en su composición.

Durante la espiración, el gas del espacio muerto es expulsado primero y mezclado con un volumen de gas alveolar exhalado desde los espacios alveolares con poco O_2 y bastante CO_2 . El gas alveolar y el gas del V_D mezclados en una bolsa o en un espirómetro constituyen la mezcla de gas espirado V_E . Consecuentemente, la composición es intermedia entre la del gas inspirado y la del alveolar.

La totalidad de CO_2 eliminado por los pulmones proviene de los alveolos perfundidos en los que la P_{ACO_2} es igual a la P_{aco_2} . La ventilación alveolar fisiológica tiene el significado de una depuración alveolar, ya que representa el volumen de aire que, en cada minuto, arrastra el CO_2 transferido a los alveolos, lo que se pone de manifiesto cuando se expresa por analogía con las depuraciones renales en términos de flujo espiratorio y de concentración de CO_2 en el aire espirado.

1.3.2.2. Ventilación alveolar y presiones alveolares

Mientras que en los invertebrados y en las branquias de los peces los intercambios gaseosos tienen lugar directamente entre la sangre y el medio ambiente, en los reptiles, aves y mamíferos se producen en la zona distal alveolizada de los pulmones, separada del medio externo por una zona de conducción inerte o espacio muerto. Este no participa en los intercambios y reduce la eficacia ventilatoria, ya que sólo la fracción de aire inspirado que llega a la zona de intercambio contribuye a la ventilación de los alveolos.

La composición del aire alveolar es un factor que interesa conocer, ya que es resultado de los intercambios gaseosos que acaban de producirse y determinante de los que se están realizando. Las presiones alveolares de O_2 y CO_2 son a la vez un reflejo de la intensidad de la transferencia de gases y de la fuerza que los impulsa. Están directamente determinadas por los valores relativos de la ventilación, que renueva el O_2 y elimina el CO_2 , y de la perfusión que capta el O_2 y libera el CO_2 . En una primera aproximación, se puede considerar al pulmón como una estructura monoalveolar donde imperan PA_{O_2} y PA_{CO_2} uniformes, pero en realidad se trata de una estructura multialveolar heterogénea y asimétrica, de tal forma que las presiones no son idénticas en todos los alveolos y en cada uno de estos, oscilan en el transcurso del tiempo alrededor de un valor medio. Las variaciones cíclicas están relacionadas con la renovación inspiratoria periódica del aire alveolar y las desigualdades locales se deben:

- A la heterogeneidad de la distribución regional interlobulillar, con la ventilación desigualmente repartida entre las diferentes regiones debido a la diversidad de propiedades mecánicas locales (resistencia y distensibilidad).
- A la heterogeneidad de la mezcla intralobulillar, es decir, a la imperfección de la mezcla del aire inspirado y del aire alveolar que se realiza según un proceso de difusión relativamente lento y crea un gradiente de concentración estratificado entre los alveolos más próximos a las terminaciones bronquiales y los que están más alejados.

En cada alveolo la composición del aire se halla determinada por la importancia respectiva de la ventilación y de la perfusión. Es necesariamente intermedia entre la composición del aire inspirado y la de la sangre venosa mixta, más semejante a la del primero si predomina la ventilación sobre la perfusión y similar a la de la última en

el caso contrario.

Aunque la renovación del aire alveolar mediante la ventilación y la captación de O_2 por la circulación sean procesos cíclicos, las P_{O_2} y P_{CO_2} alveolares medias son prácticamente constantes. En la inspiración los alveolos reciben en primer lugar el aire del espacio muerto y la P_{AO_2} sigue disminuyendo. A continuación llega hasta ellos el aire inspirado fresco y la P_{AO_2} comienza a aumentar y sigue haciéndolo en tanto que la adición de moléculas de O_2 atmosférico exceda a la captación sanguínea. Hacia el final de la inspiración los dos procesos se igualan y en seguida la P_{AO_2} disminuye durante toda la espiración hasta el primer tercio de la inspiración siguiente. La P_{ACO_2} sigue la evolución inversa.

Dispuesto en serie entre la boca y los alveolos, el espacio muerto altera la eficacia de la ventilación ya que una fracción del aire inspirado se estanca en él y no llega a los alveolos.

Se denomina ventilación alveolar y más exactamente ventilación alveolar anatómica, (\dot{V}_A), la fracción de la ventilación total (\dot{V}_E) que llega a los alveolos. Desde el punto de vista de los intercambios gaseosos, la ventilación alveolar es una magnitud más importante de conocer que la ventilación total. Para una ventilación determinada, la ventilación alveolar es tanto menor cuanto más elevada es la frecuencia respiratoria y más pequeño el volumen corriente. En los mamíferos, la reducción de la eficacia de la ventilación debida al espacio muerto disminuye cuando el volumen corriente aumenta.

Existe hipoventilación e hiperventilación alveolar cuando la renovación del aire alveolar está reducida o aumentada respectivamente en el conjunto del pulmón. Las hipoventilaciones alveolares pueden deberse: a) A la adición de un espacio muerto en serie con la boca. b) A una respiración realizada con aire no renovado. c) Principalmente a las reducciones de la ventilación total observadas durante las depresiones de los centros respiratorios o en alcalosis metabólicas.

La hiperventilación alveolar es mucho más rara, pero se puede observar en la acidosis metabólica. Las variaciones puras de la ventilación alveolar suponen modificaciones en sentido inverso de las presiones alveolares y arteriales de O_2 y CO_2 , de forma que su suma permanece casi constante. Cuando la ventilación se suprime o

reduce en un territorio pulmonar se dice que existe cortocircuito o efecto derivación. La sangre que atraviesa la región afectada apenas se enriquece en O_2 , no elimina el CO_2 o lo hace de forma muy deficiente y contamina la sangre arterial, lo que origina una hipoxemia con hipercapnia que estimulan los centros respiratorios y dan lugar a una hiperventilación reactiva.

Existen dos tipos de desigualdad de distribución de la ventilación: a) las desigualdades de distribución en serie, estratificadas, o de difusión debidas a la mezcla incompleta del aire inspirado y del aire residual de los espacios alveolizados distales. b) Las desigualdades de distribución en paralelo, regionales o convectivas relacionadas con las diferencias de los tiempos de tránsito de las moléculas a lo largo de las vías aéreas y que tienen un doble origen geométrico y mecánico: 1) a causa de la asimetría del árbol bronquial, las cantidades de aire del espacio muerto reinspirado varían de un territorio a otro y los lobulillos más alejados son los menos enriquecidos en O_2 y los peor depurados de CO_2 ; el aire que proviene de ellos llega a la boca en último lugar y contribuye a la pendiente de la meseta. 2) La heterogeneidad de las propiedades mecánicas de las vías aéreas y del parénquima pulmonar implica la ventilación preferencial de las zonas de baja resistencia y alta distensibilidad.

1.3.2.3. Intercambio gaseoso: cociente respiratorio (R)

La mayor parte de la energía necesaria para la vida animal se obtiene de la oxidación de los sustratos glucídicos, lipídicos y proteicos, mediante el O_2 del aire. El consumo de O_2 (\dot{V}_{O_2}), mide pues la intensidad del metabolismo celular. En estado de reposo el \dot{V}_{O_2} respiratorio es igual al celular, pero en estado transitorio o no estacionario difiere del mismo a causa de las variaciones de las reservas de O_2 alveolar y sanguínea, que constituyen dos compartimentos interpuestos entre las células y el aire exterior y que pueden liberar o almacenar temporalmente O_2 . Así, por ejemplo, toda hiperventilación va acompañada de un aumento de las reservas de O_2 y de un incremento aparente del \dot{V}_{O_2} respiratorio y lo contrario ocurre en caso de hipoventilación.

Por tanto, el \dot{V}_{O_2} respiratorio sólo puede medirse en estado estable, cuando la

ventilación, el gasto cardíaco y el metabolismo celular son constantes durante al menos 15 minutos. Idénticas condiciones son aplicables a la producción de CO_2 , que proviene fundamentalmente de reacciones metabólicas ligadas a las oxidaciones.

Se denomina cociente respiratorio metabólico (Rm) a la relación existente entre la eliminación de CO_2 y el consumo de O_2 de las células. Su valor depende de los sustratos metabolizados y varía aproximadamente desde 0.7 para los lípidos a 1 para los glúcidos. En un régimen dietético normal es de 0.8.

Se denomina cociente respiratorio ventilatorio (R) a la relación $\dot{V}_{\text{CO}_2}/\dot{V}_{\text{O}_2}$ medida en los gases espirados. En estado de reposo es igual al R metabólico. En estado no estacionario, se desvía y depende de las variaciones de la ventilación y del gasto cardíaco.

Cuando la R es de 1, $\dot{V}_{\text{O}_2} = \dot{V}_{\text{CO}_2}$ y $\dot{V}_i = \dot{V}_e$. Sin embargo, como R suele ser diferente de 1, la composición de gas inspirado y espirado es distinta. Cuando R es menor de 1 implica que el volumen espirado es menor que el inspirado y al revés si R es mayor de 1.

Podría pensarse que el intercambio de gases se desarrollaría normalmente siempre que la ventilación, la perfusión, la difusión a través de la membrana y la relación ventilación/perfusión global del conjunto de los pulmones fueran normales. Esto sucedería en un pulmón teórico ideal, donde la ventilación y la perfusión se distribuyeran por igual en todos los alveolos, comportándose por consiguiente, como un pulmón monoalveolar. Sin embargo, no ocurre así en los pulmones de tortugas con distribución en serie y heterogéneamente capilarizados.

En este caso, se presentan todas las situaciones intermedias posibles entre los estados siguientes: a) alveolos normales cuyas presiones alveolares y capilares de O_2 y CO_2 están equilibradas. b) alveolos no ventilados, que son alveolos aireados, completamente excluidos de la circulación aérea normal o colateral, o alveolos colapsados. c) alveolos no perfundidos que constituyen un espacio muerto alveolar donde las presiones parciales pueden ser iguales a las del aire inspirado.

En estas situaciones extremas se encuentran: a) La sangre que atraviesa los alveolos hipoventilados, de baja relación ventilación/perfusión, que se arterializa de forma incompleta y origina hipoxemia por un mecanismo de cortocircuito. b) Los

alveolos hiperventilados con una alta relación ventilación/perfusión, que constituyen un espacio donde el intercambio gaseoso está reducido contribuyendo al aumento del espacio muerto alveolar.

1.3.2.4. Diagrama O₂-CO₂: descripción

En 1946 Fenn et al. sentaron las bases matemáticas esenciales para este diagrama, siendo utilizadas por Rahn y Fenn en 1955 para construirlo. En el se incorporaron las presiones parciales del O₂ y CO₂, proporcionando ventajas en su cálculo sobre todo si tenemos en cuenta que hay varios tipos de instrumentos que miden de forma directa y precisa las presiones parciales de cada gas presente en las muestras.

El diagrama P_{CO₂}-P_{O₂} descrito por Rahn y Fenn en 1955 es particularmente útil para representar gráficamente la composición de los gases pulmonares bajo diferentes condiciones. La P_{O₂} se representa en el eje de abscisas, y la P_{CO₂} en el de ordenadas. Si el gas inspirado es O₂ puro en vez de aire, puede usarse este diagrama para representar las cantidades de estos dos gases y de forma simultánea, en tejidos, sangre y pulmones en cualquier situación ventilatoria. El sistema de transporte completo de O₂ y CO₂ puede representarse en un diagrama simple a partir del punto de inspiración y hasta el punto de consumo en los tejidos.

El diagrama de Rahn y Fenn está construido en condiciones BTPS siendo el proceso el siguiente: se llevan respectivamente a los ejes de abscisas y ordenadas las P_{O₂} y P_{CO₂} y sobre un tercer eje bisectriz del ángulo formado por los dos primeros, las P_{N₂}. En todos los puntos del plano, la suma de las presiones parciales es de 713 mmHg a nivel del mar. Esto se debe a que el O₂ es inhalado a una atmósfera de presión, y la P_{O₂} en el gas inspirado (P_{IO₂}) después de calentarse a temperatura corporal y saturarse con vapor de agua, debe ser igual a la diferencia entre la presión barométrica (P_B) y la presión de vapor de agua (P_{H₂O}). En condiciones estándar sería: 760 - 47 = 713 mm Hg. En estas condiciones y ya que la presión total es constante: P_{AO₂} + P_{ACO₂} = P_{IO₂} = P_B - 47. Esta es la ecuación en condiciones a nivel del mar (Figura 10 a obtenida de Rahn y Fenn, 1955) teniendo una pendiente de 1.

En el diagrama, se sitúan los puntos correspondientes al aire inspirado (I), a la

sangre venosa mixta (v) y al aire alveolar (A) que en un pulmón ideal es igual al de sangre arterial (a).

El punto de aire alveolar puede situarse en cualquier zona sobre la línea que representa a nivel del mar, cualquiera que sea el volumen de O_2 inhalado, cualquiera que sea el volumen de O_2 tomado por la sangre y cualquiera que sea el valor de CO_2 que difunde desde la sangre. Normalmente el valor alveolar estará próximo al punto de la gráfica en que la $P_{ACO_2} = 40$ mm.

Si se analizan las muestras a gran altitud, la composición de gas alveolar debe estar situada necesariamente a lo largo de la diagonal (marcada en la Figura 10) en la que la suma de presiones parciales del O_2 y CO_2 es $P_B - P_{H_2O}$ a la presión atmosférica correspondiente. Así será para cada P_B dada. La posición del punto alveolar en alguna de estas diagonales depende sólo de la razón entre la ventilación y la producción de CO_2 (F_{ICO_2}), que hace variar la pendiente, mientras que el origen de la diagonal en la gráfica depende sólo de la presión barométrica.

Si representamos en el diagrama P_{CO_2} - P_{O_2} distintas líneas referidas a diferentes presiones de O_2 iniciales y sobre cada una de estas líneas marcamos los puntos correspondientes a gas alveolar (A), inspirado (I) y espirado (E), vemos que las líneas indicando cada presión son paralelas entre sí con un ángulo de 45° y que estos 3 puntos A, I, E, tienen una misma P_{CO_2} , mientras que la P_{O_2} varía en función de la presión barométrica según la relación P_{IO_2} - P_{AO_2} , de manera que la posición del punto correspondiente a la composición de gas alveolar en cualquiera de estas diagonales depende sobre todo de la ventilación alveolar (Figura 10 b obtenida de Rahn y Fenn, 1955).

Cuanto más aumenta la ventilación alveolar, más se aproximará el punto A, sobre la línea, al aire inspirado (I). Inversamente, si disminuye la ventilación, el punto A se desplazará hacia la izquierda de la línea, alejándose del punto de aire inspirado. A nivel del mar, la ventilación puede contenerse hasta que la composición del aire alveolar alcanza al punto B (punto de desvanecimiento).

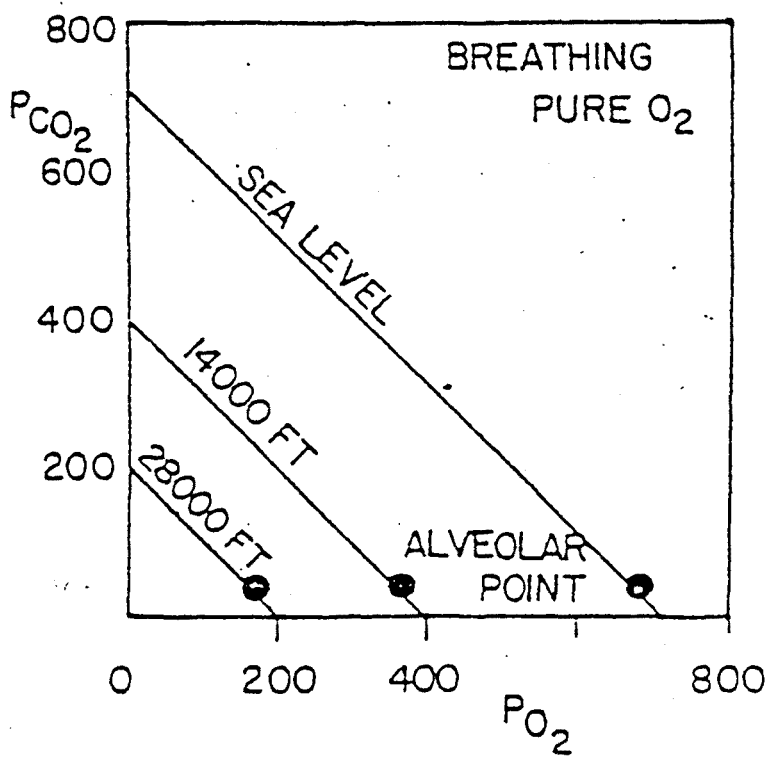
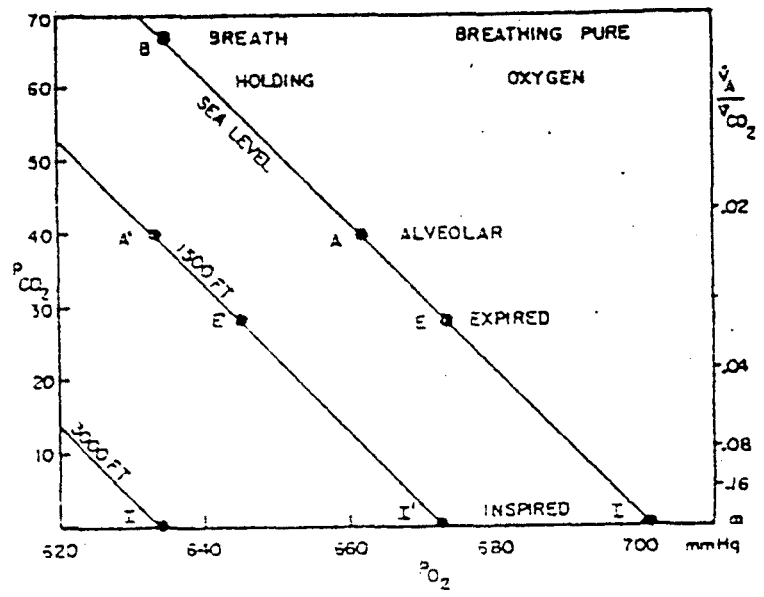
El aire espirado se representa en la línea recta por un punto intermedio entre A e I de manera que $AE/EI = V_D/V_A$ y la distancia AI representa el volumen total espirado V_E . La posición del punto alveolar (Fig. 10 b) puede determinarse por: 1) La

tensión de O_2 alveolar; 2) La tensión de CO_2 alveolar; 3) La tensión de O_2 o CO_2 en aire espirado junto con el volumen del espacio muerto y volumen corriente; 4) La razón entre ventilación alveolar y producción de CO_2 .

A continuación se trazan sobre el diagrama las rectas que corresponden a las R ventilatorias, al respirar aire. Estas representan todos los valores que pueden tomar las presiones parciales de O_2 y CO_2 alveolar, por lo que parten del punto I.

FIGURA 10a: Diagrama O₂-CO₂ durante la respiración con O₂ puro a varias altitudes (Rahn y Fenn, 1955).

FIGURA 10b: Porción de la Figura 10a aumentada (Rahn y Fenn, 1955).



Tasas de intercambio de gas

Partiendo de una ventilación con O_2 puro, hay una sola diagonal para cada altitud y todos los puntos alveolares pueden estar sobre esta línea. Pero para una ventilación con el 79 % de N_2 como componente del aire inspirado, para cada altitud hay una familia de diagonales radiales tal como ilustra la Figura 11 (obtenida de Rahn y Fenn, 1955). El origen de estas diagonales, tal como hemos dicho, es el punto de aire inspirado (I). Para $R = 1$, la diagonal es la misma que la diagonal para O_2 puro con 45° de pendiente. Para cada mol de O_2 consumido, se produce uno de CO_2 . Las variaciones de O_2 y CO_2 transferidos son iguales y pueden representarse mediante las variaciones de P_{AO_2} y P_{ACO_2} . La línea $R = \infty$ va desde el punto de aire inspirado al punto donde $CO_2 = 100\%$ y $O_2 = 0\%$. La línea $R = 0$ coincide con la línea de abscisas en el que no hay CO_2 en el aire inspirado, por tanto P_{ACO_2} es igual a cero.

A cada valor de R le corresponde una cierta pendiente, por consiguiente, es posible trazar cada una de estas rectas del cociente respiratorio, conociendo aquella. Todas estas rectas divergen en forma de abanico a partir del valor P_{IO_2} del diagrama. Un cambio de presión barométrica, como puede ser el caso de grandes altitudes, no modifica las pendientes de las rectas de los distintos cocientes respiratorios, pero en cambio produce un desplazamiento de la P_{IO_2} hacia la izquierda del eje de abscisas del diagrama (el aire inspirado tiene menor P_{IO_2} a 3000 metros que no a nivel del mar). Por contra, un cambio de porcentaje de O_2 del aire inspirado, a una altitud equivalente cambia la pendiente de las rectas del cociente respiratorio.

El diagrama de Rahn y Fenn permite conocer las R de forma directa, a partir de los valores medidos directamente de las presiones parciales de O_2 y CO_2 espirados. Sobre el diagrama se puede marcar el punto representando la composición de gas alveolar sobre la misma recta del cociente respiratorio, en la que se halla el punto de gas espirado (E), ya que la R se mide en una mezcla de gas espirado que ha participado en el intercambio de gases, es decir, de gas alveolar. El gas del espacio muerto que tiene la composición de la del aire atmosférico, no interviene más que para diluir el gas alveolar y modificar a la vez la P_{ACO_2} y la diferencia $P_{IO_2} - P_{AO_2}$.

El aire espirado es una mezcla del gas alveolar y del inspirado, de manera que los puntos para estos tres gases (E, A, I) se encuentran sobre la misma línea R . La

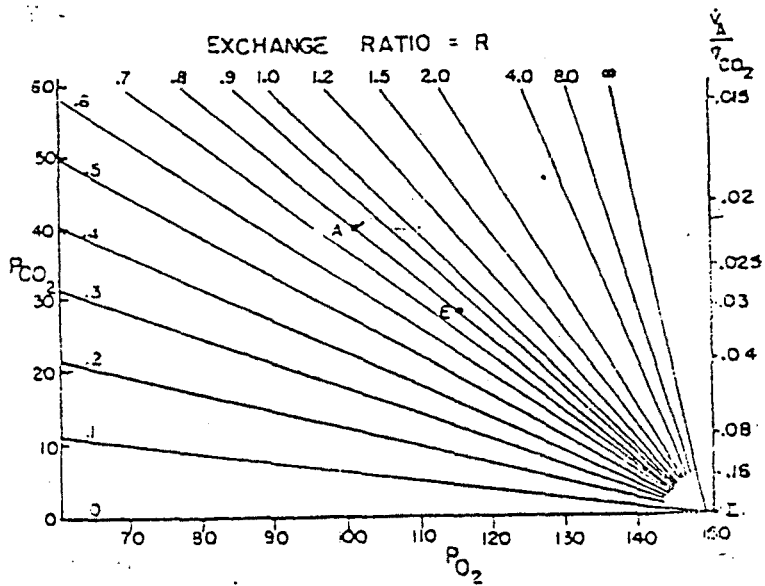
posición de E depende de la razón V_D/V_T : cuando la razón es alta, la parte correspondiente al gas del espacio muerto (compuesto por gas inspirado) de la mezcla de gas espirado es alta, entonces el punto E se acerca al punto de aire inspirado.

Sobre este gráfico es posible localizar el punto alveolar a partir de 2 de los cinco parámetros representados aquí y que son : 1) La tensión de O_2 alveolar; 2) La tensión de CO_2 alveolar; 3) La tasa de intercambio alveolar o espirada; 4) La razón entre ventilación alveolar y producción de CO_2 ; 5) La razón entre ventilación alveolar y consumo de O_2 . Para utilizar esta gráfica es necesario que el sujeto esté respirando aire conteniendo el 20.93 % de O_2 y que la presión barométrica sea de 760 mm de Hg, ya que estos dos valores fijan la tensión de O_2 inspirado. Si la presión barométrica es distinta de 760 mm, se desplazan las líneas R al nuevo origen. Cuando F_{IO_2} o bien F_{ICO_2} difieren mucho del aire ambiente no se puede aplicar esta gráfica directamente, sino que tiene que construirse otra nueva con las líneas R corregidas a los nuevos valores, ya que varía su pendiente.

Como se ha apuntado antes, con inhalación de O_2 puro, la tasa de consumo de O_2 "per se" no tiene efecto sobre la composición de gas alveolar. Esto no es del todo válido, ya que cualquier incremento en la tasa de consumo de O_2 por la sangre produce un descenso del volumen de gas alveolar, causando un flujo de O_2 hacia los alvéolos desde la tráquea. En muchos casos, dado que R es menor de 1, el volumen de gas inhalado es mayor que el exhalado. La diferencia entre estos volúmenes representa el gas inspirado adicional el cual fluye desde fuera correspondiendo a cambios de volumen pulmonar. Inversamente, cuando el CO_2 producido excede al O_2 consumido, el volumen exhalado es mayor que el inhalado y la diferencia representa el gas alveolar excedente exhalado.

Sobre el diagrama se pueden dibujar las líneas de isoventilación, que son las rectas representativas de la \dot{V}_A para una \dot{V}_{CO_2} dada, estando determinadas por la P_{ACO_2} según la ecuación de Bohr: $\dot{V}_A/\dot{V}_{CO_2} = 0.863 \text{ mmHg}/P_{ACO_2}$ y son independientes de la P_{AO_2} .

FIGURA 11: Familia de líneas R (tasas de intercambio de gases) en aire y a nivel del mar (Rahn y Fenn, 1955).



Líneas de isoventilación

Existe una relación entre la tasa metabólica, ventilación alveolar y presión parcial de los gases alveolares, derivada a partir de la relación:

$$\dot{V}_{CO_2} = \dot{V}_A \times F_{ACO_2} \longrightarrow \dot{V}_A = \dot{V}_{CO_2} / P_{ACO_2} \times 0.863$$

$$\longrightarrow \dot{V}_A = \frac{\dot{V}_{O_2} \times R \times 0.863}{P_{ACO_2}}$$

Para $R = 1$, $\dot{V}_{O_2} = \dot{V}_{CO_2}$ y $\dot{V}_A / \dot{V}_{O_2} = \dot{V}_A / \dot{V}_{CO_2}$. La línea $R = 1$ es pues, el lugar de los puntos de intersección de las rectas de isoventilación $\dot{V}_A / \dot{V}_{O_2}$ y $\dot{V}_A / \dot{V}_{CO_2}$. Estas relaciones se pueden dibujar como líneas rectas en el diagrama O_2 - CO_2 , proporcionando dos tipos de isolíneas ventilatorias.

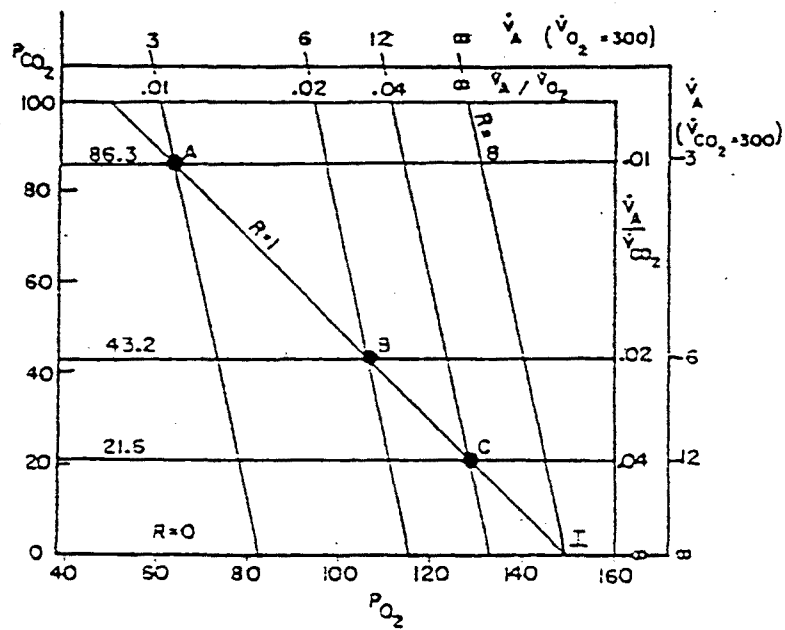
1) Las líneas de ventilación del O_2 o líneas de isosaturación o isocontenido de O_2 , representando valores iguales de la razón $\dot{V}_A / \dot{V}_{O_2}$. Teniendo en cuenta el efecto Bohr, para una P_{O_2} dada, la saturación es tanto más baja cuanto mayor sea la P_{CO_2} , de forma que las rectas de isocontenido son oblicuas y debido a la forma de la curva de disociación de la Hb están desigualmente espaciadas.

2) Las líneas de ventilación del CO_2 o líneas de isocontenido de CO_2 , representando valores iguales de la razón $\dot{V}_A / \dot{V}_{CO_2}$.

También se pueden trazar líneas de isocontenido de CO_2 . Como la relación P_{CO_2} / P_{O_2} es casi lineal, estas líneas aparecen casi equidistantes. Debido al efecto Haldane, estas líneas que son horizontales a saturación de O_2 elevado, se hacen oblicuas con saturaciones bajas, al obtener un mismo contenido en CO_2 para una P_{CO_2} menor.

Todas las isolíneas de ventilación del CO_2 son paralelas a $R = 0$ (Figura 12, obtenida de Rahn y Fenn, 1955) y todas las isolíneas de ventilación del O_2 son paralelas a $R = \infty$.

FIGURA 12: Procedimiento para la construcción de las líneas de ventilación expresadas como \dot{V}_A/\dot{V}_{O_2} y \dot{V}_A/\dot{V}_{CO_2} (Rahn y Fenn, 1955).



Uso de las líneas de isoventilación

Una vez localizado el punto alveolar A sobre el diagrama, las líneas de isoventilación dan valores para la tasa de ventilación alveolar con respecto al O_2 y CO_2 y viceversa, las tasas de intercambio de gas pueden ser determinadas a partir de la tasa de ventilación alveolar. Se completa el diagrama representando en él, las líneas correspondientes a los valores del cociente respiratorio de la sangre, definidos por el conjunto de valores que pueden adoptar las P_{O_2} y P_{CO_2} arteriales para una R dada, distribuyéndose como curvas y no como rectas tal como ocurría para las R ventilatorias. En efecto, en la sangre variaciones iguales de volumen de O_2 y CO_2 entre sangre venosa y arterial corresponden a variaciones diferentes de P_{O_2} y P_{CO_2} , según la zona donde se encuentre en la curva de disociación de la Hb y en la relación P_{CO_2}/C_{CO_2} . Las líneas R de sangre parten del punto venoso, como las R_E lo hacían del de aire inspirado.

De forma general, el diagrama P_{CO_2} - P_{O_2} puede utilizarse para representar distintos fenómenos de la fisiología respiratoria. Se puede aplicar a intercambio de gas por difusión en animales acuáticos y aéreos. Pueden representarse sobre él las $[CO_2]$ y $[O_2]$ de sangre en función de su P_{O_2} y P_{CO_2} , de manera que las líneas de isoconcentración de CO_2 y O_2 pueden identificar simultáneamente la acción del CO_2 sobre la $[O_2]$ (efecto Bohr) y la acción del O_2 sobre la $[CO_2]$ (efecto Haldane). También pueden trazarse las isolíneas para cocientes respiratorios de sangre arterial y venosa.

Sin embargo, el diagrama P_{CO_2} - P_{O_2} tiene limitaciones: 1) Las isolíneas para $[O_2]$ y $[CO_2]$ de sangre sólo son aplicables bajo condiciones hematológicas fijas, pero en cambio son válidas para cualquier muestra de aire. Olszowka et al. (1973) han construido un nomograma para sangre aplicable a diversas concentraciones de Hb y estados ácido-base. 2) La representación simultánea de muchos datos respiratorios puede hacer ilegible el diagrama.

1.3.2.5. Diagrama triaxial

Como ya hemos citado al principio, el diagrama O_2 - CO_2 propuesto por Rahn y Fenn tiene la ventaja de poder aplicarse directamente a las presiones parciales de los

gases de una muestra. Esto, aparentemente, hace innecesario el cálculo de las tensiones de gas a partir de las concentraciones fraccionales obtenidas por métodos tradicionales. Así mismo, la expresión de los resultados como un porcentaje del volumen total de la mezcla de gases también ha desaparecido.

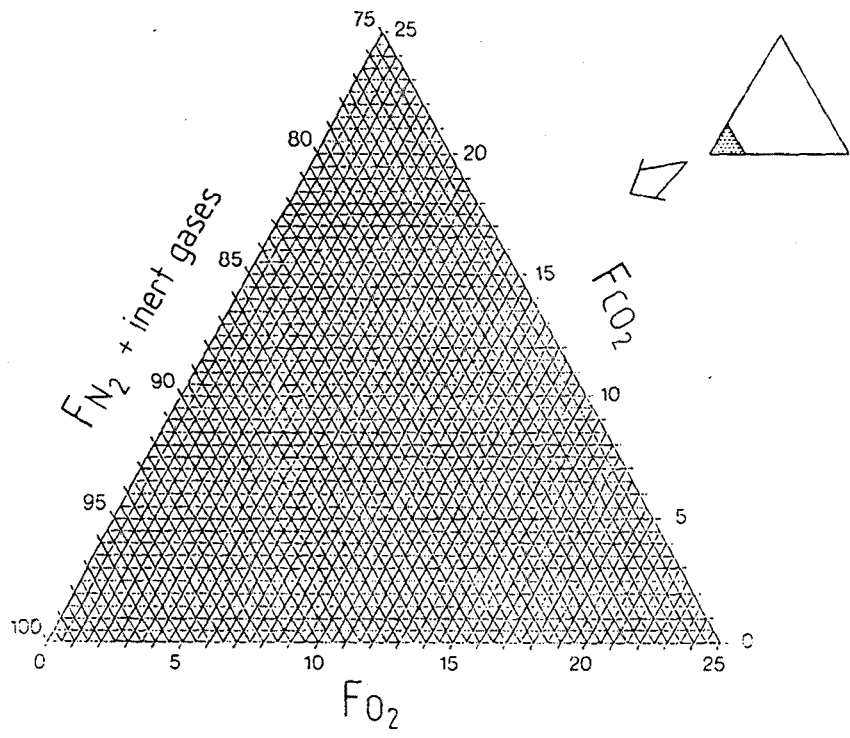
Sin embargo, el que existan analizadores de gases respiratorios como los de Haldane, y Scholander, aparatos que miden la absorción de volumen de gas y usados sobre todo por su gran precisión y fiabilidad, o bien analizadores paramagnéticos de O_2 , espectrógrafos de masas, cromatógrafos de gases, analizadores infrarrojos de CO_2 , etc. evidencian la utilidad de un diagrama de concentraciones fraccionales de gas bajo ciertas condiciones.

En la práctica, las concentraciones fraccionales son la base de algunas ecuaciones ventilatorias (Comroe et al., 1955) y pueden proporcionar algunas ventajas (Piiper et al. 1971), debido sobre todo a su independencia de la temperatura y presión atmosférica.

Es por esto, que se ha desarrollado en nuestro laboratorio por J.F. Fuster, un diagrama triaxial de gas basado en un modelo ternario el cual muestra directamente los valores en % de CO_2 , O_2 y N_2 contenidos en cualquier muestra de gas, dentro de un rango dado de condiciones naturales y experimentales, utilizando las concentraciones fraccionales de los gases calculados a partir del Scholander (Figura 13).

Se ha incluido en este diagrama un eje para el N_2 , lo que ofrece una información adicional implícita, además de permitir su utilización en ensayos de hipo e hiperbaria, así como en el registro continuo de las variaciones de volumen pulmonar que se producen durante diferentes situaciones de apnea, como puede ser el buceo.

FIGURA 13: Diagrama triaxial de los gases. Cada arista contiene 25 unidades de las concentraciones fraccionales correspondientes.



1.3.3. EQUILIBRIO ACIDO-BASE Y TEMPERATURA: REGULACION VENTILATORIA

En un trabajo clásico Peters y Van Slike (1932) abrían el capítulo dedicado al equilibrio ácido-base con el siguiente enunciado: "Durante más de la mitad de este siglo se ha reconocido que para el mantenimiento en el organismo de un estado compatible con la vida, las reacciones de los fluidos internos deben estar ligeramente desplazados hacia el lado alcalino con respecto al punto de neutralidad y que mucha desviación de esta reacción fisiológica es desastrosa".

Este enunciado ha sido interpretado normalmente de forma que para que pueda sobrevivir un animal debe mantener un pH de la sangre constante y ligeramente alcalino con respecto al agua. Sin embargo, se ha observado actualmente que en vertebrados poiquiloterms esto no sucede, pudiendo variar su pH sanguíneo dentro de amplios rangos, obedeciendo a variaciones de la T_c , aunque manteniendo constante la alcalinidad relativa.

La determinación de los valores de pH sanguíneo en diversos animales, revelan una heterogeneidad en los valores obtenidos. Robin (1962) después de realizar análisis de pH en tortugas concluía: "La máxima de que la vida es sólo posible dentro de un rango estrecho de pH no es aplicable a las tortugas y podría resultar sólo cierto en los animales homeotermos". Pero ni siquiera esto, Rahn y Reeves señalaron en 1975 que incluso el hombre muestra unos valores de pH en sangre mucho más heterogéneos de lo que se creía.

A los autores citados se debe de forma fundamental la demostración de que a pesar de estas heterogeneidades existe una auténtica regulación del equilibrio ácido-base, pero que la estrategia de los sistemas de control no se basa en la regulación del pH a un valor constante, sino en modificarlo de manera relacionada con la temperatura y que esta modificación del pH contribuya a mantener un estado de ionización proteica constante de tal manera que se protegen así las actividades que dependen de este estado de ionización. Es en este punto donde se centran los esfuerzos reguladores.

Son pues estas relaciones pH-temperatura el punto central que ha permitido la

elaboración de la teoría fisiológica de regulación ácido-base aceptada en la actualidad y que tiene el mérito de ser una teoría generalizable a todos los vertebrados.

Entre los poiquiloterms, los reptiles forman un grupo muy diverso, ocupando una gran variedad de hábitats y presentando algunas adaptaciones muy especializadas, teniendo en común ciertas características fisiológicas relevantes de la regulación ácido-base.

Por una parte, estas especies poseen pulmones para el intercambio de gas y su estructura, normalmente, juega un papel muy importante en el control de la P_{CO_2} de la sangre y de la adquisición de O_2 . Por otra parte, el intercambio de iones, proceso relacionado con la regulación del equilibrio ácido-base, aunque es menos conocido, depende de los órganos de excreción. Estas características comunes proporcionan una base para comparar diferentes grupos de reptiles y bajo distintas condiciones ambientales y de comportamiento.

Los reptiles son vertebrados ectotérmicos que presentan comportamiento termorregulador (Templeton, 1970). En consecuencia, algunos de ellos experimentan variaciones importantes en la T_c tanto diaria como estacionalmente, lo que supone efectos fisiológicos sobre el equilibrio ácido-base particularmente notables. Así, la constante de equilibrio de varios ácidos y bases débiles, incluyendo la del agua, son dependientes de la temperatura, así como la solubilidad (α) y producción de CO_2 metabólico y otros metabolitos ácidos. Los ectotermos como los reptiles, responden a estos efectos de cambios de temperatura, con la homeostasis ácido-base, bajo condiciones térmicas variadas, siendo uno de los temas más debatidos de la fisiología comparada del equilibrio ácido-base de los últimos años. Sobre ello, se han publicado numerosas revisiones de carácter general como las de Rahn (1967); Reeves (1977); Howell y Rahn (1976); Jackson (1982, 1986); White y Somero (1982).

La regulación del equilibrio ácido-base en homeotermos, tiende a mantener unos valores de pH relativamente constantes, dentro de un rango entre 7.3 y 7.5, excepto cuando las condiciones ambientales son muy frías o muy calientes. Con calor, los homeotermos hiperventilan e incrementan su pH sanguíneo, en cambio los poiquiloterms se ven afectados por cambios térmicos de forma completamente distinta, variando el consumo de O_2 y producción de CO_2 con la temperatura. Un incremento

de ésta conduce a una tasa metabólica alta con grandes demandas de O_2 y aumento de necesidad de eliminar el CO_2 . Por otra parte, el equilibrio ácido-básico es dependiente de la temperatura, fenómeno observado por primera vez por Austin et al. en 1927. La importancia que tiene el conocimiento del control del intercambio de gas y del equilibrio ácido-básico, ha sido apreciado sólo en los últimos 20 años (Rahn, 1967; Robin et al. 1969; Howell et al. 1970; Reeves, 1972; Howell y Rahn, 1976).

El mantenimiento del pH sanguíneo en un valor estable depende de varios mecanismos de control: a) Existencia de sistemas amortiguadores extra e intracelulares. b) Control respiratorio de la P_{aco_2} . c) Producción adaptable de ácidos orgánicos a partir del metabolismo intermediario. d) Control renal del contenido de H^+ y HCO_3^- del organismo y de sus concentraciones plasmáticas.

Los amortiguadores extracelulares están formados por el conjunto bicarbonato-ácido carbónico ($HCO_3^- - H_2CO_3$) y los fosfatos y proteínas plasmáticas de forma más accesoria, mientras que los sistemas amortiguadores intracelulares más relevantes son la Hb en los eritrocitos y los fosfatos y otras proteínas en el resto de células.

A cualquier temperatura, endotermos y ectotermos regulan aparentemente la $[H^+]$ de los fluidos extracelulares de forma parecida. Los ácidos metabólicos son tamponados por los tejidos hasta ser eliminados por los órganos respiratorios o excretores. Los ectotermos, sin embargo, pueden ajustar el pH de su medio interno a T_c variables, estableciéndose diversas hipótesis sobre la regulación del equilibrio ácido-base.

Cambios en la T_c alteran la tasa metabólica residual en reptiles. El efecto de la temperatura determina ajustes ventilatorios y circulatorios para incrementar el transporte de O_2 y CO_2 . Los ajustes que se producen frente a variaciones térmicas son:

1) Ajustes en la ventilación relativa (\dot{V}_E/\dot{V}_{CO_2}) para incrementar la tasa metabólica residual, de modo que afecta la P_{O_2} y P_{CO_2} pulmonar.

2) Variaciones en las P_{ACO_2} y P_{AO_2} pulmonares y las P_{aO_2} y P_{aCO_2} arteriales relacionadas con el pH y HCO_3^- .

3) Variaciones de pH a través del sistema amortiguador α -imidazol, descrito para vertebrados ectotérmicos por Reeves (1972), junto al efecto tampón de fosfatos intracelulares.

En la fisiología respiratoria de los vertebrados se han estudiado ampliamente las

relaciones entre \dot{V}_E , $P_{A_{CO_2}}$, $P_{a_{CO_2}}$ y pH_s . El CO_2 tiene un efecto estimulador sobre los centros respiratorios encefálicos, incrementándose la ventilación con subidas de $P_{A_{CO_2}}$. Este fenómeno también ocurre en reptiles. Sin embargo el mecanismo exacto de la acción del CO_2 no está muy claro. A causa de estas relaciones, se ha examinado la respuesta de los reptiles a diferentes $[CO_2]$ inspiradas, con objeto de identificar los mecanismos del control respiratorio en este grupo. Estudios previos de la sensibilidad de los reptiles a la hipercapnia han mostrado gran diversidad de respuestas ventilatorias. Algunas especies parecen incrementar la ventilación a cualquier nivel de CO_2 inspirado, mientras otras muestran unas ligeras variaciones de ventilación frente a cambios en el nivel de CO_2 .

En resumen, las variables dependientes de la temperatura implicadas en la regulación del equilibrio ácido-básico en ectotermos son:

1.- pH_s que varía inversamente con la temperatura.

2.- $P_{a_{CO_2}}$ que se incrementa con la temperatura.

3.- Producción de CO_2 aumentada al subir la temperatura. Las variables independientes a cambios térmicos son:

1.- Contenido de CO_2 en la sangre y probablemente en todo el cuerpo.

2.- Concentración de ion bicarbonato.

3.- Ventilación pulmonar, por lo menos en la mayoría de tortugas y en iguanas aunque no en *Mauremys*.

4.- Alcalinidad relativa de la sangre y muchos tejidos. La mayoría de animales primitivos, poseen mecanismos para regular el ambiente ácido-base tanto en los compartimentos extra como intracelulares controlando la presencia de una actividad óptima de hidrogeniones en un amplio rango térmico.

El parámetro prioritario de control parece ser el estado de carga proteica que depende fundamentalmente del grado de disociación de los grupos imidazol de la histidina de las cadenas peptídicas.

En todos los vertebrados con respiración aérea esta regulación implica ajustes fundamentalmente respiratorios, que determinan una ventilación relativa mayor al descender la temperatura corporal. El proceso regulatorio es rápido.

En los animales con respiración acuática los ajustes no son de tipo ventilatorio sino

de transporte activo iónico en las membranas celulares y branquiales. Controlando un pH de equilibrio similar a los terrestres, pero utilizando periodos de tiempo significativamente largos por lo que presentan perturbaciones transitorias significativas.

Vemos que en la concepción tradicional de regulación de equilibrio ácido-base se considera el pH erróneamente como uno de los parámetros regulados a valor constante, cuando su valor debe ser controlado a valor variable para la regulación prioritaria de la relación $[\text{OH}^-]/[\text{H}^+]$ (concepto de alcalinidad relativa propuesto por Rahn en 1967).

La contradicción con el principio fundamental de Claude Bernard de constancia del medio interno es sólo aparente y radica en el establecimiento de cuales son de las llamadas constantes fisiológicas las reguladas prioritariamente y las controladas de forma variable para mantener las primeras. En este caso es la relación $[\text{OH}^-]/[\text{H}^+]$ constante lo que determina un pH variable. En el mismo año en que Sorensen (1909) propuso el concepto de pH, Henderson acuñó la acertada frase de equilibrio ácido-base y es la regulación de éste y no de la actividad de los iones hidrógeno o el pH, lo que es preservado por los mecanismos homeostáticos fisiológicos y bioquímicos.

1.4. AJUSTES TERMICOS EN LOS REPTILES

1.4.1 TERMORREGULACION: DESCRIPCION GENERAL

Aunque los estudios iniciales sobre el fenómeno de termorregulación de los reptiles se iniciaron en la última centuria, se han desarrollado sistemática y estrictamente en las tres últimas décadas. Estos estudios muestran que algunos reptiles pueden alterar su tasa de intercambio de calor entre el organismo y el medio ambiente. Los reptiles representan un grupo ideal para examinar ciertas cuestiones de tipo adaptativo como pueden ser los cambios que se producen en su ventilación frente a distintos ambientes, por su condición de ectotermos, que les ha permitido colonizar ambientes muy diversos, tanto terrestres, de agua dulce, como marinos y tanto de zonas templadas como tropicales. Los reptiles se han distinguido siempre por presentar temperaturas corporales lábiles. Las mismas especies capturadas por la noche o en cuevas, tienen

una temperatura corporal inferior que las mismas al mediodía, contrastando este estado poiquilotérmico de temperatura variable, con el de los animales estrictamente homeotermos, como son aves y mamíferos. Consecuentemente es lógico utilizarlos para analizar ciertos parámetros fisiológicos a temperaturas extremas o de laboratorio y que presumiblemente se consideran normales para estos animales.

Hace aproximadamente cuatro décadas, debido principalmente a estudios de Cowles y Bogert (1944), se cambió este esquema tan simple. Su descubrimiento impulsó el reconocimiento de que las diferencias fundamentales entre reptiles por una parte y aves y mamíferos por la otra, se basaba más en la fuente de energía térmica que en la estabilidad o fijeza de una temperatura corporal dada (Gans, 1976 ; Cowles, 1962).

Los reptiles mantienen su temperatura corporal por intercambios térmicos con el ambiente, mientras que las aves y los mamíferos pueden controlar su temperatura por cambios de su tasa metabólica. De este modo, los reptiles presentan complejos mecanismos para percibir la temperatura ambiental (Hammel et al. 1967; Cabanac et al. 1967; Gans, 1976; Templeton, 1970) y para mejorar su capacidad de incrementar o disminuir sus tasas de intercambio de calor entre su cuerpo y el medio ambiente (Bartholomew y Tucker, 1963; Bartholomew y Lasiewski, 1965; Spray y May, 1972; Weathers y White, 1971; White, 1973).

Estas observaciones iniciales de que los reptiles pueden monitorizar y regular cerradamente su temperatura corporal a un determinado nivel, sugiere que estos animales sólo pueden operar bajo combinaciones de espacio y tiempo determinado, disminuyendo o acoplando su ejercicio o movilidad a su capacidad termostática (Porter et al. 1973; Gans, 1976). Si bien, estudios de Ruibal (1961); Huey y Webster (1975) y Regal (1967), sugieren que los problemas de regulación de la temperatura son más complejos, de manera que ésta sólo sería uno más del amplio espectro de parámetros que los reptiles pueden, en un sentido evolutivo, tender a optimizar de la totalidad. El mantenimiento de una temperatura elevada requiere un incremento de la tasa metabólica, conduciendo a un incremento del coste de mantenimiento. Algunas especies pueden reducir diaria, mensual o anualmente los requerimientos energéticos cambiando su elevada temperatura durante sólo una parte del tiempo, como puede ser durante

la defensa del territorio, apareamiento, cuidado de la prole o periodos de alimentación, digestión y periodos de predación. Todo esto es una variante del patrón usado por mamíferos heterotérmicos e insectos endotérmicos. La expresión de este patrón en reptiles puede no ser considerado como un estado intermedio en la evolución hacia un final homeostático.

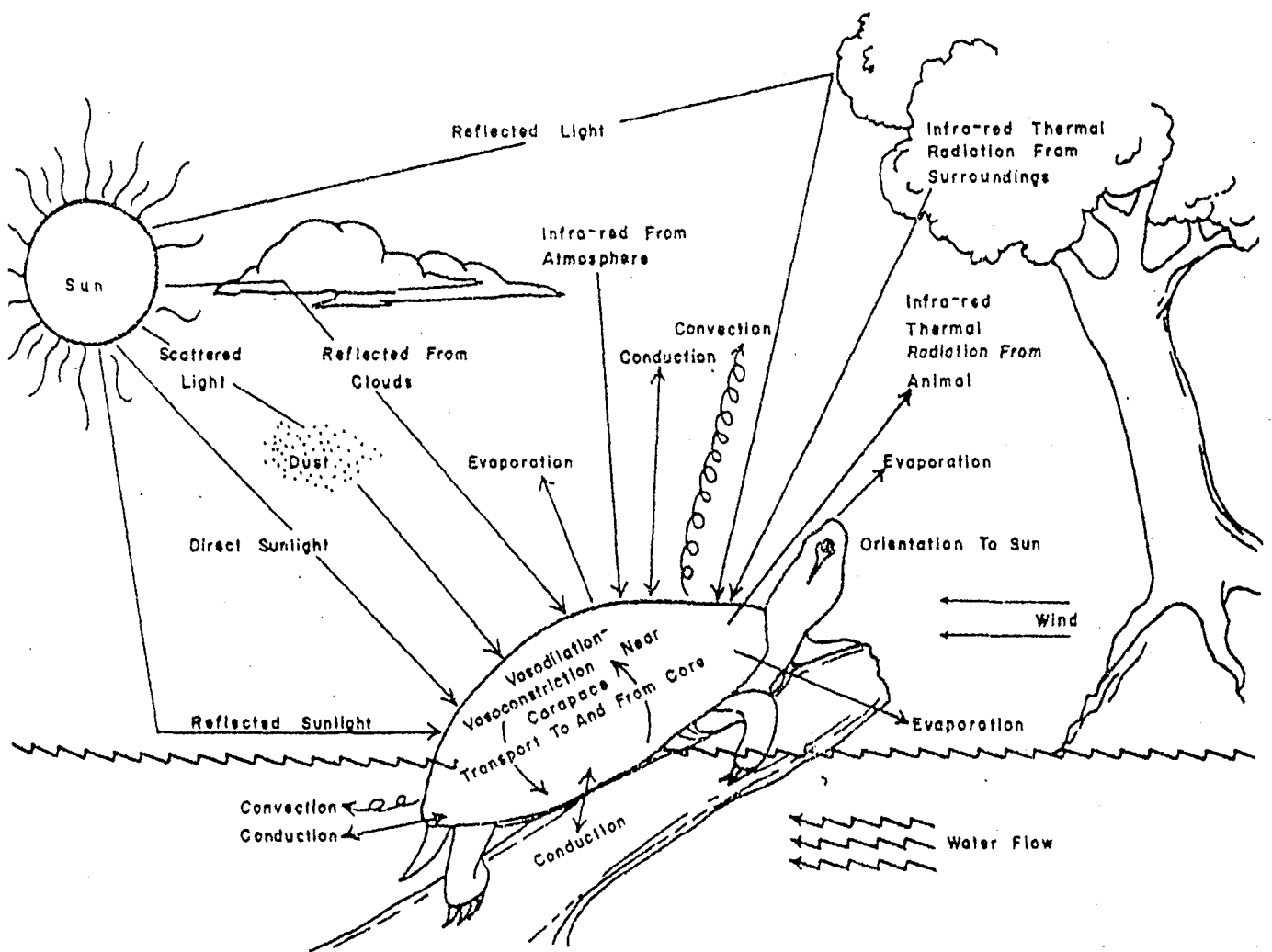
De igual forma que el mantenimiento de una temperatura elevada conduce a un beneficio substancial, es obvia la ventaja de un ajuste o adaptación de la temperatura corporal a la estructura térmica de cada ambiente particular.

Contrariamente a los aforismos promulgados en los textos sobre el cual los poiquiloterms tienen la temperatura corporal igual a la del medio ambiente en el que se encuentran, muchos de los animales llamados de "sangre fría" son relativamente independientes, dentro de un límite, de la temperatura ambiente de su medio natural. Realmente, se ha argumentado que esta no es la diferencia fundamental entre animales ectotérmicos (fuente externa de calor) y endotérmicos (fuente interna de calor), ya que los dos tipos varían sólo en un rango dentro del cual puedan mantener la homeostasis térmica (Cloudsley-Thompson, 1968; Hutchison, 1979). Los datos de especies animales no reptiles, sin embargo, muestran que poseen mecanismos fisiológicos altamente sofisticados para largos períodos, con tasas altas de producción de calor endógeno. La principal diferencia con los reptiles sería la necesidad que presentan éstos de tener una insolación efectiva. La facultad de algún control sobre la temperatura corporal, la cual es especialmente evidente durante periodos de actividad, se consigue por combinación de varios estados de regulación ambiental y fisiológica, como es el caso de utilización de microclimas favorables. La masa de algunas tortugas es lo suficientemente grande para prevenir cambios rápidos de la temperatura corporal a través de intercambio de calor con el medio ambiente. Las grandes tortugas terrestres, por ejemplo, se encuentran en los trópicos y subtrópicos, mientras que las acuáticas tienden a evitar temperaturas extremas, como aquellas a las que se deben enfrentar en ocasiones las especies terrestres.

Los estudios más antiguos sobre temperatura corporal (T_c) en tortugas, probablemente sean los hechos en 1872 por Walbaum, el cual declaró que la T_c variaba sólo 1 o 2 grados con respecto a la temperatura ambiental (T_a). Resultados parecidos

halló Baldwin en 1925. Se han hecho pocos estudios adicionales sobre temperatura corporal hasta hace relativamente poco tiempo y de todos, quizá sean los Quelonios, los que han recibido más atención frente a otros reptiles. Algunos investigadores hicieron estudios de campo para recolectar datos de T_c de reptiles (Cowles y Bogert, 1944; Colbert et al. 1946). Hay también revisiones en la literatura sobre T_c en reptiles y termorregulación (Brattstrom, 1965; Cloudsley-Thompson, 1971; Templeton, 1970). Además se han hecho también revisiones de los términos y técnicas usadas en el estudio de las relaciones térmicas de reptiles (Brattstrom, 1970; Templeton, 1970. En la Figura 14 (obtenida de Hutchison, 1979) se muestran todos los distintos intercambios que puede presentar una tortuga, y que han sido descritos por Hutchison (1979).

FIGURA 14: Intercambio energético de una tortuga en un ambiente natural. El animal está en situación de exposición al sol con las patas posteriores sumergidas en el agua. (Hutchison, 1979).



La termorregulación ambiental está bien documentada en ectotermos, definiéndose como el conjunto de movimientos y posturas, que usan bajo condiciones naturales apropiadas, y como resultado de una frecuente y relativamente constante exposición a altas temperaturas (Heath, 1965; Meek, 1983). Frente a cada ambiente, las tortugas regulan su T_c dentro de unos límites por medio de diversas actividades como por ejemplo, emerger del agua, sumergirse, exponerse al sol, orientarse con respecto al viento, variar el ángulo de incidencia a la radiación solar, cambios en la postura y selección de diferentes temperaturas del agua o substrato.

Los cambios resultantes de controlar la T_c de los ectotermos están acompañados por significativos cambios funcionales internos. Quizás los cambios fisiológicos más evidentes relacionados con la termorregulación, sean las alteraciones en el flujo circulatorio y en el patrón de distribución de la sangre.

Cuando una fuente de calor externa (por ejemplo, la radiación solar) disminuye, la T_c de una tortuga puede disminuir más lentamente de lo previsto en relación a la masa-superficie corporal del animal. Por otro lado, el incremento de la T_c durante el calentamiento, puede ser mayor que el esperado con respecto a la relación física puramente. Estas diferencias en las tasas de calentamiento y enfriamiento se consiguen por un incremento o decrecimiento en la conductancia de la superficie corporal por vasodilatación o vasoconstricción, respectivamente. Pequeñas elevaciones en la T_c interna de los reptiles, puede dar también como resultado, mayores cambios en la magnitud y distribución del rendimiento o capacidad cardíaca (Hutchison, 1979). Todos los reptiles tienen obligatoriamente una pérdida de calor por evaporación de agua a través de las superficies corporales y para todas las temperaturas (Bentley y Schmidt-Nielsen, 1966), pero el aumento de esta pérdida de agua a altas temperaturas, tiene un efecto termorregulador. A temperaturas elevadas, las tortugas pueden aumentar la pérdida de agua, para disminuir la T_c , por salivación, jadeo y formación de orina. Baldwin (1925a) encontró que *Terrapene carolina* mostraba una respiración rápida (jadeo), espuma alrededor de la boca y acúmulo de humedad en la cabeza y alrededor de los ojos, con temperaturas por encima de 27°C. Riedesel et al. (1971), trabajando con la misma especie, encontró que la salivación empezaba con temperaturas superiores a 32°C (empezaba alrededor de 40°C). La salivación a altas temperaturas es copiosa

en la mayoría de tortugas y representa una respuesta influenciada a la vez por la T_b y la T_c (Riedesel et al. 1971; Sturbaum y Riedesel, 1974). La salivación y evaporación de agua a altas temperaturas ha sido estudiada en diversas especies de tortugas por Cloudsley-Thompson (1968, 1971, 1974). Según Riedesel et al. (1971), la larga vejiga que presentan las tortugas puede servir para almacenar orina como emergencia para la termorregulación.

En *Testuda graeca* a temperaturas altas, la evaporación de agua como medio de enfriamiento, eliminada por los ojos, jadeo, orina y saliva, puede exceder la producción de calor metabólico. La salivación termorregulatoria empieza a los 39.5°C independientemente del tamaño corporal, pero las tasas de jadeo son bajas en individuos de pesos altos (Cloudsley-Thompson, 1974). La importancia del jadeo, la salivación y la producción de orina como sistemas de termorregulación en tortugas, necesitan más estudios, así como el control y la eficiencia de estas pérdidas de agua.

Los mecanismos termorreguladores tanto de comportamiento como fisiológicos, necesitan que la sensibilidad a la T_b sea muy precisa, además de presentar un sistema de control muy efectivo.

Heath (1965, 1967), adaptándose a trabajos de Hardy (1961), propuso varios modelos de termorregulación en poiquilotermos:

- Un control externo con un termostato que regula un efector de potencia de tipo todo o nada. En las tortugas, el jadeo y la salivación son ejemplos de este sistema.

- Un control de proporción en el que el efector de salida o potencia, está continuamente proporcionado a la desviación de la T_c para controlar su nivel. Ejemplos de ellos son los cambios posturales y de orientación.

- Un control de tasa en el que el efector de salida o repuesta, varía con los cambios de tasa de temperatura. Ejemplos de ellos, son las diferencias entre la tasa de calentamiento y enfriamiento y los cambios vasomotores asociados a alteraciones de flujo de sangre en las áreas del caparazón.

Rodbard et al. (1950), proponen la evidencia de receptores termosensibles en reptiles, en el que se encuentra implicado el hipotálamo. Hammel et al. (1967) y Heat et al. (1968) también localizaron estos receptores en la parte anterior del hipotálamo.

Según Saint Girons (1975) la termorregulación ecológica juega un importante papel

dentro de la vida de los animales ectotermos y termófilos como son los reptiles, particularmente en las regiones templadas. No se puede pretender conocer la biología de una especie si se ignora cuales son sus reacciones a la temperatura, por qué métodos mantiene su termorregulación y a que nivel. En un trabajo clásico sobre serpientes y lagartos desérticos, Cowles y Bogert (1944) y después Brattstrom (1965), expusieron los principios sobre los que se basan los métodos de termorregulación de los reptiles, particularmente a los concernientes en la lucha contra el calor. En su trabajo precisaron la definición de las diferentes zonas térmicas, que abarcan desde la temperatura mínima crítica a la máxima letal pasando por la mínima voluntaria tolerada, zona de insolación, zona normal de actividad y zona óptima ecológica, y temperatura máxima voluntaria tolerada.

- La temperatura mínima crítica voluntaria la definen como la T_c a la cual el animal emerge o se sumerge voluntariamente. Normalmente en el registro de la T_c de un animal activo, se representa con una disminución de la temperatura.

- La temperatura máxima voluntaria es la T_c a la cual un animal busca refugio en zonas con bajas temperaturas ambientes (sombra, agua, galerías subterráneas). Usualmente se representa por la subida de la T_c en el registro de un animal activo.

- La temperatura óptima (llamada también preferida, ecrítica o temperatura media de actividad) es el rango de T_c en el cual los animales están activos o bien puede definirse también como el rango de T_c resultantes de la selección en el laboratorio de un gradiente térmico. El rango de temperatura preferida representa la media de todas las T_c registradas en animales activos dentro del rango de actividad normal (las temperaturas entre el mínimo y máximo voluntario). De todas maneras, la T_c seleccionada para un reptil bajo condiciones naturales puede no ser la misma que la seleccionada en un gradiente térmico bajo condiciones controladas en el laboratorio. Así lo afirmaban Litch et al. (1966) limitando la temperatura ecrítica a las mediciones de campo y la de termopreferendum a los gradientes de laboratorio.

- La temperatura crítica máxima (TCM) es el punto térmico en el cual la actividad locomotora pasa a ser desorganizada y el animal disminuye su capacidad para escapar frente a condiciones en las que se halle en peligro su vida. Hutchison en 1961 y posteriormente en 1980, modificó esta definición añadiendo que se producía el punto

final con un súbito ataque de espasmos musculares e incluyó además criterios para tasas de calentamiento.

La definición que de la TCM daba Bynum et al. (1978) como la mínima temperatura corporal a partir de la cual la T_c es considerada ya como letal en un animal, no es correcta, porque según Hutchison (1980) la exposición a TCM no resulta letal puesto que se considera ecológica, mientras que las TCM que son letales, tienen que considerarse como fisiológicas.

Baldwin (1925) afirma que la T_c en *C. picta* entre 39 y 41°C durante 30 minutos era letal. Hay distintos datos bibliográficos de TCM como los de Brattstrom (1961), 1965) para *P. scripta*, *C. picta*, *Gopherus agassizi* y *Trionix ferox*; los de Cherchi (1956) en *T. hermanni* y los de Hutchison et al. (1966) en una recolección y revisión de distintos trabajos sobre diferentes especies de reptiles.

En las últimas tres décadas se han llevado a término numerosos trabajos describiendo todas estas diferentes zonas térmicas en distintas familias de reptiles y anfibios (Cowles y Bogert, 1944; Bogert, 1949a; Fitch, 1956; Stebbins y Hendrickson, 1959; Brattstrom, 1963, 1965; Saint Girons, 1975; Smith y Nickon, 1961; Drane y Yerbury, 1982; Jarling et al. 1984; Hutchison, 1979; Maness y Hutchison, 1980; Graham y Hutchison, 1979; Hutchison, 1976, 1979, 1980; Webb y Witten, 1973; Hutchison et al. 1966).

Existen diferencias específicas genéricas y familiares en la tolerancia térmica y el termopreferendum de reptiles presentando algunos un amplio rango de tolerancia térmica con temperaturas corporales sin ningún preferendum determinado, mientras en otros grupos este rango es muy pequeño.

Normalmente se asocia el incremento de la tolerancia térmica al de la temperatura crítica máxima. Así, formas con preferencias térmicas bajas, normalmente se encuentran en áreas y estaciones más frías que las especies con preferencias térmicas altas.

Lowe y Vance (1955) estudiaron la temperatura crítica máxima en *Urosaurus ornatus*, evidenciando que el mantenimiento de la temperatura afecta a ciertos límites térmicos en reptiles.

La termorregulación en reptiles tal como hemos citado anteriormente es al mismo tiempo ambiental (emergencia, aislamiento, selección de temperaturas, exposición,

orientación, cambios posturales, etc.) y fisiológica (enfriamiento por evaporación, respuestas vasomotoras afectando las tasas de intercambio de calor y producción de calor limitado en incubación).

Hutchison y Kosh (1965) encontraron que la T_c decrecía al aumentar el peso corporal, mientras que Kosh y Hutchison (1968) demostraron que la TCM variaba con el tiempo. Webb y Jonhson (1972) propusieron que aunque la temperatura de calentamiento puede variar con la T_c en tortugas, la magnitud y dirección de este gradiente dependía de condiciones de calentamiento experimental.

En términos de comportamiento termorregulador, Brattstrom (1965) agrupó a los reptiles en los siguientes grupos:

- 1.- Formas subterráneas.
- 2.- Formas acuáticas sin temperaturas selectivas.
- 3.- Formas acuáticas con temperaturas selectivas.
- 4.- Formas acuáticas con exposición a la radiación solar en la superficie del agua o en la orilla.
- 5.- Formas tigmotérmicas nocturnas (tienen intercambio por conducción con el ambiente).
- 6.- Formas tigmotérmicas nocturnas que ocasionalmente se calientan al sol.
- 7.- Formas diurnas principalmente tigmotérmicas que se calientan ocasionalmente al sol y son propias del crepúsculo o bien nocturnas y de estaciones cálidas.
- 8.- Formas diurnas sin exposición al sol.
- 9.- Formas diurnas con exposición limitada.
- 10.- Formas heliotérmicas verdaderas, que varían su exposición al sol por variación del comportamiento.

La heliotermia en reptiles es una conducta estratégica utilizada para elevar la T_c por encima de la T_s . Esta estrategia termorreguladora la utilizan la mayoría de grupos de reptiles pero prevalece sobre todo y está muy desarrollada en un rango de especies de regiones templadas, en las cuales el intercambio diario de temperaturas puede ser bajo. Si las temperaturas ambientales son altas, la heliotermia se emplea para sólo un rango limitado o también a conveniencia de fenómenos estacionales.

En estudios realizados por Meek (1983) en una población de *Mauremys caspica*

leprosa en el sur de Marruecos, se describía en ella un comportamiento de heliotermita, como respuesta a una estrategia de comportamiento termorregulador.

También se han realizado estudios de termorregulación en otros quelonios semiacuáticos del norte de América (Boyer, 1965; Cloudsley-Thompson, 1971; Avery, 1982). De todas las especies que se encuentran en el Mediterráneo, *Emys orbicularis* y *Mauremys caspica*, solamente se ha estudiado el comportamiento termorregulador de la primera especie por Cherchi (1958), aunque Stubbs et al. (1981) hicieron algunas observaciones sobre la exposición al sol de una población de *Mauremys* en Grecia.

Hay numerosos estudios sobre la importancia de las tasas de intercambio de calor en la fisiología de la termorregulación de los reptiles. Muchos autores han aportado que los heliotérmicos terrestres resisten mejor el calor que el frío (Moler, 1970; Weathers, 1970; Bartholomew y Tucker, 1963, 1964; Bartholomew y Lasiewski, 1965; Weathers y White, 1971; Spray y May, 1972). Este fenómeno se cree que tiene un significado ecológico.

Algunos reptiles modifican sus tasas de calentamiento y enfriamiento mediante procesos vasomotores periféricos y cardíacos y procesos metabólicos. Modificaciones fisiológicas así como de comportamiento termorregulador se da en distintos reptiles, especialmente en formas semiacuáticas, para prolongar su T_c funcional y mitigar así sus variados ambientes heterotermos. En numerosos reptiles se han hallado desigualdades en las tasas de intercambio de calor (histéresis), pareciendo ser una adaptación ecológica. Esta histéresis adaptativa en formas semiacuáticas puede ser debida a respuestas fisiológicas y adaptativas por elevación de la ganancia de calor respecto a la pérdida en aire y por disminución de la pérdida de calor en agua (Glidewell et al. 1981; Ellis y Ross, 1978).

El modelo de tasa de calentamiento superior a la de enfriamiento ha sido descrita en distintas formas semiacuáticas como cocodrilos (Grigg y Alchin, 1976; Smith, 1976), en tortugas (Weathers y White, 1971; Spray y May, 1972) y en iguanas (Bartholomew y Lasiewski, 1965). En reptiles estrictamente terrestres no se ha demostrado ningún modelo consistente. Así, algunas especies se calientan más rápidamente (Bartholomew y Tucker, 1963, 1964; Bartholomew y Lasiewski, 1965; Weathers, 1970; D'Miel y Borut, 1972; McKenna y Packard, 1975), la mayoría de casos corresponden a especies de

lagartos, mientras que las tortugas terrestres como *G. polyphemus*, *T. carolina*, *T. ornata* y *Chersine angulata*, se enfrían más rápidamente que se calientan (Spray y May, 1972; Bethea, 1972; Craig, 1973).

Según Gliedewell et al. (1981), el contraste en la histéresis entre calentamiento y enfriamiento corporal en quelonios, sugiere que el control de la T_b está relacionado con la tasa de calentamiento en formas estrictamente terrestres y la tasa de enfriamiento en especies semiacuáticas. En *Mauremys caspica* se trataba de comprobar esta hipótesis de intercambio de calor a partir del cálculo de tasa de intercambio de calor y ver si su comportamiento era heliotérmico o de exposición.

La termorregulación y el comportamiento termorregulador, han sido estudiados también en quelonios semiacuáticos de especies norteamericanas por Boyer, (1965); Cloudsley-Thompson, (1971); Avery, 1982. En especies mediterráneas como *Emys orbicularis* por Cherchi (1958); y *Mauremys caspica* por Stubbs et al. (1981) y Meek (1983). Además en otras especies de reptiles por Hammond et al. (1988); Hutchison (1976, 1979); Regal (1967); Graham y Hutchison (1979); Jarling et al. (1984); Mrosovsky, (1980); Weathers y White (1971); Edgren y Edgren (1955).

1.4.2 TASAS TERMICAS EN REPTILES

La profunda influencia de la temperatura en ectotermos ha estimulado multitud de estudios sobre mecanismos de ajuste a cambios térmicos del medio ambiente (Rose, 1967; Whittow, 1970; Prosser, 1973; Precht, 1973; Hutchison y Maness, 1979; Meek, 1983).

La tolerancia térmica y sus ajustes son de particular interés ya que la supervivencia bajo determinadas condiciones térmicas, determina la presencia o ausencia de un animal en una región o hábitat particular (Brett, 1956; Hutchison, 1961; Fry, 1967, 1971; Brattstrom, 1970; Hutchison, 1976).

Los estudios de los ajustes a la tolerancia térmica han tratado principalmente con procesos de aclimatación o de ambientación. El primer término se refiere al ajuste efectuado como respuesta al cambio de un factor simple. El segundo, se refiere a ajustes realizados frente a alteraciones de varios factores (Folk, 1974; Hutchison, 1976).

Ahora bien, estos procesos requieren varios días o semanas para completarlos. Maness y Hutchison (1980) propusieron un mecanismo de ajuste agudo a la tolerancia, requiriendo sólo unos minutos o unas pocas horas, llamándole temperatura de fortalecimiento. Esta, es bien conocida en plantas, en las que la exposición a temperaturas extremas les causa un envejecimiento prematuro como resistencia al estrés térmico. Alexyrov (1964) extiende este concepto a las células animales, indicando que la temperatura puede provocar la disminución del fluido protoplasmático (y por tanto la muerte) en células expuestas brevemente a temperaturas letales. Precht (1973) extiende este concepto a todos los animales y define la temperatura de fortalecimiento como una rápida y usual adaptación transitoria a temperaturas altas y bajas, siendo una forma distinta de la aclimatación como respuesta a breves exposiciones de un rango de temperaturas letales, mientras que la aclimatación es lenta con una larga y duradera respuesta a temperaturas dentro de un rango normal (Hutchison y Maness, 1979).

Algunas especies de reptiles, cuando están activos, mantienen su T_c dentro de un pequeño intervalo de temperaturas. Estudios de regulación térmica en lagartos y serpientes han demostrado que tanto la respuesta de comportamiento como la fisiológica están relacionadas (Weathers, 1969; Dawson, 1967). Algunos lagartos pertenecientes a las familias Agamidae, Iguanidae, Scindidae y Varanidae, tienen la capacidad fisiológica de alterar su conductancia térmica de manera que las tasas de intercambio de calor durante el calentamiento excede a las de enfriamiento (Bartholomew y Lasiewski, 1965; Bartholomew y Tucker, 1963, 1964; Bartholomew et al. 1965; Weathers, 1970; White y Ross, 1966). El control de los cambios de las tasas de temperatura en tortugas estudiadas por Weathers y White (1971) sobre *P. floridana*, y *C. serpentina*, y por Lucey (1974) y Crawshaw (1979) en *P. scripta elegans*, dependen de los cambios en la tasa de producción de calor endógeno o de la tasa de circulación de la sangre entre el cuerpo y la periferia o de ambos factores. Así como en lagartos hay gran cantidad de información sobre termorregulación, son pocos los estudios sobre la regulación en tortugas.

Comparaciones de las tasas de calentamiento y enfriamiento se han utilizado para indicar que algunos Escamados y Quelonios, tienen mecanismos fisiológicos para alterar la tasa de intercambio de calor entre el organismo y el medio ambiente. Esta alteración



generalmente está fuertemente relacionada a las tasas de intercambio de calor. Esto tiene el efecto de prolongar el tiempo de permanencia a altas temperaturas corporales, con la posible ventaja de incrementar la tasa metabólica y su eficiencia.

Uno de los mecanismos que pueden estar implicados en la alteración de las tasas de intercambio son los cambios en el flujo de sangre entre el cuerpo y la periferia del animal.

Estudios sobre tasas cardíacas en Quelonios indican que no hay diferencias significativas entre tasas cardíacas durante el calentamiento y enfriamiento (Spray y May, 1972; Riedesel et al. 1971; Weathers y White, 1971), mientras que otros trabajos publicados sobre lagartos si aportan diferencias significativas. (Weathers, 1971; Lucey, 1974), aportan también diferencias significativas entre tasa cardíaca entre calentamiento y enfriamiento en *P. scripta elegans*.

1.5. OBJETIVOS DE LA TESIS

Los objetivos que nos hemos propuesto al iniciar este trabajo y que hemos llevado a término son:

-Elaborar un modelo de tratamiento para el estudio comparado del intercambio de gases pulmonares en animales ectotermos.

-Definir más claramente las relaciones existentes entre patrón ventilatorio y temperatura en los reptiles.

-Conocer las respuestas ventilatorias frente a distintas temperaturas fisiológicas (15, 25 y 35°C) y extremas (5 y 40°C) durante la ventilación espontánea, de una especie ectotérmica poco estudiada como es la tortuga de agua dulce *Mauremys caspica*.

-Analizar su mecánica pulmonar durante un ciclo ventilatorio, teniendo en cuenta el efecto del caparazón sobre la expansión pulmonar en los quelonios.

-Establecer su temperatura crítica máxima con el fin de obtener un rango de temperaturas extremas en las que se pudiera analizar la ventilación pulmonar.

-Definir que estrategia termorreguladora utiliza.

2. MATERIAL Y METODOS

2.1. ANIMALES

2.1.1. DESCRIPCION

En el presente trabajo se utilizaron galápagos adultos de la especie *Mauremys caspica* originarios de la laguna de Adra (Almería), de aguas salobres. Los animales tenían pesos comprendidos entre 100 y 700 g. El hecho de utilizar esta especie fue por considerarla un material adecuado para elaborar un modelo descriptivo del intercambio gaseoso pulmonar en ectotermos, especialmente aplicable a estudios de fisiología comparada.

La mayoría de estudios realizados en fisiología respiratoria corresponden a especies de tortugas americanas, mientras que la especie mediterránea *Mauremys caspica* ha sido poco estudiada, por lo que casi todos los datos obtenidos son inéditos.

Por el tipo de trabajo que pensábamos realizar, necesitábamos individuos ectotermos, ya que podíamos someterlos a un amplio rango de temperaturas. Dentro de éstos, los reptiles y en especial las tortugas, muestran gran variedad de respuestas termorreguladoras, tanto fisiológicas como comportamentales, siendo además, animales fáciles de conseguir y sobre todo de mantener en cautividad.

El patrón ventilatorio de las tortugas es discontinuo, por lo que nos permitía tomar muestras de gases pulmonares durante los períodos de apnea, mediante la implantación de cánulas pulmonares.

Además, por ser la especie escogida de vida semiacuática, había la posibilidad de hacer un doble trabajo de ventilación aérea espontánea y de buceo.

Por último, había la posibilidad de analizar su mecánica pulmonar teniendo en cuenta la rigidez que proporciona el caparazón a la cavidad torácica.

2.1.2 CAPTURA

Los animales se capturaron en sucesivos períodos que abarcan desde el año 1982 al 1987. Para ello se utilizó una nasa tradicional que contenía un cebo de carne o pescado.

2.1.3. MANTENIMIENTO

Se mantuvieron en cautividad en tanques de agua dulce, con acceso a zona seca y con una dieta de carne y pescado "ad libitum". La habitación estaba a una temperatura de 20-22°C y con fotoperiodo de luz natural.

Antes de cada experimento, los animales a utilizar, se mantuvieron en ayunas durante un mínimo de 24 horas, con agua disponible y a temperatura de laboratorio.

2.2. TECNICAS QUIRURGICAS Y OBTENCION DE MUESTRAS

2.2.1. ANESTESIA

Para la implantación crónica de catéteres pulmonares, se utilizó el método descrito por Kinney et al. (1977). Los animales se crioanestesiaron sometiéndolos a una temperatura de 0°C, durante un mínimo de 2 horas antes de la operación.

2.2.2. CANULACION PULMONAR

Los animales se mantuvieron en posición ventral sobre una cubeta refrigerada durante todo el periodo que duró la operación. Se les practicó una abertura en la parte anterior lateral izquierda, en el dorso del caparazón, a una distancia de 4-6 cm de los bordes. De acuerdo con otros autores (Burggren et al., 1978), las tensiones de gas son idénticas en todas las cámaras laterales tanto izquierdas como derechas. El tamaño de la abertura era de 2 x 1.5 cm. Para cortar el caparazón se utilizó un taladro circular de tipo odontológico. Una vez realizada esta operación, se levantó con cuidado el fragmento del caparazón y se procedió a eliminar los restos de piel adheridos al pulmón. A continuación se practicó una pequeña incisión en el pulmón por la que se introdujo una cánula (tipo Clay-Adams, 2.5) hasta el interior del parénquima pulmonar, permaneciendo implantada durante todo el tiempo que duró el experimento.

La disección posterior reveló un edema muy pequeño, sin daños relevantes. Antes de introducir la cánula en el pulmón, se dobló la punta en forma de cuatro y se practicaron varios orificios en ella, para evitar en lo posible que una vez colocada se obturara debido a las secreciones mucosas propias del pulmón. Se implantaron además otras dos cánulas (tipo Clay-Adams, 2.5) extrapulmonares que tenían como función el drenaje de la cavidad troncovisceral y servían como vía para el llenado de esta cavidad con suero fisiológico (NaCl 0.7 %) y solución bactericida con el fin de evitar infecciones postoperatorias, y la desecación del parénquima pulmonar, facilitando a la vez, la limpieza diaria y la asepsia. Sirvió además para poder mantener un medio uniforme entre el pulmón y el transductor de presión para el registro de la frecuencia respiratoria.

Para cubrir el espacio intervenido se utilizó un cubreobjetos estándar de microscopía, que se adhirió al caparazón mediante un cemento dental de tipo acrílico (FORTEX, al oxifosfato de zinc), con el que se obtuvo un sellado hermético de la cavidad extrapulmonar, permitiendo el examen de la misma y la observación de la posible presencia de burbujas o de un proceso infeccioso postquirúrgico.

2.2.3. CANULACION TRAQUEAL

La relación presión-volumen del sistema respiratorio se midió en 18 tortugas con pesos comprendidos entre los 50-500 g, manteniendo la temperatura de la habitación entre los 20-22°C.

Los animales se pesaron individualmente y se decapitaron, procediéndose a continuación a canular la tráquea con los animales en posición prono, justo por debajo de la laringe. Ocasionalmente, si durante la decapitación se introducía sangre en la tráquea, se aspiraba con una jeringa. A continuación se removía el aire de las vías respiratorias con inyecciones y aspiraciones de aire de forma continua para limpiarlas de posibles mucosidades y dejarlas libres. En el caso de que se mantuvieran obstruidas, se descartaba el animal.

La cánula se conectó al manómetro de agua a través de una llave de tres vías. Con una jeringa se extrajo todo el aire de los pulmones hasta llegar al volumen de reserva

espiratorio (V_L) en que se producía el colapso de los pulmones, registrándose este volumen extraído y la presión negativa correspondiente.

2.2.4. MEDIDA DEL VOLUMEN DEL ESPACIO MUERTO ANATOMICO

El espacio muerto anatómico (V_D) del sistema respiratorio se determinó en 7 animales con una media de peso de 275 g. Ese espacio se consideró como el volumen de la tráquea y bronquios primarios desde la glotis al hilio del pulmón y no se incluye el volumen de los bronquios primarios intrapulmonares.

El método usado para determinar el V_D se basa en la medición de la longitud y diámetro de la tráquea, con lo que puede calcularse el volumen.

Estas medidas se consideran como los mínimos valores de V_D , puesto que este método no incluye ningún ajuste para el espacio muerto fisiológico. Este representa el volumen ventilatorio de aire que no participa en el intercambio gaseoso pulmonar.

2.2.5. OBTENCION DE GASES ESPIRADOS

El método para registrar la ventilación es parecido al empleado por Prange y Jackson (1976). Para ello se ha utilizado una máscara de plástico ajustada al cuello del animal con una goma flexible evitando que le comprimiera y permitiéndole así respirar libremente, procurando reducir al mínimo el espacio muerto.

Esta máscara se ha conectado a una válvula de doble vía (unidireccional) de baja resistencia, (variación del modelo usado por Barrow, 1976) de manera que separa el aire inspirado de la atmósfera, del espirado, que se recogía en una bolsa de Douglas de 2 l de volumen.

La composición fraccional del gas espirado y recogido así, se ha determinado utilizando un analizador de gases Scholander 0.5 ml (Scholander, 1947) obteniendo los porcentajes de O_2 , CO_2 y N_2 . Para recoger las muestras de la bolsa de Douglas se han utilizado jeringas de insulina de 1 ml con la aguja soldada al vidrio para evitar espacios muertos. Las jeringas se mantuvieron inmersas en agua

acidulada hasta su análisis. Dentro de ellas había una capa de mercurio para evitar pérdidas de gas.

Durante todo el tiempo que duró el experimento se mantuvo al animal conectado a un polígrafo a través de una de las cánulas extrapulmonares para obtener el registro de la frecuencia ventilatoria.

2.3. OBTENCION DE DATOS Y REGISTROS

2.3.1. TEMPERATURAS

Para conseguir la temperatura adecuada para cada experimento (5, 15, 25, 35 y 40°C) se mantuvo cada animal en una cámara termostataada y con renovación de aire, a la temperatura deseada y con un mínimo de 2 horas de aclimatación antes de iniciar los análisis.

Para este proceso se siguió el siguiente protocolo:

- a) Se conectó la cámara termostataada y se seleccionó la temperatura.
- b) Se instaló el termopar ambiental, conectado a un teletermómetro (modelo Yellow-Spring) en el interior de la cámara termostataada.
- c) Se comprobó la cánula pulmonar de la tortuga.
- d) Se conectó la cánula al transductor de presión del polígrafo (modelo Washington 400 MD2) y se anotaron las condiciones pertinentes (velocidad, potencia, temperatura).
- e) A los 30 minutos se introdujo a la tortuga en la cámara climática.
- f) Se esperó a que se regularizara el ciclo ventilatorio del animal.
- g) Se comprobó la temperatura rectal durante la aclimatación.
- h) Se mantuvo a la tortuga durante 2 horas en proceso de equilibrio térmico anotando la temperatura corporal cada 15 min.
- i) Pasado este período de equilibrio y siempre que el ciclo ventilatorio se hubiera regularizado, se inició la extracción de muestras (aproximadamente 2 ml para cada una de ellas), anotándolo en el registro.
- j) A continuación se analizaron las muestras en el Scholander.

Las temperaturas por orden de experimentación fueron: 25, 15, 35, 5 y 40°C. A

lo largo de todo el experimento se hicieron registros de la temperatura ambiental y corporal. Se comprobó además la dinámica del ciclo ventilatorio para cada temperatura y antes de cada serie de experimentos.

2.3.2. FRECUENCIAS VENTILATORIAS

Durante todo el periodo de aclimatación y de experimentación, se mantuvo a la tortuga conectada a un polígrafo (modelo Washington MD-400) para registrar las frecuencias ventilatorias.

Se inmovilizó al animal sobre un soporte de manera que no pudiera desplazarse, pero sí mover las patas y cuello, con el fin de no limitar su capacidad ventilatoria, debido a la importancia que tienen en la regulación del volumen total intratorácico.

Una de las cánulas situadas entre el caparazón y la cavidad pulmonar se conectó al transductor de presión del polígrafo. Todo el circuito desde la cavidad intratorácica hasta el transductor se mantuvo lleno de suero fisiológico con el fin de eliminar distorsiones capacitativas y así poder registrar solamente las variaciones de presión producidas por la inflación y la deflación pulmonar.

Para evitar la presencia de burbujas de aire en el sistema, que podrían haber amortiguado los cambios de presión debido a su capacidad de compresión y dilatación, se purgó el circuito mediante otra cánula situada en posición opuesta e inferior a la primera, en la misma cámara intratorácica, inyectando o aspirando el suero para forzar el paso de las posibles burbujas de aire hasta el emisor de drenaje. Una vez eliminadas las burbujas, se cerró aquél, quedando establecido un circuito cerrado.

A continuación se eligió la velocidad de registro y la amplitud, anotándose la hora y temperatura. Previamente a la obtención de resultados, se dejó transcurrir un tiempo (de 30 a 60 minutos) hasta la estabilización del registro.

Se anotaron además todas las incidencias, como la agitación del animal causada por ruidos, extracción de muestras, cambio de postura por manipulación, eliminando los periodos en que se producían estas alteraciones en el análisis de los resultados. Así se obtuvo la frecuencia ventilatoria relacionando el número de batidos por el tiempo de registro, que era como mínimo de 1 hora.

2.3.3. CURVA DE PRESION-VOLUMEN

2.3.3.1. Compliancia

Con este experimento se intentó determinar el volumen pulmonar máximo, el grado de histéresis pulmonar y también la relación presión-volumen, para trazar la curva correspondiente. Se obtuvo el volumen pulmonar mediante el método de Milsom (1975).

El protocolo utilizado, descrito por Newman et al. (1984) fue el siguiente:

Se utilizaron 12 tortugas con pesos comprendidos entre 50 y 500 g, mantenidas a temperatura de laboratorio ($20 \pm 2^\circ\text{C}$).

Para determinar el volumen máximo (V_{max}) se implantó una cánula traqueal (tipo PE220) conectada a un manómetro de H_2O , formado por un tubo en U abierto a la atmósfera, con un dispositivo de llaves y jeringas. El sistema era sensible a un intercambio de volumen inferior a 0.5 ml. A través de la cánula se inyectaron volúmenes conocidos de aire, hasta llegar al punto crítico de resistencia pulmonar.

Previamente a la inflación, se extrajo en lo posible el aire del tracto respiratorio.

Durante todo el proceso se registró la presión pulmonar con el fin de conocer la relación V/P y en consecuencia, la adaptabilidad (compliancia) pulmonar estática (C), junto con el ciclo de histéresis. La adaptabilidad se mide a partir de la pendiente de la porción lineal del segmento inspiratorio de la curva presión-volumen, trazada desde el punto de máxima inspiración al de máxima espiración, tal como describen Perry y Duncker (1978). Este parámetro nos proporciona una estimación de la adaptabilidad del pulmón a la inflación y deflación:

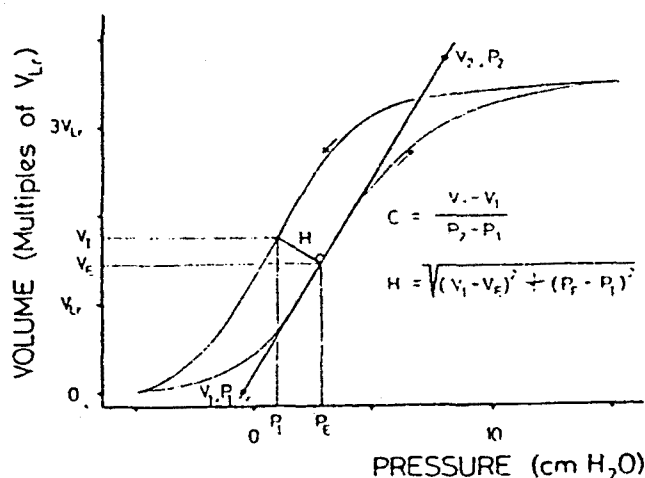
$$C = \frac{\Delta V}{\Delta P} \quad (\text{l/cm H}_2\text{O})$$

2.3.3.2. Histéresis

El índice de histéresis (H) se midió, de acuerdo al método descrito por los mismos autores, determinando la distancia perpendicular entre el punto medio de la pendiente de la curva de inflación hasta la curva de deflación, según la fórmula:

$$H = [(V_1 - V_E)^2 + (P_E - P_1)^2]^{1/2}$$

Esta variable proporciona información del grado de tabicación pulmonar y de la diferencia entre la curva de inflación y deflación.



2.3.3.3. Volumen pulmonar

El volumen pulmonar (V_L) se determinó por pletismografía con el método de Milsom (1975).

Siguiendo este método, las tortugas se introdujeron en un pletismógrafo completamente lleno de agua, cerrado herméticamente y conectado a un manómetro de H₂O, que permitió el registro de las variaciones de presión en su interior. A continuación se inyectó un volumen conocido de agua dentro de la cámara para aumentar la presión interna, anotándose el cambio de presión producido. Previamente se había calibrado el pletismógrafo con volúmenes de aire conocidos y aproximados a los volúmenes pulmonares esperados. Asumiendo que el aire comprimido en todo el sistema cerrado correspondía al aire contenido en los pulmones de las tortugas, se aplicó la ley de Boyle para calcular el volumen pulmonar:

$$P_1 \cdot V_1 = P_2 \cdot V_2$$

$$P_B + P_H - P_{V_p} \cdot V_L = (P_B + P_H - P_{V_p} + \Delta P) \cdot (V_L - V_{inj})$$

P_B = presión barométrica

P_H = presión hidrostática

P_{V_p} = presión de vapor

ΔP = incremento de presión debido a la inyección de un volumen conocido de agua

V_L = volumen pulmonar

V_{inj} = volumen de agua inyectada para incrementar la presión

El volumen pulmonar, se ha medido cuando las tortugas se encontraban flotando de forma voluntaria cerca de la superficie, por lo que se considera que están en estado de flotación neutra. El volumen así calculado es el inspiratorio.

A partir de este volumen pulmonar y del volumen corriente (V_T) se ha calculado el volumen de reserva espiratorio (V_{L_r}):

$$V_{L_r} = V_L - V_T$$

El volumen corporal (V_c), se ha calculado a partir del desplazamiento del agua por inmersión de la tortuga.

2.3.3.4. Trabajo ventilatorio

Se calculó la relación f/V_T estandarizado a peso corporal, $(f/V_T)/P_c$, como un índice de la relación entre el patrón ventilatorio y la estructura pulmonar general de los reptiles, según la fórmula dada por Perry y Duncker (1980). Así mismo se calculó el trabajo ventilatorio a partir de la fórmula dada por Crosfill y Widdicombe (1961)

$$w = \frac{f}{2 C} \times (V_T)^2 \quad (\text{ml} \cdot \text{cm}/\text{min})$$

Implícitas en esta relación general están todas las formas de resistencia no elásticas, incluyendo la deformación plástica, siendo despreciable la resistencia de las vías respiratorias y del espacio muerto.

2.4. TECNICAS ANALITICAS DE GASES Y CALCULO DE PARAMETROS RESPIRATORIOS

2.4.1. ANALISIS DE GASES PULMONARES Y ESPIRADOS

2.4.1.1. Descripción del aparato de Scholander

Para analizar los gases pulmonares y espirados, se utilizó un analizador de gases Scholander 0.5 ml (Scholander, 1947). Este permite la determinación de las concentraciones fraccionales de O₂, CO₂ y N₂ de muestras de 0.5 ml o menores, con una aproximación de $\pm 0.015 \%$.

El aparato, conectado a un tornillo micrométrico, consta de un termobarómetro o cámara de compensación, que se comunica a través de un tubo capilar con una cámara de reacción central la cual está conectada con dos brazos laterales que se hallan en posiciones opuestas. Todo el sistema está lleno de mercurio que lo aísla del aire atmosférico.

La parte inferior de la cámara de reacción tiene un revestimiento de Piccolite (recubrimiento hidrófobo), para conseguir una mayor adherencia del menisco inferior de la solución limpiadora ("Acid-Rinsing-Solution" = ARS) y evitar así que pueda ser aspirada la muestra de gas al espacio que ocupa el recorrido del tornillo micrométrico. La cámara de reacción se mantiene con ARS, mientras que los brazos laterales contienen los correspondientes absorbentes de O₂ en el de la derecha y de CO₂ en el de la izquierda. Todo el sistema está conectado a un agitador automático accionado por un motorcito eléctrico, con el fin de facilitar la creación de una interfase que favorezca la mezcla de las sustancias absorbentes con sus correspondientes gases.

2.4.1.2. Transferencia y lectura de las muestras

La muestra de gas se absorbe mediante una jeringuilla de insulina de 1 ml, llena de mercurio que actúa de aislante del sistema, a través de la cánula pulmonar, en los análisis de gases pulmonares, o bien a través de la bolsa de Douglas, en los análisis de gases espirados. La muestra de gas en la jeringa queda siempre entre dos capas de mercurio. La transferencia de esta muestra al Scholander se hace mediante una pipeta capilar, que se acopla perfectamente a la cámara de reacción del termobarómetro que se encuentra llena de ARS. Aquí, igual que en la jeringa, el gas se mantiene entre dos capas de mercurio.

El proceso seguido es el siguiente:

A) Equilibrado y transferencia

1.- Se conecta la jeringa con el tubo capilar inyectando sucesivamente un poco de mercurio, muestra de gas y otra vez mercurio.

2.- Sosteniendo la pipeta de transferencia en posición vertical, se coloca la punta de ésta en el extremo plano del capilar de la cámara de reacción.

3.- Se abre la espita cuidadosamente de manera que la gota de mercurio sea desplazada hacia arriba de la pipeta dentro del bulbo y se permite que burbujee algo de gas.

4.- Cuando se retira la pipeta, la gota de mercurio empieza a caer lentamente por el tubo. Antes de que tenga tiempo de descender mucho, se coloca la punta de la pipeta a través de la ARS en la parte superior del capilar en la cámara de compensación. Tiene que haber una exacta coincidencia entre el orificio del extremo inferior de la pipeta y la abertura superior del tubo capilar del aparato y abrir el extremo superior de la pipeta de transferencia, de manera que durante toda ella, el gas esté bajo la presión de la gotita de mercurio y no sea aspirado por el micrómetro, lo cual afectaría la precisión de los posteriores análisis.

5.- Se hace descender el menisco del gas hasta que biseccione con la marca del capilar.

6.- Se gira la llave de paso para conectar el micrómetro y el bulbo nivelador

ajustándolo a cero.

7.- Se vuelve a girar la llave de cierre para conectar el micrómetro con la cámara de reacción.

8.- Se comprueba que la posición del menisco con la marca sea la correcta y se inicia un suave movimiento de aspiración con el micrómetro para tomar la muestra de gas. Si la transferencia es correcta, la gota de mercurio en la pipeta se mueve correspondiendo exactamente al giro del micrómetro y tan sólo serán embebidos 1-2 mm de ARS dentro del capilar cuando se retire la pipeta.

9.- Se ajusta la ARS en el capilar a aproximadamente 2 mm del extremo superior y se extrae el resto de la cámara de compensación. Se debe evitar la aspiración de aire a través de la cámara termobarométrica, ya que ésto causaría su enfriamiento.

10.- Se ajusta la gota de ácido indicador hacia abajo hasta que el menisco inferior de la gota coincida aproximadamente con la marca del capilar.

11.- Con un mínimo de manipulación, se inserta la llave de paso en la cámara de compensación y se cierra la espita.

12.- Para recoger el ácido adherido al capilar, se desplaza la gota indicadora hacia abajo hasta que entra en contacto con el recubrimiento de Piccolite y causa el aplanamiento del menisco.

13.- Se reajusta el menisco inferior de la gota cuidadosamente hasta que tenga una posición tangencial a la marca. Se repite este proceso hasta que la lectura del micrómetro sea constante.

14.- Se anota esta lectura (M_1).

No debe de producirse ningún desfase entre el movimiento de la gota y el del micrómetro, si lo hay, estaría causado por una conexión en la capa superficial entre la cámara de reacción y la gota. Esto sucede cuando el recubrimiento de Piccolite ha sido atacado por ácidos o álcalis o bien se ha deteriorado por causas mecánicas. Con todo, conviene reemplazarlo después de unos 150-200 análisis.

B) Absorción de CO_2 y O_2

1.- Se inclina el aparato hacia el lado del absorbente de CO_2 admitiendo una pequeña cantidad de aquél en la cámara de reacción. Al mismo tiempo se ajusta el

micrómetro para compensar el movimiento de la gota indicadora en el capilar, ocasionado por la absorción de CO_2 . Entonces se procede a la conexión del agitador.

2.- Cuando la gota indicadora se mantiene estacionaria, se dirige hacia el recubrimiento de Piccolite, reajustando el menisco inferior con la marca, como se ha descrito anteriormente.

3.- Se anota la lectura (M_2).

4.- Se ladea la cámara hacia el brazo de absorbente de O_2 , admitiéndolo de forma que el mercurio queda cubierto con aproximadamente 1 mm de absorbente. Se conecta de nuevo el agitador.

5.- Cuando la lectura es constante, se mueve la gota hacia el recubrimiento hidrófobo (Piccolite) y se reajusta el menisco inferior con la marca del capilar de la cámara de reacción.

6.- Se anota la lectura (M_3).

C) Limpieza de la cámara

1.- Se procede a succionar el resto de absorbente que haya quedado.

2.- Se llena el termobarómetro hasta el cuello con la ARS.

3.- Dejando descender la ARS por debajo de las entradas de los brazos laterales, se limpian éstos, mediante movimientos laterales sucesivos, hasta el aclaramiento completo. Se elimina todo el volumen de ARS.

4.- Se hace subir el mercurio mediante el tornillo micrométrico hasta llenar la cámara de reacción, ajustándolo hasta el borde superior del capilar.

5.- Se llena con ARS la cámara del termobarómetro hasta la mitad, haciendo descender de nuevo el nivel de mercurio, quedando así preparada para el siguiente análisis.

2.4.1.3. Reactivos

Solución limpiadora ácida (Acid-Rinsing-Solution = ARS)

- 400 ml Agua destilada
- 1 ml Acido sulfúrico
- 72 gr Sulfato sódico anhidro
- 21 ml Glicerol
- 40 mg Dicromato potásico pulverizado

Absorbente de CO₂

- 100 ml Agua destilada
- 11 gr Hidróxido potásico
- 40 mg Dicromato potásico

Absorbente de O₂

Solución A

- 100 ml Agua destilada
- 6 gr Hidróxido sódico

Polvo A

- 20 gr Hidrosulfito sódico
- 0.1 gr Sodio anthraquino-beta-sulfonato

Mezclar en un mortero

Solución B

- 5 ml Solución A
- 0.6 gr Polvo A

Mezclar a 40°C de temperatura y de forma anaeróbica

Revestimiento hidrófobo: Piccolite

Solución A

- 3 gr Piccolite x pulverizado
- 2 ml Tolueno

Solución B

1 gr Piccolite x pulverizado

4 ml Tolueno

2.4.2. CALCULO DE PARAMETROS RESPIRATORIOS

2.4.2.1. Concentraciones fraccionales de las muestras de gases pulmonares en seco, analizadas mediante el método de Scholander.

a) *Volumen de dióxido de carbono (en ml) por cada 100 ml de muestra original seca:*

$$F_{CO_2} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100 \quad (\% CO_2)$$

b) *Volumen de oxígeno (en ml) por cada 100 ml de muestra original seca:*

$$F_{O_2} = \frac{M_2 - M_3}{M_1} \times 100 \quad (\% O_2)$$

c) *Volumen de nitrógeno (en ml) por cada 100 ml de muestra original seca:*

$$F_{N_2} = \frac{M_3}{M_1} \times 100 \quad (\% N_2)$$

siendo M_1 , M_2 y M_3 las correspondientes lecturas de los valores del micrómetro.

2.4.2.2. Conversión de las concentraciones fraccionales de gas pulmonar a presiones parciales.

a) *Presión parcial de CO₂*

$$P_{A_{CO_2}} = F_{CO_2} \times \frac{(P_B - P_{H_2O})}{100}$$

b) *Presión parcial de O₂*

$$P_{O_2} = F_{O_2} \times \frac{(P_B - P_{H_2O})}{100}$$

c) *Presión parcial de N₂*

$$P_{N_2} = F_{N_2} \times \frac{(P_B - P_{H_2O})}{100}$$

d) *Presión parcial de O₂ inspirado:*

$$P_{I_{O_2}} = \frac{P_B - P_{H_2O}}{100} \times F_{I_{O_2}}$$

siendo:

P_B = presión barométrica

P_{H₂O} = presión de vapor de agua

e) *Presiones parciales de vapor de agua a distintas temperaturas:*

| | | |
|---------------|------|------------|
| P_{H_2O} a: | 5°C | 6.54 mm Hg |
| | 15°C | 12.79 " |
| | 25°C | 23.76 " |
| | 35°C | 42.19 " |
| | 40°C | 55.30 " |

f) *Presiones parciales de oxígeno en el aire inspirado a distintas temperaturas y 760 mm Hg de presión barométrica:*

| | | |
|------------------|------|--------|
| $P_{I_{O_2}}$ a: | 5°C | 157.86 |
| | 15°C | 156.54 |
| | 25°C | 154.24 |
| | 35°C | 150.38 |
| | 40°C | 147.94 |

A partir de las presiones parciales de gases pulmonares se calcula la regresión logarítmica a diferentes temperaturas para el diagrama $CO_2 - O_2$:

$$P_{L_{CO_2}} = a + b \lg (P_{I_{O_2}} - P_{L_{O_2}})$$

2.4.2.3. **Parámetros de gases espirados: (V_E), (\dot{V}_E), (\dot{V}_{CO_2}), (\dot{V}_{O_2}) y (R)**

a) *Cálculo del volumen espirado (V_E) por el método de dilución del N_2 :*

Para conocer el volumen total de gas espirado, se añadió a la bolsa de Douglas una cantidad conocida de N_2 , procediéndose al análisis de una muestra de gas de esta nueva mezcla con el Scholander. Determinada la concentración fraccional de gas de N_2 se procedió al cálculo de V_E :

$$(1) V_E = \frac{V_{N_2 \text{ añadido}} - V_{N_2 \text{ añadido}} \times F_{N_2 \text{ final}}}{F_{N_2 \text{ final}} - F_{N_2 \text{ inicial}}}$$

sabiendo que $V_t = V_i + V_a$

siendo: V_t = Volumen final bolsa de Douglas

V_i = Volumen inicial

V_a = Volumen añadido de N_2

Podemos hacer: $V_i = V_t - V_a$

Refiriéndolo al N_2 : $V_{N_{2i}} = V_{N_{2f}} - V_{N_{2a}}$

Sustituyéndolo por su valor en función del volumen de gas total por la concentración fraccional ($V_{N_2} = V \cdot F_{N_2}$) nos quedará:

$$V_i \cdot F_{N_{2i}} = V_t \cdot F_{N_{2f}} - V_{N_{2a}}$$

Sustituyendo $V_{N_{2f}}$ por su valor:

$$V_i \cdot F_{N_{2i}} = (V_i + V_{N_{2a}}) F_{N_{2f}} - V_{N_{2a}}$$

$$V_i \cdot F_{N_{2i}} = V_i \cdot F_{N_{2f}} + V_{N_{2a}} \cdot F_{N_{2f}} - V_{N_{2a}}$$

$$V_i \cdot (F_{N_{2i}} - F_{N_{2f}}) = V_{N_{2a}} \cdot F_{N_{2f}} - V_{N_{2a}}$$

De donde considerando $V_i = V_E$ nos queda la fórmula inicial:

$$(1) V_E = \frac{V_{N_2 \text{ añadido}} - V_{N_2 \text{ añadido}} \times F_{N_2 \text{ final}}}{F_{N_2 \text{ final}} - F_{N_2 \text{ inicial}}} = \text{ml/kg}$$

b) *Cálculo del volumen minuto espirado:*

Si expresamos V_E en función del tiempo y peso del animal, nos quedará:

$$(2) \dot{V}_E = \frac{V_E}{\text{peso} \times \text{tiempo}} = \text{ml/Kg/h}$$

c) *Cálculo de la tasa de intercambio de CO₂:*

$$(3) \quad \dot{V}_{CO_2} = F_{ECO_2} \cdot \dot{V}_E - F_{ICO_2} \cdot \dot{V}_I$$

Considerando que F_{ICO_2} es prácticamente igual a cero, nos quedara:

$$(4) \quad \dot{V}_{CO_2} = F_{ECO_2} \cdot \dot{V}_E \quad \text{en ml/Kg/h}$$

d) *De forma similar se calcula la tasa de intercambio del O₂:*

$$(5) \quad \dot{V}_{O_2} = F_{IO_2} \cdot \dot{V}_I - F_{EO_2} \cdot \dot{V}_E \quad \text{en ml/Kg/h}$$

e) *Cálculo del volumen de aire inspirado a partir del espirado:*

Sabiendo que la tasa de intercambio de N₂ es:

$$(6) \quad \dot{V}_{N_2} = F_{IN_2} \cdot \dot{V}_I - F_{EN_2}$$

Pero como no se produce consumo de N₂, o lo que es igual, la tasa de intercambio de N₂ es cero, quedará:

$$(7) \quad F_{IN_2} \cdot \dot{V}_I = F_{EN_2} \cdot \dot{V}_E \quad \text{de donde:}$$

$$(8) \quad \dot{V}_I = \frac{F_{EN_2}}{F_{IN_2}} \times \dot{V}_E \quad \text{en ml/Kg/h}$$

Esta ecuación fue dada por primera vez por Geppert y Zuntz en 1888.

\dot{V}_I y \dot{V}_E son iguales sólo cuando $\dot{V}_{CO_2} = \dot{V}_{O_2}$ en el caso de ser $R = 1$. Si $\dot{V}_{CO_2} < \dot{V}_{O_2}$ $\Rightarrow R < 1$, de manera que \dot{V}_E es menor que \dot{V}_I y F_{EN_2} es mayor que F_{IN_2} . En el caso de que \dot{V}_{CO_2} sea mayor que \dot{V}_{O_2} $\Rightarrow R$ será mayor que 1, \dot{V}_E excede a \dot{V}_I y F_{EN_2} será menor que F_{IN_2} .

En la ecuación (8) el término F_{EN_2}/F_{IN_2} puede ser considerado como un factor de corrección para la reducción o expansión de \dot{V}_I que ocurre cuando el intercambio de CO₂ y O₂ es desigual.

Combinando la ecuación (4) con la (8) y la (5) con la (8) nos quedará:

$$(9) \quad \dot{V}_{CO_2} = (F_{ECO_2} - \frac{F_{EN_2}}{F_{IN_2}} \times F_{ICO_2}) \dot{V}_E$$

y

$$(10) \quad \dot{V}_{O_2} = (F_{I_{O_2}} \times \frac{F_{E_{N_2}}}{F_{I_{N_2}}} - F_{E_{O_2}}) \dot{V}_E$$

Estas dos ecuaciones nos dan la producción de CO_2 y el consumo de O_2 respectivamente, a partir del volumen espirado por minuto (\dot{V}_E) y composición de gas inspirado y espirado. Sin embargo hay el problema de que durante el intercambio de gases, un aumento dado de gas, puede ocupar diferentes volúmenes bajo diferentes condiciones de temperatura y presión y debe cuantificarse para conocer esta diferencia de volumen.

Teniendo en cuenta que el aire espirado contiene menos O_2 y más CO_2 que el atmosférico y que el espirado puede tener distinta temperatura y humedad que el aire inspirado, si queremos calcular el consumo de O_2 y producción de CO_2 reales, es necesario compensar las composiciones de gas inspirado y espirado expresándolos en las mismas condiciones físicas.

La ventilación se expresa usualmente en condiciones BTPS (temperatura corporal y presión saturada de vapor de agua), mientras que \dot{V}_{CO_2} y \dot{V}_{O_2} se expresan en condiciones STPD (temperatura y presión estándar en aire seco).

Condiciones BTPS:

Como se ha indicado anteriormente, se admite que la temperatura de un gas en los pulmones es igual a la del cuerpo y que la presión de vapor del agua está saturada. Habitualmente, se toman los valores de $37^\circ C$ y de 47 Torr, correspondiendo este último valor a la presión saturada de vapor de agua (P_{H_2O}) a $37^\circ C$ en condiciones de saturación. Esto se daría en homeotermos, pero no en poiquilotermos, ya que la temperatura corporal es prácticamente la misma que la ambiental y por tanto la P_{H_2O} tampoco valdría necesariamente 47 Torr. Por tanto se deberá tener en cuenta la temperatura real del cuerpo, precisamente del gas alveolar. Las condiciones en que se encuentran los gases dentro de los pulmones son BTPS.

Condiciones ATPS:

En las condiciones climáticas habituales, el aire ambiente tiene una temperatura distinta y es menos húmedo que el gas pulmonar, por dos razones: a temperaturas inferiores a 37°C, la presión de saturación de vapor de agua es menor. Por otra parte, el aire ambiente no está saturado de humedad (en climas templados, la humedad relativa es en general del orden del 50 %, entendiéndose por esto que la presión de vapor del agua es la mitad de la presión de saturación vapor). Las condiciones del gas dentro de un espirómetro son ATPS (temperatura ambiente, y presión de vapor de agua en condiciones de saturación).

Conversión de volúmenes ATPS a volúmenes BTPS

En la práctica espirométrica el volumen de aire ventilado se mide dentro de las condiciones ATPS que son distintas de las BTPS. Conociendo el volumen ATPS, se puede pasar a volúmenes BTPS por aplicación de la fórmula:

$$V_{BTPS} = V_{ATPS} \frac{273 + T_c}{273 + T_A} \times \frac{P_B - P_{H_2O(T_A)}}{P_B - P_{H_2O(T_C)}}$$

en la cual, el primer término numérico da la dilatación térmica del gas y el 2º término tiene en cuenta el aumento de volumen debido a la incorporación de moléculas de agua.

273 = temperatura absoluta en °K

T_c = temperatura corporal en °C

T_a = temperatura ambiente

P_B = presión barométrica en Torr

P_{H₂O(T_a)} = presión de saturación de vapor de agua a la temperatura ambiente (T_a)

P_{H₂O(T_c)} = presión de saturación de vapor de agua a la temperatura corporal.

En el caso de los poiquiloterms, las condiciones ATPS son aproximadamente las mismas que las BTPS.

Condiciones STPD:

Los volúmenes de O₂ y de CO₂ deben expresarse en condiciones normales o estándar de los datos físicos STPD (estándar, temperatura de 0°C, presión de 760 Torr, en seco). En efecto, cuando se habla en fisiología de volumen de O₂ o de CO₂, se habla en realidad de número de moléculas de O₂ y CO₂ utilizadas y producidas respectivamente y no de los volúmenes que este gas ocupa realmente. Por esto es necesario expresar \dot{V}_{O_2} y \dot{V}_{CO_2} en unas condiciones determinadas que permitan saber inmediatamente a que número de moléculas le corresponden. Las condiciones STPD permiten que 1 molécula-gramo de cualquier gas perfecto ocupe un volumen de 22.4 litro STPD.

Reducción de los volúmenes BTPS a volúmenes STPD:

Conocidos los volúmenes ATPS (en nuestro caso son iguales a los BTPS) de ventilación y la composición de gas inspirado y espirado, se puede calcular el volumen ATPS (o BTPS) de O₂ y de CO₂ y a partir de aquí se puede pasar este volumen a condiciones STPD a partir de la fórmula:

$$V_{STPD} = V_{ATPS} \times \frac{273}{273 + T_s} \times \frac{P_B - P_{H_2O}}{760}$$

f) Tasa de intercambio respiratorio (R)

Ha sido definida como la relación que existe entre la producción de CO₂ (\dot{V}_{CO_2}) y el consumo de O₂ (\dot{V}_{O_2}):

$$(11) \quad R = \frac{\dot{V}_{CO_2}}{\dot{V}_{O_2}}$$

sustituyendo \dot{V}_{CO_2} y \dot{V}_{O_2} por las ecuaciones (9) y (10)

$$(12) \quad R = \frac{F_{E_{CO_2}} - F_{I_{O_2}} \times (F_{E_{N_2}}/F_{I_{N_2}})}{F_{I_{O_2}} \times (F_{E_{N_2}}/F_{I_{N_2}}) - F_{E_{O_2}}}$$

Así puede calcularse R conociendo la composición de gas espirado incluso cuando no se conoce la ventilación.

Sabiendo que: $F_{I_{N_2}} + F_{I_{O_2}} + F_{I_{CO_2}} = 1$

y que $F_{E_{N_2}} + F_{E_{O_2}} + F_{E_{CO_2}} = 1$

podemos hacer: $F_{I_{N_2}} = 1 - F_{I_{O_2}} - F_{I_{CO_2}}$

y también: $F_{E_{N_2}} = 1 - F_{E_{O_2}} - F_{E_{CO_2}}$

sustituyendo en la ecuación (12)

$$(13) \quad R = \frac{(1 - F_{I_{O_2}}) \times F_{E_{CO_2}} - (1 - F_{E_{O_2}}) \times F_{I_{CO_2}}}{(1 - F_{E_{CO_2}}) \times F_{I_{O_2}} - (1 - F_{I_{CO_2}}) \times F_{E_{O_2}}}$$

teniendo en cuenta que el CO_2 en el aire inspirado es prácticamente cero, nos quedará:

$$(14) \quad R = \frac{(1 - F_{I_{O_2}}) \times F_{E_{CO_2}}}{(1 - F_{E_{CO_2}}) \times F_{I_{O_2}} - F_{E_{O_2}}}$$

2.4.2.4. Intercambio de gas alveolar y ventilación alveolar.

2.4.2.4.1. Gas alveolar (V_A)

El volumen total espirado por ciclo ventilatorio es la suma del volumen del espacio muerto y del volumen corriente efectivo:

$$(15) \quad V_E = V_D + V_A$$

La composición de un ciclo espirado completo representa una mezcla de gas alveolar y gas del espacio muerto y se determina por la composición y proporción relativa de estos dos componentes:

$$(16) \quad F_{E_{CO_2}} = \frac{F_{I_{CO_2}} \times V_D + F_{A_{CO_2}} \times V_A}{V_E}$$

ya que: $V_A = V_E - V_D$

$$(17) \quad F_{E_{CO_2}} = \frac{F_{I_{CO_2}} \times V_D + F_{A_{CO_2}} (V_E - V_D)}{V_E}$$

para una V_D dada:

$$(18) \quad V_D = \frac{F_{A_{CO_2}} - F_{E_{CO_2}}}{F_{A_{CO_2}} + F_{I_{CO_2}}} \times V_E$$

Una ecuación parecida puede ser dada para el O_2 :

$$(19) \quad V_D = \frac{F_{E_{O_2}} - F_{A_{O_2}}}{F_{I_{O_2}} - F_{A_{O_2}}} \times V_E$$

Así, conociendo la composición de gas alveolar y espirado y el volumen espirado total, se puede calcular el volumen del espacio muerto fisiológico y volumen corriente efectivo. Una ecuación del espacio muerto de este tipo, fue dada ya en 1891 por Bohr.

2.4.2.4.2. Ventilación alveolar (\dot{V}_A)

El volumen corriente efectivo (V_T) multiplicado por la frecuencia ventilatoria f , nos

da la ventilación alveolar o ventilación efectiva:

$$(20) \quad \dot{V}_A = V_T \times f$$

La ventilación alveolar es la porción de la ventilación total que participa activamente en el intercambio de gases. El resto es la ventilación del espacio muerto fisiológico:

$$(21) \quad \dot{V}_D = \dot{V}_E - \dot{V}_A$$

conociendo el volumen del espacio muerto fisiológico y el volumen del espacio muerto anatómico, se puede hallar el volumen del espacio muerto alveolar:

$$(22) \quad V_{D \text{ alveolar}} = V_{D \text{ fisiológico}} - V_{D \text{ anatómico}}$$

ya que el V_D fisiológico es el volumen de aire que ocupa las vías respiratorias más el de los alveolos, mientras que el V_D anatómico corresponde sólo al de las vías respiratorias.

2.4.2.4.3. Cálculo de la ventilación alveolar relativa (\dot{V}_A/\dot{V}_{CO_2}) y del equivalente ventilatorio (\dot{V}_E/\dot{V}_{O_2})

La P_{CO_2} alveolar está relacionada con la ventilación relativa por la ecuación:

$$(23) \quad \dot{V}_A = \frac{\dot{V}_{CO_2}}{P_{ACO_2} \times \beta_{CO_2}}$$

o lo que es lo mismo:

$$(24) \quad \dot{V}_A/\dot{V}_{CO_2} = \frac{1}{P_{ACO_2} \cdot \beta_{CO_2}}$$

siendo $\beta_{CO_2} = \frac{1}{RT}$ el coeficiente de capacitancia

del CO_2 en fase de gas (Piiper et al., 1971), siendo $\beta = 22.263$ l STPD

El valor de β_{CO_2} difiere muy poco del valor ideal de un gas, ya que es de 22.263 l STPD mientras que el valor de 1 mol de un gas ideal es de 22.4 l

Sustituyendo en (24)

$$(25) \quad \dot{V}_A / \dot{V}_{\text{CO}_2} = \frac{1}{\frac{P_{\text{ACO}_2} \times 1/\text{RT}}{\text{RT}}}$$

$$(25) \quad \dot{V}_A / \dot{V}_{\text{CO}_2} = \frac{\text{RT}}{P_{\text{ACO}_2}}$$

siendo: $T = ^\circ\text{K}$

$$\text{RT} = \frac{1 \text{ Torr}}{1 \text{ STPD}}$$

$$\begin{aligned} R &= \text{constante de los gases} = 0.0624 \text{ l} \cdot \text{Torr} (\text{K} \cdot \text{mmol})^{-1} = \\ &= 2.785 \frac{\text{Torr ml BTPS}}{\text{K ml STPD}} \end{aligned}$$

y 1 mol = 22.4 l

Se puede relacionar también la P_{ACO_2} con $\dot{V}_E / \dot{V}_{\text{O}_2}$ mediante:

$$(26) \quad \frac{\dot{V}_E}{\dot{V}_{\text{O}_2}} - \frac{\dot{V}_D}{\dot{V}_{\text{O}_2}} = R_E \times \frac{\text{RT}}{P_{\text{ACO}_2}}$$

Como $R_E = \frac{\dot{V}_{\text{CO}_2}}{\dot{V}_{\text{O}_2}}$ de donde se puede hacer

$$\dot{V}_{\text{CO}_2} = R_E \cdot \dot{V}_{\text{O}_2} \quad \text{y} \quad \dot{V}_{\text{O}_2} = \frac{\dot{V}_{\text{CO}_2}}{R_E}$$

sustituyendo en (26) nos quedará:

$$\frac{\dot{V}_E}{\dot{V}_{CO_2}/R_E} - \frac{\dot{V}_D}{\dot{V}_{CO_2}/R_E} = R_E \times \frac{\dot{V}_A}{\dot{V}_{CO_2}}$$

$$(27) \quad \dot{V}_E - \dot{V}_D = \dot{V}_A$$

de donde: $\dot{V}_D = \dot{V}_E - \dot{V}_A$

$$(28) \quad \dot{V}_D = \frac{\dot{V}_E - \dot{V}_A}{f} \quad \text{y} \quad \dot{V}_D = \frac{\dot{V}_D}{f}$$

Así mismo calcularemos el volumen corriente a partir de:

$$\dot{V}_E = V_T \cdot f$$

$$V_T = V_A + V_D$$

2.4.2.5. Cálculo del cociente respiratorio instantáneo (R_i)

Su cálculo se ha deducido de la fórmula dada por Otis et al. (1948) para períodos apneicos.

La tasa de intercambio respiratorio durante la respiración voluntaria referido al aire inspirado se calcula respecto a la ecuación:

$$R = \frac{F_{LCO_2} - n F_{ICO_2}}{n F_{IO_2} - F_{LO_2}}$$

$$\text{donde } n = \frac{F_{LN_2}}{F_{IN_2}}$$

Durante la respiración contenida (apneas voluntarias), la media de tasa de

intercambio de gases para un intervalo entre dos sucesivas muestras de gas pulmonar (i) y (j), se calcula aplicando la ecuación descrita por Otis et al. (1948):

$$R = \frac{F_{LCO_2}(j) - n F_{LCO_2}(i)}{n F_{LO_2}(i) - F_{LO_2}(j)}$$

$$\text{donde } n = \frac{F_{LN_2}(j)}{F_{LN_2}(i)}$$

Las líneas de regresión continuas representando la composición de gas de los pulmones en el diagrama O₂-CO₂, ofrece la oportunidad de calcular la R pulmonar instantánea durante la respiración contenida para cualquier punto específico de la línea de regresión. Para un punto dado (i) de la recta de regresión, la siguiente relación puede derivarse a partir de la ecuación:

$$R_{(i)} = \frac{a_{(i)} + b_{(i)} \times (P_B - P_{H_2O})}{a_{(i)} - (P_B - P_{H_2O})}$$

donde:

$R_{(i)}$ = tasa de intercambio respiratorio instantáneo

$b_{(i)}$ = pendiente de la recta de regresión en el punto (i)

$a_{(i)}$ = intersección de la tangente a la recta de regresión en el punto (i) con el eje P_{CO_2}

siendo: $b_{(i)} = (dP_{LCO_2}/dP_{LO_2})P_{LO_2(i)}$

$a_{(i)} = P_{LCO_2(i)} - b_{(i)} \cdot P_{LO_2(i)}$

Sabiendo que en el diagrama O₂-CO₂ :

$$P_{LCO_2} = A + B \cdot \log (P_{ILO_2} - P_{LO_2})$$

o lo que es lo mismo:

$$y = A + B \cdot \log (c - x)$$

siendo: A = ordenada en el origen

B = pendiente para cada gráfica del diagrama O₂-CO₂

$$y = P_{LCO_2}$$

$$c = P_{ILO_2}$$

$$x = P_{LO_2}$$

podemos sustituir en b₍₀₎:

$$b_{(0)} = \frac{dP_{LCO_2}}{dP_{LO_2}} = \frac{dy}{dx}$$

derivando la ecuación:

$$y = A + B \cdot \log (c - x)$$

nos quedará:

$$dy = y' = \frac{B}{c - x} \cdot \log e \cdot (-1)$$

con $dx = x' = 1$

por lo que resultará finalmente:

$$b_{(0)} = \frac{dy}{dx} = \frac{-B \cdot \log e}{P_{ILO_2} - P_{LO_2}}$$

2.5. PROTOCOLOS EXPERIMENTALES

2.5.1 EXPERIENCIAS EN REGIMEN ESTABLE A TEMPERATURAS CONSTANTES

2.5.1.1. Ventilación espontánea

Los animales seleccionados se trasladaron del estabulario al laboratorio y se mantuvieron unos días allí para adaptarlos a las nuevas condiciones ambientales. Se anotaron los pesos corporales. A continuación se anestesiaron mediante crioanestesia y se procedió a la implantación de las cánulas pulmonares y de drenaje intratorácicas.

Previa a la extracción de muestras se dejaron transcurrir 48 horas como mínimo desde la operación. Pasadas éstas, se procedió al equilibrio térmico para cada temperatura en una cámara termostatada. Se controló la temperatura mediante una sonda anal térmica conectada a un teletermómetro Yellow-Spring. Se conectó la cánula intratorácica a un polígrafo (modelo Washington 400 MD2) para registrar la frecuencia respiratoria. Se tomó nota también de la presión atmosférica.

Una vez conseguida y estabilizada la temperatura deseada, se procedió a la extracción de muestras a través de la cánula pulmonar con una jeringa de insulina (1 ml) llena de Hg, con la aguja implantada y mediante una llave de tres vías. Las muestras se tomaron a distintos períodos de apnea, que iban desde inmediatamente después de una ventilación, hasta apneas de 30 a 40 minutos, dependiendo sobre todo de la temperatura a la cual se estaba trabajando. La extracción se hacía después de desprejar el remanente de gas que hubiera quedado en la cánula. A continuación se procedió a analizar las muestras de gases en el Scholander de la forma descrita en un apartado anterior.

Mientras se preparaba el analizador, las jeringas con las muestras se introducían en agua acidulada con ácido sulfúrico para evitar en lo posible la pérdida de gases por difusión.

2.5.1.2. Gases espirados

Igual que en el apartado anterior, se trasladaron los animales al laboratorio desde el estabulario, después de pesarlos y se procedió al equilibrio térmico a la temperatura correspondiente dentro de una cámara termostataada, controlándose la temperatura corporal mediante una sonda rectal.

Pasado el tiempo correspondiente, se procedió a semiinmovilizar al animal, dejándole libres las extremidades y cabeza, para evitar en lo posible la reducción del espacio ventilatorio.

A continuación se colocó la máscara descrita anteriormente, dejándola durante un tiempo abierta a la atmósfera por las dos vías de entrada y salida de aire, hasta que se comprobó que el animal no estaba estresado. Esto se observó a través de la lectura de la frecuencia respiratoria. Una vez estabilizada ésta, se procedió a conectar la válvula de salida de gases de la máscara a una bolsa de Douglas de 2 l para recoger el gas espirado, durante un período mínimo de una hora.

Pasado este tiempo, se tomaron muestras de la bolsa mediante una jeringa de insulina con mercurio y se analizó con el Scholander.

Posteriormente para conocer el volumen total espirado, se inyectó un volumen conocido de N_2 a la bolsa y se procedió al análisis de gases de la nueva mezcla.

2.5.1.3. Diagrama volumen-presión

Se utilizaron 12 tortugas, cuyo peso corporal era conocido, y que se habían mantenido a temperatura de laboratorio. Se decapitó cada animal y se procedió a canular la tráquea con una cánula tipo PE220. Previamente se aspiraron los líquidos y sangre que habían quedado en las vías respiratorias. Los animales fueron cateterizados en posición prono dejándose la cánula traqueal abierta a la atmósfera. El aire del sistema respiratorio se removió con una jeringa.

Después de dejar equilibrar todo el sistema con la atmósfera, la tráquea se conectó a través de la cánula con un manómetro de agua formado por un tubo en U conectado a una escala graduada, para determinar la relación presión-volumen

(adaptabilidad o compliancia) y el volumen máximo pulmonar (V_{max}). El sistema era sensible a un cambio de volumen mínimo de 0.005 ml.

Para conseguir un nivel uniforme de inflación se eliminó todo el volumen de aire de los pulmones con una jeringa, hasta alcanzar el valor del volumen de reserva espiratorio (V_{Lr}), lo cual se detecta por la resistencia que ofrece la jeringa a la extracción ocasionado por el cierre de las vías respiratorias.

A continuación, los pulmones se hincharon y deshincharon de forma escalonada en un ciclo continuo, de la siguiente manera:

1.- La llave de tres vías estaba abierta entre la jeringa y la cánula de la tráquea, mientras el manómetro estaba abierto y equilibrado con el aire atmosférico.

2.- Se insufló un volumen de 1 ml de aire a los pulmones con la jeringa.

3.- Se abrió el paso entre cánula y manómetro y se cerró el paso a la jeringa, registrándose un aumento de presión en el manómetro.

4.- Se repitió la operación varias veces, registrándose los sucesivos incrementos de presión del manómetro, hasta un volumen máximo de inyección que era ligeramente superior al volumen pulmonar correspondiente y que habíamos determinado previamente. En cada inflación se dejaron 20 segundos para que pudiera equilibrarse el sistema.

5.- Después de la inflación, los pulmones fueron vaciados por el mismo sistema para determinar la curva de deflación.

Con este procedimiento se consiguió tener sólo una parte de la curva, pero así se consiguió evitar la rotura del parénquima pulmonar por un exceso de presión, con lo que se hubiera perdido la posibilidad de registrar la curva de deflación.

Para medir el volumen máximo (coincidente con el punto crítico de rotura), se inyectaron sucesivos volúmenes conocidos de aire con la jeringa, registrándose las presiones correspondientes hasta la rotura del parénquima, que venía determinada por un descenso progresivo de la presión en el manómetro. El rango de presiones registradas en el diagrama V-P estaban entre -10 y +75 cm de H_2O , dependiendo del tamaño corporal del animal.

Se consideró como presión máxima (P_{max}) y en relación a ésta como volumen máximo (V_{max}), el punto registrado por el manómetro antes de la rotura del

parénquima.

Posteriormente se comprobó la rotura del parénquima pulmonar, sumergiendo al animal en un tanque de H₂O y observando el burbujeo por pérdida de aire del pulmón.

2.5.2. EXPERIENCIAS DINAMICAS DE TERMORREGULACION

2.5.2.1. Tasas de variación térmica

Previamente a la experimentación, las tortugas estuvieron 2 semanas en el laboratorio a 20-22°C sin alimento y con agua ad libitum. Se anotaron los pesos y se procedió a la aclimatación.

Para obtener las temperaturas experimentales deseadas, se emplearon dos cámaras termostatadas. La temperatura corporal se midió con una sonda térmica insertada en la cloaca introducida hasta aproximadamente 1/3 de la longitud del plastrón. Las temperaturas se monitorizaron con un teletermómetro Yellow-Spring (modelo 46 TUC).

La temperatura experimental de la cámara termostatada se controló de forma permanente con una sonda térmica. La humedad relativa de esta cámara, que se midió con un higrómetro, oscilaba entre el 60-80 % de humedad relativa.

Durante el calentamiento, la temperatura de la cámara se mantuvo a 30±1°C para temperaturas fisiológicas y a 45±2°C para temperaturas extremas. Durante el enfriamiento, la cámara estaba a 15±1°C.

La tasa de intercambio térmico corporal por unidad de tiempo es proporcional a la diferencia entre la temperatura corporal (T_c) y la ambiental (T_a). La ecuación puede expresarse como:

$$\frac{dT_c}{dt} = K (T_c - T_a)$$

donde K es una constante referida a la tasa de intercambio entre T_c y T_a. En un sistema vivo, K varía en relación a los cambios que se producen en el individuo como pueden ser insolación, cambios posturales, pérdida de agua por evaporación y cambios circulatorios.

El cambio instantáneo de la T_c ($^{\circ}\text{C}/\text{min}$) decrece continuamente cuando la temperatura se aproxima a la T_a y puede calcularse para cualquier T_c dada a partir de la ecuación:

$$dT_c/dt = 2.303 \cdot S \cdot \Delta T$$

expresada como $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y a 22.5°C , punto en el que la diferencia entre T_c y T_a es de 7.5°C (ΔT) al mismo tiempo para el calentamiento y el enfriamiento.

S es la pendiente de la recta que relaciona el logaritmo de la diferencia entre T_c y T_a respecto al tiempo. La pendiente se determina por el método de los mínimos cuadrados.

ΔT es la diferencia entre T_c y T_a a la temperatura corporal que se está analizando.

2.303 es el factor de conversión para cambiar el logaritmo común a decimal.

Los cambios o saltos térmicos utilizados son:

| <i>Aire</i> | | <i>Aire</i> |
|-----------------------|---|--------------------------------------|
| 25 $^{\circ}\text{C}$ | a | 40 $^{\circ}\text{C}$ (extremas) |
| 25 $^{\circ}\text{C}$ | " | 43 $^{\circ}\text{C}$ " |
| 15 $^{\circ}\text{C}$ | " | 30 $^{\circ}\text{C}$ (fisiológicas) |
| 30 $^{\circ}\text{C}$ | " | 15 $^{\circ}\text{C}$ " |

| <i>Aire</i> | | <i>Agua</i> |
|-----------------------|---|--|
| 30 $^{\circ}\text{C}$ | a | 15 $^{\circ}\text{C}$ (Efecto de enfriamiento por inmersión) |

| <i>Agua</i> | | <i>Agua</i> |
|-----------------------|---|-----------------------|
| 15 $^{\circ}\text{C}$ | a | 30 $^{\circ}\text{C}$ |
| 30 $^{\circ}\text{C}$ | " | 15 $^{\circ}\text{C}$ |

2.5.2.2. Evolución de los gases pulmonares durante calentamiento y enfriamiento:

Ciclo de histéresis

Se trataba de estudiar la evolución de los gases pulmonares a lo largo de un ciclo de calentamiento y enfriamiento. Se utilizaron para ello tortugas adaptadas a

temperatura de laboratorio durante como mínimo una semana. Se pesaron y se crioanestesiaron para posteriormente implantar cánulas pulmonares según el método descrito en un apartado anterior.

Después del tiempo de recuperación pertinente, se introdujeron los animales en una cámara termostatada a 25°C, controlándose la temperatura corporal con una sonda térmica caudal conectada a un teletermómetro Yellow-Spring.

La cánula intratorácica se conectó a un polígrafo para registrar la frecuencia ventilatoria. Una vez estabilizada ésta, se procedió a analizar una muestra de gas pulmonar con el Scholander como dato control.

A continuación se aumentó la temperatura de la cámara hasta 45°C y se procedió a tomar muestras sucesivas de gases pulmonares hasta que la temperatura corporal se igualó a la temperatura ambiental. En este momento se invirtió el mando de control de la cámara a 25°C y se volvieron a extraer distintas muestras de gas pulmonar para completar el ciclo de calentamiento y enfriamiento (ciclo de histéresis).

2.6. ANALISIS ESTADISTICOS

Los valores vienen expresados por la media muestral, y \pm error standard de la media (\pm S.E.).

En los casos en que se estudió la dependencia de dos variables, se calculó una recta de regresión, y el coeficiente de correlación y el nivel de significación correspondiente.

Se ha utilizado el test t de Student cuando se trataba de comparar si las diferencias entre dos grupos eran significativas.