

**Susiane de Oliveira Klefens**

**Comparação dos efeitos da posição prona associada à ventilação oscilatória de alta frequência e à ventilação mecânica convencional protetora em lesão pulmonar aguda induzida experimentalmente**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia em Clínica Médica, da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, para obtenção do título de mestre

**Orientador: Professor Adjunto José Roberto Fioretto**

**Co-Orientador: Professor Carlos Fernando Ronchi**

**Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP  
2014**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Klefens, Susiane de Oliveira.

Comparação dos efeitos da posição prona associada à ventilação oscilatória de alta frequência e à ventilação mecânica convencional protetora em lesão pulmonar aguda induzida experimentalmente / Susiane de Oliveira Klefens. - Botucatu, 2014

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: José Roberto Fioretto

Coorientador: Carlos Fernando Ronchi

Capes: 40101088

1. Síndrome do desconforto respiratório. 2. Decúbito ventral. 3. Pulmões - Doenças. 4. Respiração artificial. 5. Ventilação de alta frequência.

Palavras-chave: Lesão pulmonar; Posição prona; Sdra; Ventilação mecânica.

## Dedicatória

*Dedico este trabalho aos meus pais, Osvaldo e Susete, meus verdadeiros mestres da vida, exemplos de dedicação e ética. Pelo amor, apoio e motivação incondicional que sempre me deram e que me impulsionam para enfrentar todos os desafios. Muito obrigada! Eu amo muito vocês!!!*

*Aos meus irmãos que tanto os amo e admiro, Ricardo e Paula, que apesar da distancia, sempre estiveram presentes, me incentivando e me apoiando em cada passo.*

*Ao meu namorado e grande amor, Thiago, que se fez presente em todos os momentos que eu necessitava estar ausente devido à pesquisa, por seu apoio e companheirismo de forma muito especial durante todo esse tempo. Te amo!*

*Ao meu orientador, José Roberto Fioretto, por acreditar que eu seria capaz ao me incluir na equipe, por toda disposição em me ajudar, por cada ensinamento que me foi dado, por ser exemplo de profissional e de ser humano a ser seguido, muito obrigada pela confiança e pela amizade.*

*Ao meu co-orientador, Carlos Fernando Ronchi, pela paciência, dedicação nas orientações, por sempre me receber muito bem com minhas dúvidas, respondendo cada uma delas e sempre me incentivando na pesquisa.*

*Às minhas amigas, que estão no mesmo barco, Mikaela e Cíntia, obrigada por estarem sempre presentes, me ajudando da forma que podiam com a experiência de pesquisa de cada uma, me apoiando e dando forças para seguir.*

*À Danielle, Verônica, Vivian e Hellen, amigas que independente da presença física, estiveram sempre torcendo, incentivando e mandando boas energias para o sucesso desse trabalho.*

## **Agradecimentos**

*Primeiramente agradeço a Deus, por me iluminar, me guiar e me conceder sabedoria nas escolhas, me amparando em todos os momentos e me dando forças para seguir.*

*Agradeço imensamente à Cilmery Kurokawa, por me receber de braços abertos no Laboratório de Pediatria, que com muita paciência me ajudou durante todo o mestrado. Obrigada pelos ensinamentos, por me mostrar o que é a pesquisa, por toda sua dedicação, não medindo esforços para ajudar. Você é parte essencial desse trabalho e exemplo de pesquisadora.*

*À Regina Moretto e Cristina Fortes Rezende, faço a vocês um agradecimento especial, por me ensinarem com muita paciência e carinho, cada técnica do laboratório, por me mostrarem que após o dia de experimento existem dias de coletas de dados a serem realizados, que são tão importantes como qualquer outra parte do trabalho. Agradeço a amizade e a dedicação de vocês.*

*Aos funcionários do laboratório experimental da Pediatria e Clínica Médica – FMB/UNESP.*

*À seção técnica de pós-graduação da FMB/ UNESP e à Ana Mengue, secretária da Pós-Graduação do Departamento de Fisiopatologia em Clínica Médica, por toda ajuda e apoio.*

*À Fapesp e a CAPES pelo auxílio financeiro e apoio concedido, que foi de fundamental importância para o desenvolvimento deste trabalho.*

*Finalmente, agradeço a todos que mesmo sem seus nomes presente, me incentivaram e apoiaram em mais esse trabalho.*

# ÍNDICE

	Páginas
<b>Resumo</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>1- Introdução.....</b>	<b>09</b>
<b>2- Material e Métodos.....</b>	<b>16</b>
2.1 Obtenção, Preparo e Distribuição dos Animais.....	16
2.2 Instalação do modelo de LPA.....	18
2.3 Formação dos grupos experimentais e ventilação mecânica.....	18
2.4 Contagem de células polimorfonucleares no fluido de lavagem broncoalveolar.....	19
2.5 Medida da concentração de TNF-alfa no fluido de lavagem broncoalveolar.....	20
2.6 Manipulação dos pulmões e Histologia Pulmonar.....	20
2.7 Medida da peroxidação lipídica – Malondialdeído.....	21
2.8 Determinação do Estresse Oxidativo Pulmonar.....	21
2.9 Variáveis analisadas.....	22
2.10 Análise estatística.....	22
<b>3- Resultados.....</b>	<b>22</b>
3.1 Hemodinâmica, mecânica pulmonar e troca gasosa.....	22
3.2 Lesão pulmonar oxidativa.....	25
3.3 Histopatologia.....	27
3.4 . Processo Inflamatório Alveolar.....	28
<b>4- Discussão.....</b>	<b>30</b>
4.1 Escolha da espécie animal e método de indução de lesão.....	31
4.2 Características gerais dos grupos.....	33
<b>5- Conclusão .....</b>	<b>34</b>
<b>6- Referências Bibliográficas.....</b>	<b>35</b>

## Resumo

A Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA) caracteriza-se por processo inflamatório com desenvolvimento de edema intersticial e alveolar, diminuição da complacência pulmonar e hipoxemia refratária à administração de oxigênio. Estudos tomográficos de pulmões em pacientes com SDRA demonstraram que o comprometimento pulmonar é heterogêneo e que a lesão varia de acordo com o posicionamento, sendo maior o comprometimento nas áreas dependentes da gravidade. Dessa forma, a colocação do paciente em posição prona passou a integrar o arsenal de terapias adjuvantes na SDRA. A ventilação pulmonar mecânica (VM) constitui um dos pilares do tratamento da SDRA, sendo capaz de modificar a evolução da doença. Existem dois métodos ventilatórios de proteção pulmonar utilizados na síndrome, um baseado na VM convencional (VMC) e outro na ventilação oscilatória de alta frequência (VOAF). O objetivo do estudo foi comparar os efeitos da VOAF e da VMC protetora associadas à posição prona sobre oxigenação, inflamação, histologia e dano oxidativo pulmonar, em modelo experimental de lesão pulmonar aguda (LPA) induzida em coelhos. Quarenta e cinco coelhos foram instrumentados com traqueostomia, acessos vasculares e ventilados mecanicamente. A LPA foi induzida por infusão traqueal de salina aquecida (30mL/Kg, 38°C). Foram formados três grupos experimentais: a) Animais sadios + VMC Protetora [grupo controle (GC) em posição supina; n=15]; b) Animais com LPA + VMC Protetora (posição prona, GVMC; n=15); c) Animais com LPA + VOAF (posição prona, GVAF; n=15). Após 10 minutos do início da ventilação específica de cada grupo, foi colhida gasometria arterial, sendo este momento denominado tempo zero (T<sub>0</sub>), após o qual o animal foi posicionado em posição prona assim permanecendo por 4 horas. A oxigenação foi avaliada pela relação PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>, a inflamação pulmonar pelo nível de TNF-alfa e contagem do número de células polimorfonucleares (PMN) recuperadas do fluido de lavagem broncoalveolar (BAL), o estresse oxidativo pulmonar pelo método de capacidade antioxidante total (TAP) no plasma e o dano oxidativo lipídico por meio da peroxidação lipídica (malondialdeído - MDA) no BAL e no plasma. A lesão tecidual pulmonar foi determinada por escore histopatológico de lesão. O nível de significância avaliado foi de 5%. Ambos os grupos com LPA apresentaram piora da oxigenação após a indução da lesão quando comparados com o GC (GC: 444±59,4 > GVMC: 69±11,6 = GVAF: 70±21,3; p<0,05). Após 4 horas, houve melhora significativa da oxigenação no grupo GVAF comparado ao GVMC (GC: 438±41,2 > GVAF: 365±62,6 > GVMC:

238±102,4; p<0,05). As concentrações de MDA no plasma não apresentaram diferença estatisticamente significativa, porém houve tendência a menores valores para o GVAF [GC: 87,38 (64,20 - 106,34) > GVAF: 67,63 (26,40 - 327,60) < GVMC: 95,92 (34,49 - 599,06); p>0,05]. Quando analisadas as concentrações de MDA no BAL também não houve diferença estatística [GC: 25,75 (2,73 - 291,86) < GVAF: 72,63 (0,75 - 449,64) < GVMC: 167,15 (1,85 - 462,20); p>0,05]. A análise do TAP no plasma mostrou maior proteção no GVAF (GC: 29,2 ± 10,21 = GVAF: 38 ± 12,0 > GVMC: 25,6 ± 8,73 %proteção; p <0,05). O GVAF apresentou menor escore de lesão histopatológica no tecido pulmonar que o GVMC [GVAF: 1,4 (1,2 - 1,8) < GVMC: 1,7 (1,4 - 3,2); p<0,05]. A porcentagem de neutrófilos no BAL foi menor no GVAF em relação ao GVMC, (GC: 1±2,5 < GVAF: 74±7,2 = GVMC: 84,5±25 p<0,05). E em relação aos níveis de TNF-alfa no tecido pulmonar, não houve diferença entre os grupos VAF e VMC (p>0,05). Este estudo demonstra que a VOAF associada à posição prona melhora a oxigenação e atenua o dano oxidativo e a lesão pulmonar histopatológica comparado com VMC em LPA induzida experimentalmente.

### **Abstract**

Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) is characterized by inflammation with development of interstitial and alveolar edema, decreased lung compliance and hypoxemia refractory to oxygen. Tomographic studies in the lungs of patients with ARDS have shown that impaired lung is heterogeneous and that injury varies with the position being higher in the areas commitment dependent on gravity. Thus, placing the patient in the prone position became part of the arsenal of adjuvant therapies for ARDS. Mechanical ventilation (MV) is the most important ARDS treatment, being able to modify the course of disease. There are two protective ventilatory methods, one based on conventional MV (CMV) and the other in high-frequency oscillatory ventilation (HFOV). The aim of this study was to compare the effects of HFOV and CMV protective associated with prone position on oxygenation, inflammation, histology and oxidative lung damage in an experimental model of acute lung injury (ALI) induced in rabbits. Forty-five rabbits were instrumented with tracheostomy, vascular access and mechanically ventilated. ALI was induced by infusion of warm saline tracheal (30ml/kg, 38° C). The study involved three groups: a) Healthy animals + Protective CMV [control group (CG) in the supine position, n = 15], b) animals with ALI + Protective CMV (prone position, GVMC, n = 15); c) Animals with ALI + HFOV (prone position, GVAF, n = 15).

After 10 minutes of the beginning of each group of specific ventilation an arterial blood gases was collected, being designated time zero point (T0). After that the animal was placed in prone position and remained so for 4 hours. Oxygenation was measured by PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ratio, lung inflammation by TNF-alpha and counting of the number of polymorphonuclear cells (PMN) recovered from bronchoalveolar lavage fluid (BAL), pulmonary oxidative stress was determined by Total Antioxidant Performance Assay (TAP) and lipid oxidative damage through lipid peroxidation (malondialdehyde - MDA) in BAL and plasma. Lung tissue injury was determined by histopathologic injury score. The significance level was evaluated at 5%. Both groups had very poor oxygenation ALI after induction of injury when compared to the GC (GC: 444±59,4 > GVMC: 69±11,6 = GVAF: 70±21,3; p<0,05). After 4 hours, there was significant improvement in oxygenation GVAF group compared to GVMC (GC: 438±41,2 > GVAF: 365±62,6 > GVMC: 238±102,4; p<0,05). MDA concentrations in plasma showed no statistically significant difference, but there was a tendency to lower values [GC: 87,38 (64,20 - 106,34) > GVAF: 67,63 (26,40 - 327,60) < GMVC: 95,92 (34,49 - 599,06); p>0,05]. MDA concentrations in BAL showed no statistical difference [GC: 25,75 (2,73 - 291,86) < GVAF: 72,63 (0,75 - 449,64) < GVMC: 167,15 (1,85 - 462,20); p>0,05]. TAP analysis in plasma showed higher protection for GVAF (GC: 29,2 ± 10,21 = GVAF: 38 ± 12,0 > GVMC: 25,6 ± 8,73 % protection ; p <0,05). The GVAF showed lower histological injury score in the lung tissue compared to GVMC [GVAF: 1,4 (1,2 – 1,8) < GVMC: 1,7 (1,4 – 3,2); p<0,05]. The percentage of neutrophils in BAL were lower comparing GVAF to GVMC, GC: 1±2,5 < GVAF: 74±7,2 = GVMC: 84,5±25 p<0,05). Regarding TNF-alpha levels in lung tissue, there was no difference among groups (p >0,05). This study indicates that HFOV associated with prone position improves oxygenation and reduces oxidative damage, and histopathological lung injury compared with CMV in experimentally induced ALI.

## 1. Introdução

A Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA) é doença potencialmente fatal e que representa importante problema de saúde pública<sup>1</sup>. Caracteriza-se por processo inflamatório que leva à quebra da barreira alvéolo-capilar com desenvolvimento de edema intersticial e alveolar, diminuição da complacência pulmonar, hipertensão pulmonar, desequilíbrio da relação ventilação/perfusão e hipoxemia refratária à administração de oxigênio<sup>2</sup>. Apesar do progresso no entendimento de sua fisiopatologia e consequente avanço em estratégias terapêuticas, a mortalidade permanece elevada<sup>1</sup>.

A ventilação pulmonar mecânica (VM) constitui um dos pilares do tratamento da SDRA, sendo capaz de modificar a evolução da doença. Existem dois métodos ventilatórios de proteção pulmonar utilizados na síndrome, um baseado na VM convencional (VMC) e outro na ventilação oscilatória de alta frequência (VOAF)<sup>4</sup>.

Baseado no conceito de comprometimento homogêneo do parênquima pulmonar que prevalecia até 1980, o suporte ventilatório na SDRA era fornecido utilizando-se volume corrente (VC) elevado, 10 a 15 mL/Kg, bem acima daquele empregado em pacientes sem doença pulmonar. Tais valores de VC eram utilizados com o objetivo de normalizar PaCO<sub>2</sub>, PaO<sub>2</sub> e pH, sendo a pressão inspiratória (PIP) liberada para valores tão elevados quanto 40-45 cmH<sub>2</sub>O. Posteriormente, contribuiu grandemente para o entendimento da doença, a observação, por meio de estudo tomográfico dos pulmões, de que o comprometimento do parênquima pulmonar na SDRA não é homogêneo, existindo áreas de pulmão normal<sup>5</sup>. Paralelamente, diversas publicações<sup>5-7</sup> alertaram para ocorrência da lesão pulmonar induzida pela VM (LPIVM) ao se utilizar elevados valores de VC e de PIP, até então empregados rotineiramente. A LPIVM pode ser definida como a lesão que ocorre em áreas de pulmão normal de pacientes submetidos à VM e que simula a lesão pulmonar aguda. Distensão repetitiva dos alvéolos e o consequente desenvolvimento de atelectasia contribuem para a lesão pulmonar, a qual se origina do padrão ventilatório utilizado para o suporte da oxigenação e ventilação. A mudança cíclica no volume pulmonar parece, também, ser causa importante de LPIVM, sugerindo que uma estratégia ventilatória que evite grandes variações no volume pulmonar possa ser benéfica<sup>8,9</sup>. A idéia que predomina atualmente é a de que o emprego de VC alto, com geração de altas pressões de pico inspiratório e de platô, determina lesão estrutural em

áreas de pulmão até então saudáveis, agravando a hipoxemia e piorando a evolução dos pacientes com SDRA. A VM mais agressiva pode, também, propiciar lesão alveolar inflamatória, mimetizando as lesões anatomopatológicas da síndrome em áreas pulmonares saudáveis<sup>10-14</sup> e aumentar o risco de desenvolvimento de síndrome de disfunção de múltiplos órgãos e sistemas (biotrauma)<sup>14</sup>.

Assim é que, em 2000, o grupo *The Acute Respiratory Distress Syndrome Network*<sup>14</sup> comparou o uso da ventilação mecânica tradicional com a ventilação com VC baixo (6 mL/kg) e pressão de platô limitada em 30 cmH<sub>2</sub>O. O trabalho teve que ser interrompido com 861 pacientes, pois a mortalidade foi significativamente menor no grupo ventilado com VC baixo. Surgiu, então, o conceito de VMC protetora.

A recomendação atual para a VMC protetora na SDRA é a utilização de VC baixo (6-8 mL/Kg), pressão de platô limitada em 30 cmH<sub>2</sub>O e pressão expiratória final positiva (PEEP) elevada, em modos limitados a pressão<sup>14</sup>, permitindo que a saturação arterial de oxigênio fique entre 88%-90% (hipoxemia permissiva) e que a PaCO<sub>2</sub> atinja valores de até 100 mmHg (hipercapnia permissiva)<sup>15</sup>.

Embora a VMC protetora seja efetiva em muitos pacientes, há um número significativo deles que apresenta insuficiência respiratória grave e nos quais a VMC protetora pode não garantir a oxigenação e a ventilação. Além disso, a PEEP elevada pode causar hiperdistensão alveolar devido aos altos picos de pressão gerados<sup>16</sup>. Acrescenta-se, também, que o emprego de VC baixo pode diminuir o volume pulmonar, levando a colapso alveolar, com agravamento da hipoxemia<sup>17,18</sup>. Nestes casos, quando a proteção pulmonar é mandatória, a VOAF passa ser uma alternativa atraente<sup>19</sup>.

A VOAF é método ventilatório que utiliza VC mais baixo que o volume do espaço morto anatômico (1-3 mL/Kg) com frequência bem acima da fisiológica (3-15 Hertz; 1 Hz=60 respirações por minuto), evitando as elevadas pressões e volumes alveolares típicos da VMC<sup>20</sup>. É método ventilatório único, pois a inspiração e a expiração são ativas, sendo a oxigenação manipulada por ajustes da pressão média de vias aéreas (Paw), a qual controla a insuflação pulmonar de modo semelhante à PEEP<sup>21</sup>.

Inicialmente, a VOAF foi utilizada como estratégia de resgate quando outros modos de ventilação falhavam<sup>22,23</sup>. Em 1997, Fort et al.<sup>22</sup> descreveram o uso da VOAF em 17 adultos com SDRA e observaram melhora da relação PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> e do índice de oxigenação (IO) em 13 pacientes, com 53% de mortalidade. Subsequentemente, vários outros autores publicaram sua experiência com este modo ventilatório. Em 2002, o MOAT (*Multicenter Oscillatory Ventilation for Acute Respiratory Distress Syndrome Trial*) comparou a VOAF com a ventilação convencional com pressão-controlada. A

VOAF determinou melhora mais rápida da relação  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  quando comparada com a ventilação convencional<sup>24</sup>. Os autores concluíram que a VOAF é segura e efetiva para tratamento da SDRA. Mehta et al.<sup>25</sup>, em 2004, concluíram que a VOAF tem efeitos benéficos sobre a oxigenação, pode ser tratamento de resgate efetivo na hipoxemia grave e que sua instituição precoce pode ser vantajosa.

Em pediatria, a VOAF foi inicialmente utilizada com sucesso em neonatos<sup>19,26,27</sup> e, apesar do aumento da utilização deste modo ventilatório em crianças com SDRA, existem apenas treze publicações sobre mortalidade<sup>28</sup>, poucos estudos prospectivos<sup>19,29,30</sup> e apenas um estudo randomizado e controlado<sup>19</sup>. Recentemente, Ben Jaballah et al.<sup>28</sup>, em estudo clínico prospectivo de 12 crianças com SDRA demonstraram que a VOAF melhora a troca gasosa de modo rápido e sustentado nos pacientes que apresentaram falha com a VMC.

Estudos em animais sugeriram que a VOAF reduz a LPIVM<sup>31-34</sup>. Imai et al.<sup>31</sup>, estudando coelhos nos quais a SDRA foi induzida por meio de lavagem pulmonar com solução salina aquecida, compararam esse método ventilatório com duas outras estratégias protetoras de ventilação mecânica (VC baixo, 5 – 6 mL/Kg, com PEEP dois pontos acima do ponto de inflexão da curva pressão-volume e VC baixo, 5 – 6 mL/Kg, com PEEP de 8 – 10 cmH<sub>2</sub>O) e um grupo controle (VC de 10-12 mL/Kg e PEEP de 4 – 5 cmH<sub>2</sub>O). Os autores concluíram que a VOAF melhorou a complacência pulmonar, atenuou a inflamação pulmonar, avaliada por infiltração de leucócitos polimorfonucleares e concentração de Fator de Necrose Tumoral – alfa (TNF-alfa) no espaço alveolar, e, também, diminuiu as lesões histológicas de pequenas vias aéreas e alvéolos de forma mais efetiva que as outras estratégias ventilatórias. Rotta et al.<sup>32</sup>, por sua vez, também estudando coelhos submetidos à lavagem pulmonar com salina, compararam VOAF e VMC com PEEP alta (10 cmH<sub>2</sub>O) e baixa (2 cmH<sub>2</sub>O), ventilação com PEEP dois cmH<sub>2</sub>O acima do primeiro ponto de inflexão da curva pressão-volume (estratégia protetora) e animais sem SDRA, sob ventilação convencional. Os autores demonstraram que a VOAF atenuou a lesão oxidativa pulmonar avaliada pelos métodos da mieloperoxidase e malondialdeído, marcadores da leucoestase pulmonar e do dano oxidativo do compartimento lipídico, respectivamente. Resultado semelhante foi obtido por Viana et al.<sup>33</sup>, estudando coelhos com lesão pulmonar induzida por infusão venosa de lipopolissacarídeo de *E. coli* e por lavagem pulmonar com salina. Meyer et al.<sup>34</sup>, por sua vez, submeteram coelhos à lavagem pulmonar com salina para induzir SDRA e estudaram duas frequências respiratórias durante VOAF (15 Hz vs. 5 Hz) e observaram que ambas as estratégias restauraram a oxigenação e a ventilação, com o achado adicional

de que a frequência mais baixa aumentou o infiltrado neutrofílico do lavado alveolar.

Recentemente, nosso grupo publicou, pela primeira vez na literatura, resultados da comparação entre VMC protetora e VOAF quanto ao estresse oxidativo total, ou seja, analisando-se os compartimentos aquoso e lipídico, no tecido pulmonar de coelhos pelo método da Capacidade Antioxidante Total (TAP). Concluiu-se que a VOAF atenuou a lesão oxidativa em modelo de lesão pulmonar aguda induzida por lavagem pulmonar com salina<sup>35</sup>.

Em decorrência da alta mortalidade observada na SDRA, tanto em adultos como em crianças, estratégias terapêuticas adicionais à ventilação mecânica vêm sendo desenvolvidas. Dentre elas, destaca-se a posição prona<sup>36</sup>.

Estudos tomográficos de pulmões de pacientes com SDRA demonstraram que o comprometimento pulmonar é heterogêneo e que a lesão varia de acordo com a posição do paciente, sendo mais importante nas áreas dependentes da gravidade, ou seja, na região pulmonar dorsal e posterior, quando o paciente está em posição supina<sup>4</sup>. Em posição supina, o volume reduzido de áreas pulmonares aeradas, não dependentes da gravidade, está em risco de superdistensão e de lesão por ciclos repetidos de abertura e fechamento de unidades alveolares quando a VM é utilizada com volumes e pressões elevadas<sup>5</sup>. Desta forma, a colocação do paciente em posição prona passou a integrar o arsenal de terapias adjuvantes da SDRA.

A posição prona, primeiramente descrita por Bryan<sup>37</sup>, pode melhorar as trocas gasosas por mecanismos ainda não totalmente esclarecidos, entre os quais destacam-se: 1) redistribuição da ventilação para áreas pulmonares dorsais melhor perfundidas<sup>38</sup>. Há melhora da relação ventilação/perfusão (V/Q) nas regiões dorsais, onde o colapso pulmonar e a relação V/Q desigual predominam, quando em posição supina<sup>39</sup>; 2) homogeneização da distribuição do volume corrente associado com alterações na mecânica da parede torácica<sup>40</sup>; 3) recrutamento alveolar<sup>41</sup>; 4) redirecionamento de forças compressivas exercidas pelo peso do coração sobre os pulmões<sup>42</sup>; 5) e melhor remoção de secreções.

Em 2004, Guérin et al<sup>43</sup> realizaram estudo multicêntrico, controlado e randomizado envolvendo 791 pacientes adultos com insuficiência respiratória hipoxêmica aguda ( $PaO_2/FiO_2 < 300$ ) submetidos a VMC para comparar posição prona e supina. Não houve diferença na mortalidade de 28 dias entre os grupos prona e supina. No entanto, a oxigenação foi melhor no grupo prona e a incidência de pneumonia associada a VM foi significativamente menor neste grupo. No ano seguinte, Mentzelopoulos et al<sup>44</sup> avaliaram 10 adultos com SDRA grave ( $PaO_2/FiO_2 < 100$ ) sob

FiO<sub>2</sub> de 0,79±0,07, PEEP de 9,4±1,3cmH<sub>2</sub>O e VC de 9,0±0,9mL/Kg ajustados para manter a pressão de platô pulmonar abaixo de 30 cmH<sub>2</sub>O. Os pacientes foram estudados em posição supina a 60°, depois foram colocados em prona e, por fim, novamente, em decúbito supino. Os autores observaram redução de indicadores de estresse pulmonar parenquimatoso total e de tensão pulmonar com a posição prona. Este foi o primeiro estudo realizado em humanos que mostrou a possibilidade de redução de lesão pulmonar quando a posição prona foi adotada.

Em revisão publicada em 2006, Guérin<sup>45</sup> concluiu que a posição prona melhora a oxigenação sem induzir ou até prevenindo a superdistensão pulmonar e hiperinsuflação. Mais recentemente, Romero et al.<sup>46</sup> estudaram 15 adultos com SDRA grave (PaO<sub>2</sub>/ FiO<sub>2</sub> <100) submetidos a posição prona por 48 horas ou mais, até um índice de oxigenação menor do que 10 fosse atingido. Os autores demonstraram melhora significativa da relação PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> e do índice de oxigenação (IO = pressão média de vias aéreas × FiO<sub>2</sub> × 100/PaO<sub>2</sub>), diminuição da PaCO<sub>2</sub> e da pressão de platô e aumento da complacência estática quando da aplicação da posição prona.

Em crianças com SDRA, a posição prona vem sendo avaliada em estudos clínicos de formas variadas. Relvas et al.<sup>47</sup> mantiveram 40 pacientes de 1 mês a 18 anos de idade em prona e observaram diminuição do índice de oxigenação, aumento da relação PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> em 6-10h e melhora ainda mais acentuada da oxigenação em 18-24h, sem mudança significativa na pressão aérea média. Concluíram que a posição prona melhora a oxigenação em crianças com SDRA submetidas à VMC e que a manutenção dos pacientes em prona por mais de 12 horas está associada a melhora mais pronunciada e estável do índice de oxigenação comparada a períodos mais curtos. Casado-Flores et al.<sup>48</sup> utilizaram posição prona em 23 crianças com SDRA, mudando de prona para supina a cada oito horas. Observaram que três em cada quatro crianças responderam à mudança de posição com melhora da relação PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>, não havendo melhora ou até mesmo piora após a volta para posição supina. Das crianças que responderam à posição prona, 33% não responderam na primeira vez. Os autores concluíram que a posição prona é um procedimento simples, praticamente sem complicações e bem tolerado e que melhora a oxigenação na maioria das crianças com SDRA.

Em 2005 foi publicado estudo<sup>49</sup> controlado e randomizado com 102 crianças, de duas semanas a 18 anos de idade, com o diagnóstico de lesão pulmonar aguda. O estudo mostrou melhora da oxigenação na maioria dos pacientes randomizados para a posição prona, caracterizando 90% deles como respondedores para melhora da oxigenação. Porém, não houve diferença significativa entre os grupos em dias livre de VM,

mortalidade, tempo de recuperação da lesão pulmonar e dias livre de falência orgânica. Em 2008, revisão sistemática da Biblioteca *Cochrane* demonstrou em crianças com SDRA que a posição prona melhora a saturação de oxigênio, a PaO<sub>2</sub>, o índice de oxigenação, a sincronia tóraco-abdominal e ocasiona menos episódios de queda da saturação<sup>50</sup>.

Continuando os estudos, o assunto já foi objeto de três metanálises que compararam posição prona com supina. Duas delas ocuparam-se apenas de trabalhos controlados e randomizados em adultos com insuficiência respiratória hipoxêmica (quatro estudos com 1.271 pacientes)<sup>51</sup> ou com SDRA (cinco estudos com 1.316 pacientes)<sup>52</sup>. Outra metanálise avaliou adultos e crianças com insuficiência respiratória aguda (lesão pulmonar aguda ou SDRA) em estudos controlados e randomizados (13 estudos com 1.559 pacientes)<sup>53</sup>. Todas concluíram que, apesar de melhorar a oxigenação e diminuir o risco de pneumonia associada à VM, a posição prona não se associa a diminuição da mortalidade. No entanto, há efeito benéfico nos pacientes mais graves<sup>52</sup>.

Estudos em animais mostraram que a posição prona melhora a oxigenação em relação à posição supina. Além disso, manobras de recrutamento alveolar parecem ser mais efetivas para melhorar a oxigenação se realizadas quando o animal está em posição prona, sendo que a manutenção do efeito destas manobras se consegue com o uso de pressão expiratória final positiva mais baixa que na posição supina e o efeito da posição prona sobre a oxigenação é mantido após voltar a posição supina<sup>6</sup>. Foi demonstrado, em cães, que a posição prona promove lesão pulmonar histológica de menor gravidade e mais homogênea que a posição supina<sup>7</sup>. Estes resultados foram posteriormente confirmados por Valenza et al<sup>54</sup>, que mostraram em ratos com pulmão normal, que a posição prona retarda a evolução da lesão pulmonar, além de permitir ventilação mais homogênea. De fato, o volume corrente, preferencialmente, tensiona as regiões pulmonares não dependentes na posição supina, enquanto que na posição prona o deslocamento do diafragma para baixo é mais relevante.

Assim, atualmente, a posição prona faz parte das estratégias terapêuticas de proteção pulmonar, sendo maneira fisiologicamente apropriada para ser utilizada em pacientes com SDRA grave.

Considerando-se a gravidade da maior parte dos casos de SDRA e os efeitos benéficos da VOAF e da posição prona é possível que a associação dessas duas formas de tratamento determine melhora mais acentuada da oxigenação além de reduzir a intensidade da lesão pulmonar induzida pela VM.

Poucos foram os estudos que avaliaram a associação de VOAF com posição

prona. Estudo clínico prospectivo e randomizado com 39 adultos com SDRA ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2=150$ )<sup>55</sup>, após 12 horas de uso de VMC protetora em posição supina, distribuiu os pacientes em três grupos: 1) posição prona associada a VMC protetora; 2) posição prona associada a VAF; 3) posição supina associada a VOAF. Os pacientes foram ventilados nestas modalidades por 12 horas. Os autores analisaram a oxigenação por meio da relação  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  e do IO e a inflamação pulmonar por meio das citocinas séricas, no lavado broncoalveolar (BAL) e citologia do BAL. Os autores concluíram que a posição prona associada à VMC ou à VOAF melhora a oxigenação dentro de 12 horas, em contraste com a posição supina associada à VOAF. Além disso, a posição prona reduziu os níveis séricos de IL-8 e o número de neutrófilos no BAL quando comparada com a posição supina associada a VOAF, indicando diminuição da inflamação pulmonar. Demory et al.<sup>56</sup>, em outro estudo prospectivo e randomizado, estudaram 43 pacientes com SDRA ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 150$  em PEEP  $> 5\text{cmH}_2\text{O}$ ) que foram divididos em três grupos: 1) VMC com 12 horas em posição prona e após 12 horas em posição supina; 2) VMC com 12 horas em posição prona e após 12 horas de posição supina em VOAF; 3) VMC com 12 horas em posição supina e após 12 horas desta mesma posição em VOAF. Concluíram que a posição prona melhorou a oxigenação a partir da primeira hora, o que não aconteceu no grupo ventilado inicialmente com a posição supina. A melhora só foi mantida no grupo posteriormente ventilado com VOAF. Não houve aumento da oxigenação, em nenhum momento, no grupo que permaneceu todo o tempo em posição supina, mesmo após ser colocado na VOAF. Os autores sugeriram que a VOAF é capaz de manter o recrutamento alveolar induzido pela posição prona e seu uso após a posição prona permite reduzir a  $\text{FiO}_2$  para níveis potencialmente menos tóxicos.

Estudo experimental em porcos<sup>57</sup>, nos quais a SDRA foi induzida por lavagem com salina, demonstrou que a VOAF associada à posição prona melhorou a oxigenação, além de reduzir significativamente a fração de *shunt* pulmonar e normalizar o débito cardíaco, com pressões médias de vias aéreas mais baixas que quando a VOAF foi associada à posição supina. Recentemente, nosso grupo publicou resultados de estudo experimental em coelhos, nos quais a lesão pulmonar foi induzida por infusão de salina aquecida. Os animais foram submetidos à VOAF sendo comparadas as posições prona e supina. Concluiu-se que a posição prona atenuou a inflamação pulmonar, avaliada pelos níveis de TNF-alfa no fluido do BAL e nos tecidos pulmonares dos animais, e associou-se a menor escore histopatológico de lesão pulmonar nas áreas pulmonares dependentes e não dependentes da gravidade<sup>58</sup>.

Assim, considerando as características protetoras da VOAF e a capacidade de

redistribuição da ventilação para áreas pulmonares melhor perfundidas, assim como o potencial de recrutamento da posição prona, nossa hipótese é que a somatória de efeitos benéficos da VOAF e da posição prona determina melhora mais acentuada da oxigenação, lesão histopatológica mais homogênea e de menor intensidade e atenua a lesão pulmonar tecidual oxidativa e inflamatória quando comparada com a VMC protetora associada a posição prona.

O objetivo do estudo foi comparar o efeito da posição prona associada à VOAF e a VMC protetora sobre a oxigenação, inflamação, histologia e dano oxidativo pulmonar, em modelo experimental de lesão pulmonar aguda induzida em coelhos. Os desfechos foram: oxigenação; inflamação pulmonar avaliada pelo nível de TNF-alfa e contagem do número de células polimorfonucleares (PMN) recuperadas do fluido de lavagem broncoalveolar (BAL); estresse oxidativo pulmonar, determinado pelo método de capacidade antioxidante total (TAP) no plasma e o dano oxidativo lipídico através de peroxidação lipídica (malondialdeído) no BAL e no plasma; e lesão tecidual pulmonar, determinada por escore histopatológico de lesão.

## **2. Material e Métodos**

O estudo foi realizado no Laboratório Experimental do Centro de Pesquisa Clínica e Experimental do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP, e aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu sob o protocolo no. 795.

### *2.1. Obtenção, Preparo e Distribuição dos Animais*

Trata-se de estudo prospectivo, controlado, *in vivo* e em animais de laboratório. Foram utilizados coelhos jovens brancos fornecidos pelo Biotério da UNESP - Campus de Botucatu, com peso corporal variando de 2,0 a 3,0 Kg.

Após pesagem, os animais foram anestesiados e sedados com uma solução de cetamina (50 mg/Kg) e acepromazina (2 mg/Kg) administradas por via intramuscular. Posteriormente, os animais foram colocados em goteira cirúrgica, receberam oxigênio a 100% por meio de cateter nasal e foram submetidos à tricotomia cervical e torácica para colocação de eletrodos de monitoração da frequência cardíaca (FC). Se a FC diminuísse para valores abaixo de 180 bpm, era administrada atropina na dose de 0,01 mg/Kg por via

intravenosa na veia auricular. A região anterior do pescoço dos animais foi anestesiada com xilocaína para realização da traqueostomia, dissecação da artéria carótida e veia jugular interna. Pela traqueostomia foi introduzido tubo traqueal de maior calibre possível (diâmetro interno de 3,0 a 3,5 mm, *Portex, Hythe, UK*), mantido em posição por meio de fita cirúrgica. Imediatamente, iniciou-se a ventilação mecânica com o aparelho de ventilação mecânica convencional (*Inter 7 plus, Intermed, São Paulo, Brasil*). Os parâmetros iniciais foram: modo pressão-regulada volume controlado (AC/PRV), com VC alvo de 6 mL/Kg; frequência respiratória (FR) de 40 ciclos por minuto, ajustada de acordo com a PaCO<sub>2</sub>; tempo inspiratório (Ti) de 0,5 segundo; PEEP de 5 cmH<sub>2</sub>O; fração inspirada de oxigênio (FiO<sub>2</sub>) de 1,0. Estes parâmetros foram mantidos por período de estabilização de 10 minutos até o momento da indução da lesão pulmonar nos grupos tratados.

Depois da traqueostomia, foram dissecadas a artéria carótida e a veia jugular interna. Na artéria foi introduzido um cateter de lúmen único (*22 Gauge Jelco, Introcan® Safety™ - B-Braun, Melsungen, Germany*) e na veia um cateter de duplo lúmen (*5<sup>Fr</sup> - Arrow International Inc., Reading, Philadelphia-USA*). O cateter arterial foi utilizado para obtenção de gasometrias e para monitoração contínua da pressão arterial média (PAM) com auxílio de um sistema de monitoração de pressão (*LogiCal® da Medex, Dublin, USA*) conectado a monitor multiparamétrico (*Dixtal, Manaus, Brasil*). O cateter na veia cava foi utilizado para administração de sedativos em infusão contínua, soro de manutenção e drogas vasoativas.

Obtidos os acessos vasculares, a anestesia foi mantida por meio de administração intravenosa contínua de 10 mg/Kg/h de cetamina, até a conclusão do experimento. Além disso, os animais foram submetidos a bloqueio neuromuscular por meio da administração intravenosa de 0,2 mg/Kg de pancurônio, sendo o bloqueio mantido com doses adicionais de 0,1 mg/Kg a cada 30 minutos. Em qualquer momento do experimento, caso a PAM atingisse valores inferiores a 50 mmHg, iniciava-se infusão intravenosa contínua de noradrenalina em dose inicial de 0,5 µg/Kg/min e, não havendo resposta, a dose era aumentada até 2 µg/Kg/min. Se ainda assim não houvesse resposta, adicionava-se adrenalina na dose de 0,1 a 0,3 µg/Kg/min.

Durante o experimento, a temperatura corporal foi monitorada com o auxílio de termômetro digital por via retal, sendo mantida entre 38°C e 40°C com auxílio bolsas térmicas, e a volemia mantida por meio de infusão contínua de 4 mL/Kg/h de solução salina acrescida de 5% de dextrose.

## 2.2. Instalação do modelo de LPA

A lesão pulmonar aguda (LPA) foi induzida conforme técnica previamente descrita<sup>31,33,59</sup>. Resumidamente, através da cânula traqueal eram realizadas seis lavagens sucessivas do pulmão com soro fisiológico aquecido a 38°C em alíquotas de 30 mL/Kg, a uma pressão máxima de 30 cmH<sub>2</sub>O. Cada procedimento de lavagem tinha duração de 60 segundos, sendo 20 segundos reservados para infusão e o tempo restante para retirada, a qual foi realizada por gravidade, movimentos externos de compressão torácica e gentil sucção. Completada a retirada, o procedimento era repetido a cada 3-5 minutos até atingir relação PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> < 100 mmHg, confirmada após 10 minutos de estabilização. Se o critério não fosse atingido, eram realizadas mais duas lavagens na sequência e, depois de 10 minutos, nova gasometria era obtida e assim sucessivamente até atingir relação PaO<sub>2</sub>/FO<sub>2</sub> < 100 mmHg. Atingindo o critério, os animais foram aleatorizados para compor os grupos experimentais.

## 2.3. Formação dos grupos experimentais e ventilação mecânica

De acordo com o comportamento das variáveis analisadas em outros estudos que utilizaram metodologia semelhante, foram estudados 15 coelhos por grupo<sup>31-34</sup>. Os animais foram escolhidos ao acaso para compor três grupos experimentais, a saber:

- Animais sadios instrumentados e submetidos à VMC protetora (controle-GC) com os seguintes parâmetros: modo pressão-regulada volume controlado; VC alvo de 6 mL/Kg; FR de 40 ciclos por minuto; Ti de 0,5 segundo; PEEP de 5 cmH<sub>2</sub>O; FiO<sub>2</sub> de 1,0 (protocolo apresentado na figura 1).
- Animais com LPA submetidos à VMC protetora em posição prona (GVMC): neste grupo, além dos parâmetros descritos para o GC, a PEEP foi aumentada para 8 cmH<sub>2</sub>O durante a primeira hora e, em seguida, para 10 cmH<sub>2</sub>O permanecendo assim até o final do experimento (protocolo apresentado na figura 1).
- Animais com LPA submetidos à VOAF em posição prona (GVAF): A VOAF foi fornecida pelo oscilador SensorMedics 3100A (*Viasys Healthcare, Yorba Linda, USA*) com pressão média de via aérea de 15 cmH<sub>2</sub>O, Ti de 33%, FR de 10Hz e amplitude 22 cmH<sub>2</sub>O, sendo a FR e amplitude ajustadas para manter

PaCO<sub>2</sub> em níveis fisiológicos (35-45 mmHg) (protocolo apresentado na figura 1).

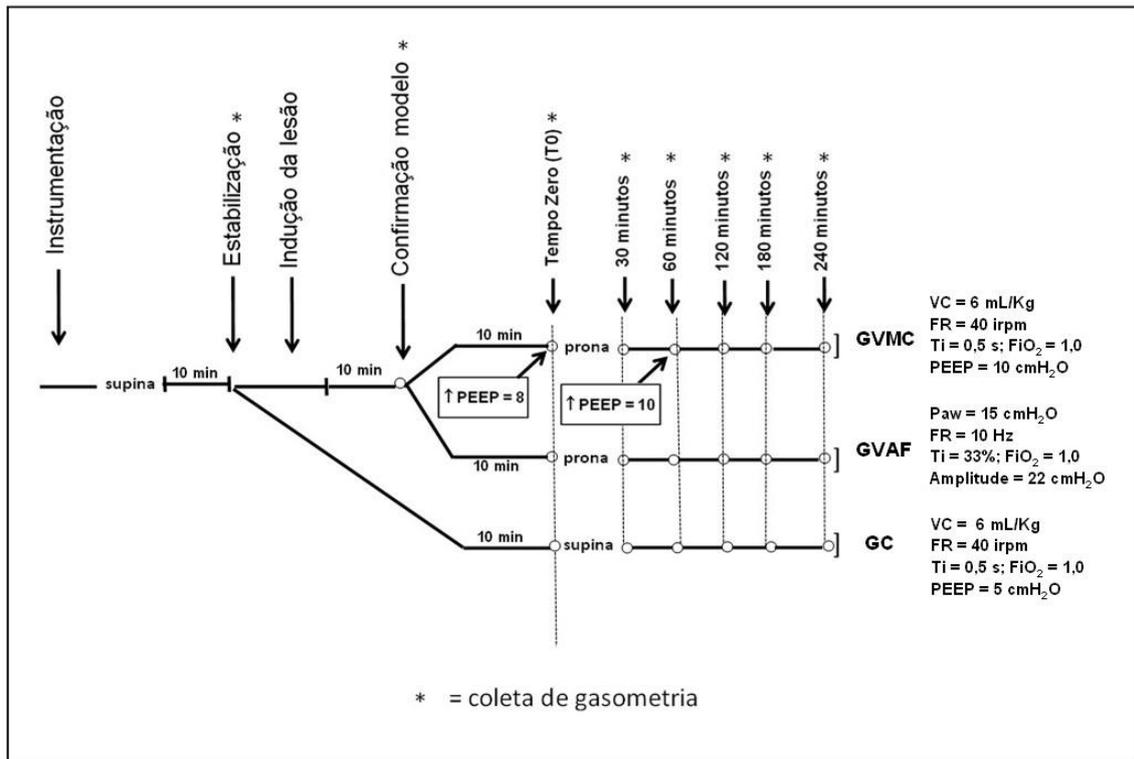


Figura 1: Protocolo experimental e distribuição dos animais de acordo com o tipo de ventilação utilizada. VC= Volume Corrente; FR= Frequência Respiratório; Ti= Tempo Inspiratório; FiO<sub>2</sub>= Fração Inspirada de Oxigênio; PEEP= Pressão Expiratória Final Positiva; Paw= Pressão Média de Vias Aéreas.

Após 10 minutos do início da ventilação específica de cada grupo, nova gasometria foi obtida, sendo este momento denominado tempo zero (T0), após o qual o animal foi colocado em posição prona. A partir deste momento, os animais foram ventilados por quatro horas, sendo colhidas gasometrias arteriais nos seguintes momentos: 30, 60, 120, 180 e 240 minutos. O tempo de quatro horas foi escolhido levando-se em conta a viabilidade de coelhos neste tipo de experimento, baseado em experimentos anteriores, e em razão dos estudos citados anteriormente que demonstraram efeitos precoces, clínicos e experimentais, da posição prona.

#### 2.4. Contagem de células polimorfonucleares no fluido de lavagem broncoalveolar

As células totais do BAL foram contadas por meio de câmara de Neubauer. O volume do lavado broncoalveolar foi medido e centrifugado. As células obtidas por centrifugação foram suspensas novamente em 1 mL de salina e depois diluídas 1:10 em solução de Turk para contagem. A contagem diferencial foi realizada em esfregaço da mesma amostra de células, em lâminas e coloração de Leishman. A fixação das células em lâminas foi realizada por meio de citocentrifugação.

#### *2.5. Medida da concentração de TNF-alfa no tecido pulmonar*

As dosagens de TNF-alfa no tecido pulmonar foram realizadas utilizando-se o método de ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), conforme Imai et al.<sup>31</sup> e protocolo fornecido pelo fabricante (PharMingen®). O método de ELISA utilizou anticorpo policlonal de cabra anti-TNF-alfa como anticorpo de captura na concentração de 4 µg/mL e anticorpo de cabra policlonal anti TNF-alfa biotilado como anticorpo de revelação.

#### *2.6. Manipulação dos pulmões e Histologia Pulmonar*

Antes do término do experimento, os animais receberam 1 mL de heparina e foram sacrificados com a administração intravenosa rápida de cetamina. Após o sacrifício, o tubo traqueal foi ocluído e o tórax aberto para excluir a presença de pneumotórax oculto, confirmar a posição dos cateteres vasculares e do tubo traqueal e coletar amostra para análise histológica e para lavado broncoalveolar. Nos animais nos quais foram realizados o lavado broncoalveolar, o brônquio fonte direito foi ligado por meio de fita cirúrgica, o bloco pulmão/coração removido e o pulmão esquerdo lavado duas vezes utilizando-se alíquota de 15 mL/Kg de salina normal. O fluido drenado foi coletado para análise do lavado broncoalveolar. Nos animais submetidos à análise histológica, o bloco traqueia/pulmão/coração foi removido, os pulmões e a traqueia separados do coração e o pulmão esquerdo dos animais não submetidos à lavagem broncoalveolar foram preenchidos com solução de formol a 10%. O preenchimento foi realizado por meio de coluna com equipo de soro com 30 cm de comprimento conectada a uma de suas extremidades a um frasco que continha formol e na outra a traqueia do animal. A partir desse sistema o formol gotejava por gravidade, lentamente, de forma a preencher os espaços alveolares, preservando sua arquitetura. Após período mínimo de

fixação de 24 horas, fragmentos eram embebidos em parafina e então realizados cortes axiais de pulmão que foram corados com hematoxilina e eosina e examinados por dois patologistas, de forma cega e independente. Em cada lâmina, o espécime foi dividido em duas zonas distintas, representando as regiões dependentes (dorsais) e não dependentes (ventrais) do pulmão. Dez campos microscópicos foram aleatoriamente selecionados para o exame, sendo cinco em cada região, totalizando 50 análises para cada animal. O dano histológico pulmonar foi quantificado por um escore composto de sete variáveis (inflamação alveolar e intersticial, hemorragia alveolar e intersticial, edema, atelectasia e necrose). A gravidade da lesão foi classificada para cada uma das sete variáveis da seguinte forma: sem lesão = 0, lesão em 25% do campo = 1, lesão em 50% do campo = 2, lesão em 75% do campo = 3, lesão difusa = 4. A pontuação máxima possível era de 28 e a mínima zero<sup>60,61</sup>.

### *2.7. Medida da peroxidação lipídica – Malondialdeído*

Concentrações de malondialdeído (MDA), marcador do dano oxidativo lipídico, foram medidas no fluido de lavagem pulmonar e no plasma utilizando o método de Esterbauer and Cheeseman<sup>62</sup>.

### *2.8. Determinação do Estresse Oxidativo Pulmonar*

O estresse oxidativo do tecido pulmonar foi avaliado pelo método da Capacidade Antioxidante Total (TAP) descrito por Aldini et al.<sup>63</sup>. Resumidamente, o método TAP validado por Beretta et al.<sup>64</sup>, determina capacidade antioxidante/estresse oxidativo, sendo o único que captura a rede de antioxidantes dos compartimentos lipofílico e hidrofílico e suas interações<sup>65</sup>. É baseado na geração de radical lipofílico (MeO-AMVN) e um substrato lipofílico oxidável (BODIPY) que, especificamente, mede a oxidabilidade do compartimento lipídico relacionado a ação de antioxidantes lipossolúveis e hidrossolúveis por meio de mecanismo de sinergismo e cooperação<sup>24</sup>.

Amostras de 100µL de plasma de cada amostra foram pipetadas e de 100 uL do Padrão de Fosfatidilcolina (PC) (PC1 e PC2) separadamente. No plasma e nos 2PC foram adicionados 300µL de PBS (pH 7,4 gelado), em seguida, adicionado a todas as amostras 100uL de Bodipy, após banho-maria foram pipetadas em todas as amostras 420uL de PBS e 80µL de AAPH. As amostras foram agitadas no vórtex e em seguida colocadas na placa onde foram analisadas no aparelho Victor X2, pelo programa WorkOut 2.5. Todo o

procedimento foi realizado sob luz indireta, além das amostras serem feitas em triplicata.

### 2.9. Variáveis analisadas

Protocolo com as variáveis que foram anotadas para cada animal foi anexado após as referências bibliográficas ( Anexo I). Resumidamente, foram analisadas:

- a) Variáveis hemodinâmicas: frequência cardíaca e pressão arterial média;
- b) Gasometria arterial: pH, PaO<sub>2</sub> e SaO<sub>2</sub>;
- c) Parâmetros ventilatórios: pressão inspiratória; pressão de platô; pressão expiratória final positiva, fluxo, fração inspirada de oxigênio, volume corrente, tempo inspiratório, frequência respiratória, pressão média das vias aéreas e amplitude de pressão;
- d) Mecânica pulmonar: complacência pulmonar na VMC.
- e) Dano oxidativo pulmonar: Malondialdeído e Capacidade Antioxidante Total
- f) Índices derivados para avaliar trocas gasosas: relação PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>, índice de oxigenação (FiO<sub>2</sub> x pressão média vias aéreas x 100/PaO<sub>2</sub>).
- g) Processo inflamatório alveolar: nível de TNF-alfa e contagem de polimorfonucleares no BAL.
- h) Histologia: descrito no item *Manipulação dos pulmões e Histologia Pulmonar*.

### 2.10. Análise Estatística

Variáveis com distribuição normal foram comparadas entre os diversos grupos experimentais por meio de análise de variância (ANOVA), com subsequentes comparações múltiplas entre pares por meio do teste de Bonferroni. Variáveis com distribuição não normal foram comparadas entre os diversos grupos por meio de ANOVA de Kruskal-Wallis, com subsequentes comparações pelo teste de Dunn. A análise do comportamento de uma variável ao longo do tempo, em caso de distribuição normal, foi avaliada por meio de ANOVA de medidas repetidas com comparação entre pares com o teste de Bonferroni e em caso de distribuição não normal foi utilizado o teste de medidas repetidas de Friedman, com comparações posteriores pelo método de Dunn. O teste *t* foi utilizado para comparar o número de lavagens pulmonares entre os grupos tratados. A significância estatística foi definida por  $p < 0,05$ .

## 3. Resultados

### 3.1. Hemodinâmica, Mecânica Pulmonar e Trocas Gasosas

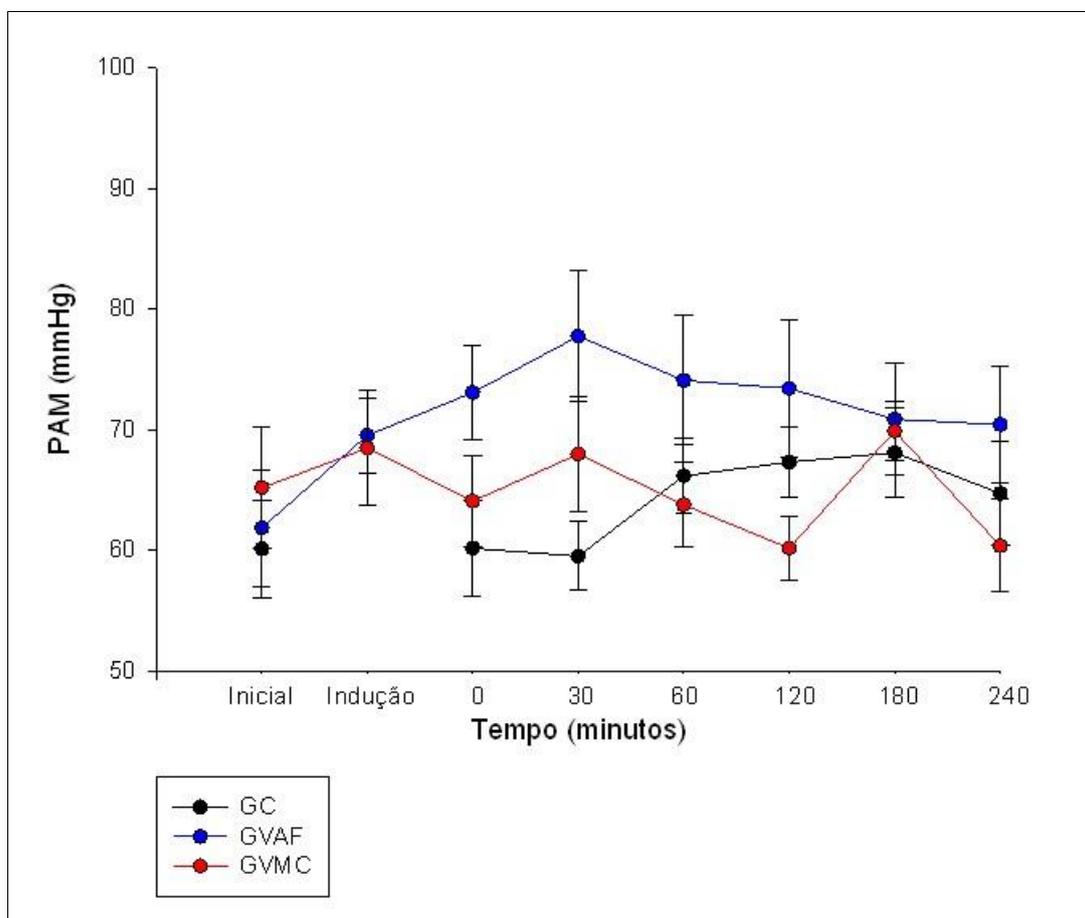
Não houve diferença estatística comparando os grupos quanto ao peso dos animais e o número de lavagens necessárias para a indução da lesão. Da mesma forma, não houve diferença significativa entre os grupos quanto à relação  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ , IO, complacência estática e pressão arterial média (PAM), comparando os momentos antes e depois da indução da lesão pulmonar. Comparando os momentos, antes e depois da lesão pulmonar dentro de cada grupo, houve piora significativa da oxigenação e diminuição da complacência pulmonar em ambos os grupos após a indução, como mostra a Tabela 1.

**Tabela 1:** Variáveis comparando os momentos de cada grupo em relação à  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ , índice de oxigenação (IO), complacência pulmonar, e pressão arterial média (PAM) antes e depois da lesão.

Variáveis	GC n=15	GVAF n=15		GVMC n=15	
	Valores basais	Antes da LP	Depois da LP	Antes da LP	Depois da LP
$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$	444,26 ± 59,45	445,31 ± 54,17	70,23 ± 21,35*	465,86 ± 48,30	68,93 ± 11,60*
IO (cmH <sub>2</sub> O/mmHg)	1,95 ± 0,32	2,25 ± 0,80	20,10 ± 12,92*	1,95 ± 0,46	14,23 ± 2,28*
Complacência (mL/cmH <sub>2</sub> O)	1,73 ± 0,62	2,06 ± 0,49	0,81 ± 0,19*	1,76 ± 0,41	0,74 ± 0,25*
PAM (mmHg)	60,13 ± 15,61	61,89 ± 14,47	69,55 ± 9,45*	65,2 ± 15,84	68,5 ± 15,05*

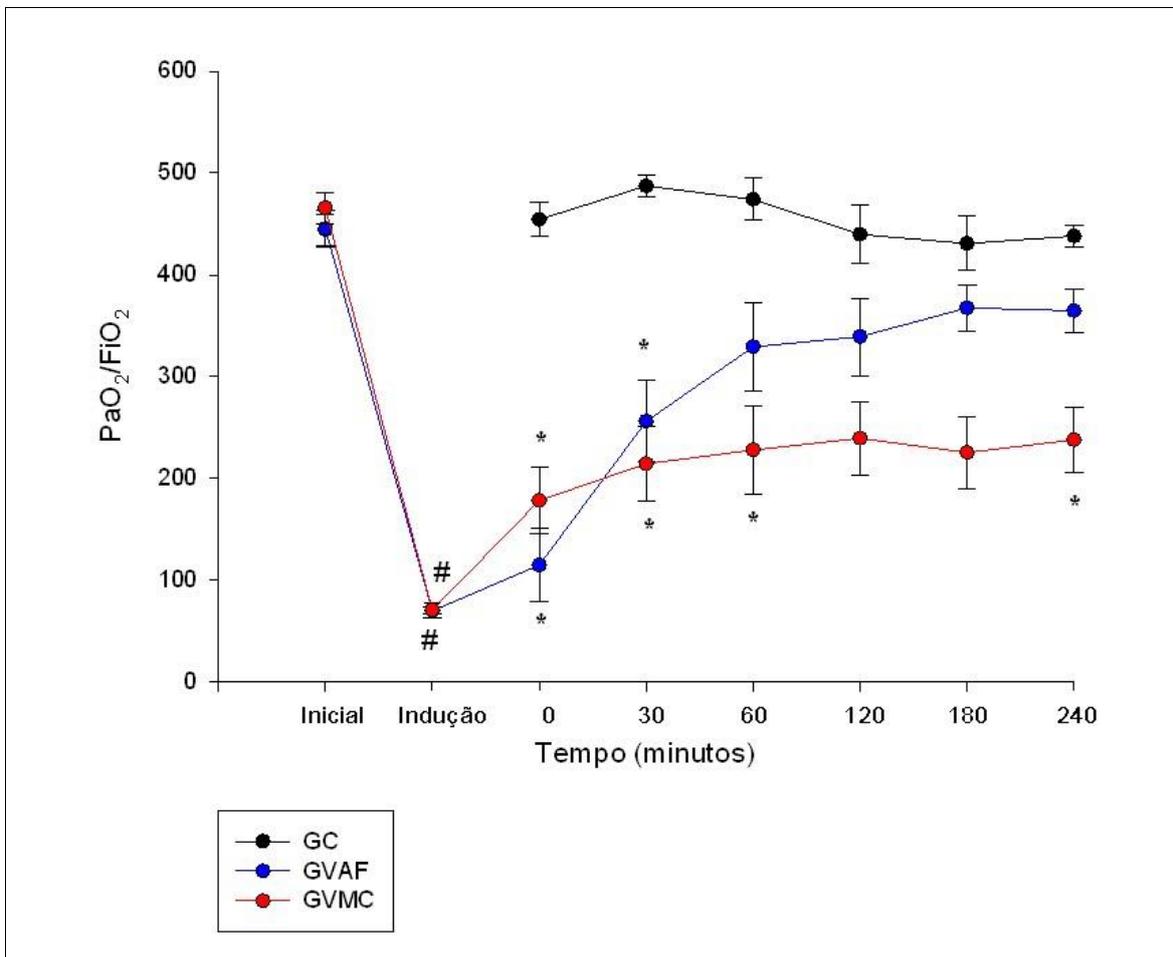
**Legenda:** n: número de animais; LP: lesão pulmonar;  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ : relação  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ;  $\text{FiO}_2$ : Fração inspirada de oxigênio; IO: Índice de oxigenação; PAM: Pressão arterial média; VMC: grupo ventilação mecânica convencional; VAF: grupo ventilação oscilatória de alta frequência. \*:  $p < 0,05$  comparando os momentos antes e depois da indução.

Na avaliação do estado hemodinâmico, observou-se que a PAM não foi estatisticamente diferente entre os momentos ao longo do experimento, indicando homogeneização dos grupos e controle rigoroso da variável, utilizando, quando necessário, administração de drogas vasoativas, como mostra a figura 2.



**Figura 2:** Evolução da pressão arterial média (PAM) ao longo do tempo para os grupos experimentais. Os dados são apresentados como média  $\pm$ SD. Não houve diferença estatística significativa entre os momentos e na comparação entre os grupos ( $p > 0,05$ ). GC: grupo controle; GVMC: grupo ventilação mecânica convencional protetora; GVAF: grupo ventilação oscilatória de alta frequência.

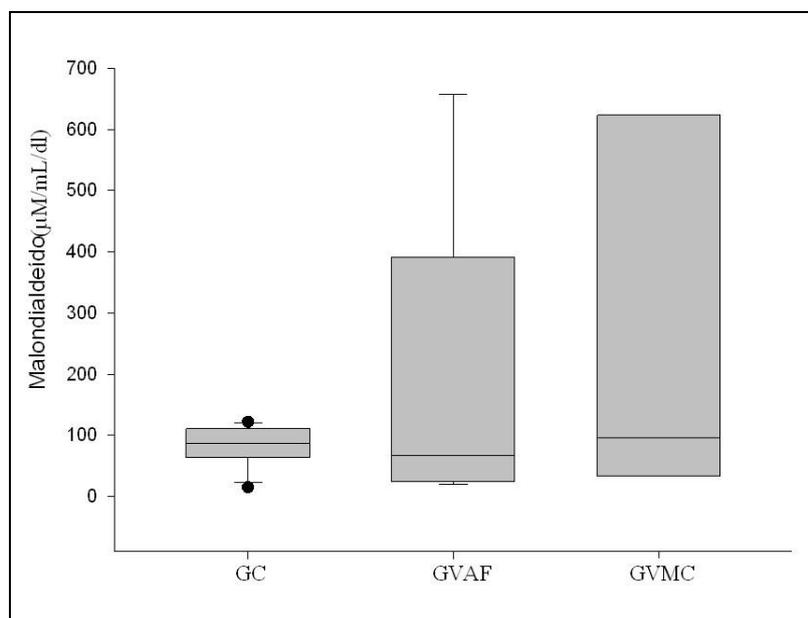
Após a indução da lesão, os grupos evoluíram com hipoxemia significativa em relação ao início do experimento. Após 4 horas de ventilação mecânica, o GVAF mostrou melhora significativa da oxigenação quando comparado ao GVMC, apresentando relação  $PaO_2/FiO_2$  semelhante aos momentos antes da indução da lesão pulmonar e em relação ao GC, como mostra a figura 3.



**Figura 3:** Evolução da relação PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> no período experimental (até 240 minutos).  
 \* p<0,05 em relação ao GC, #p<0,05 em relação ao momento inicial. Testes estatísticos: para comparar os grupos, ANOVA com subsequente análise pelo teste de Dunn.

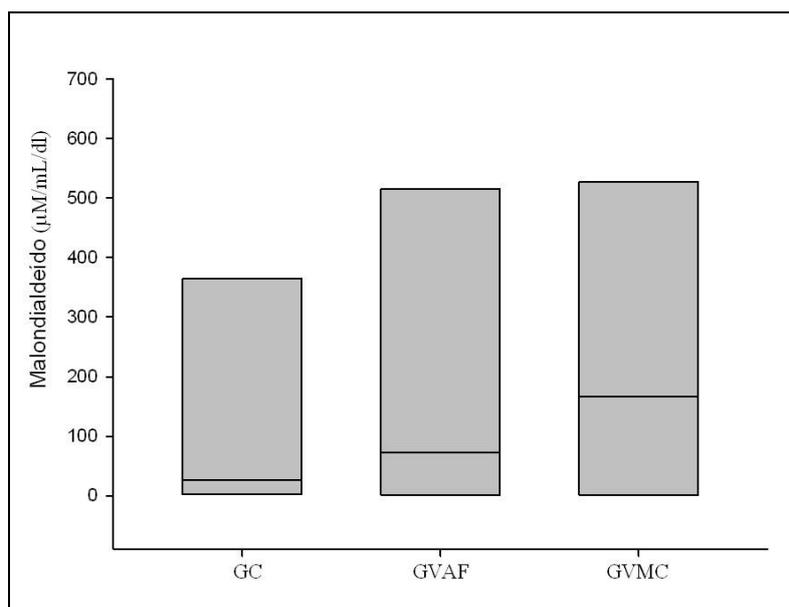
### 3.2. Lesão Pulmonar Oxidativa

As concentrações de malondialdeído (MDA) foram utilizadas como um dos métodos de avaliação do estresse oxidativo. Não houve diferença significativa entre os grupos quando o MDA foi avaliado no plasma, e quando avaliado no BAL, (ilustrado nas figuras 4 e 5) porém apresentou tendência a menores valores para o GVAf [GC: 87,38 (64,20 - 106,34) > GVAf: 67,63 (26,40 - 327,60) < GMVC: 95,92 (34,49 - 599,06); p>0,05], como mostra a figura 4.



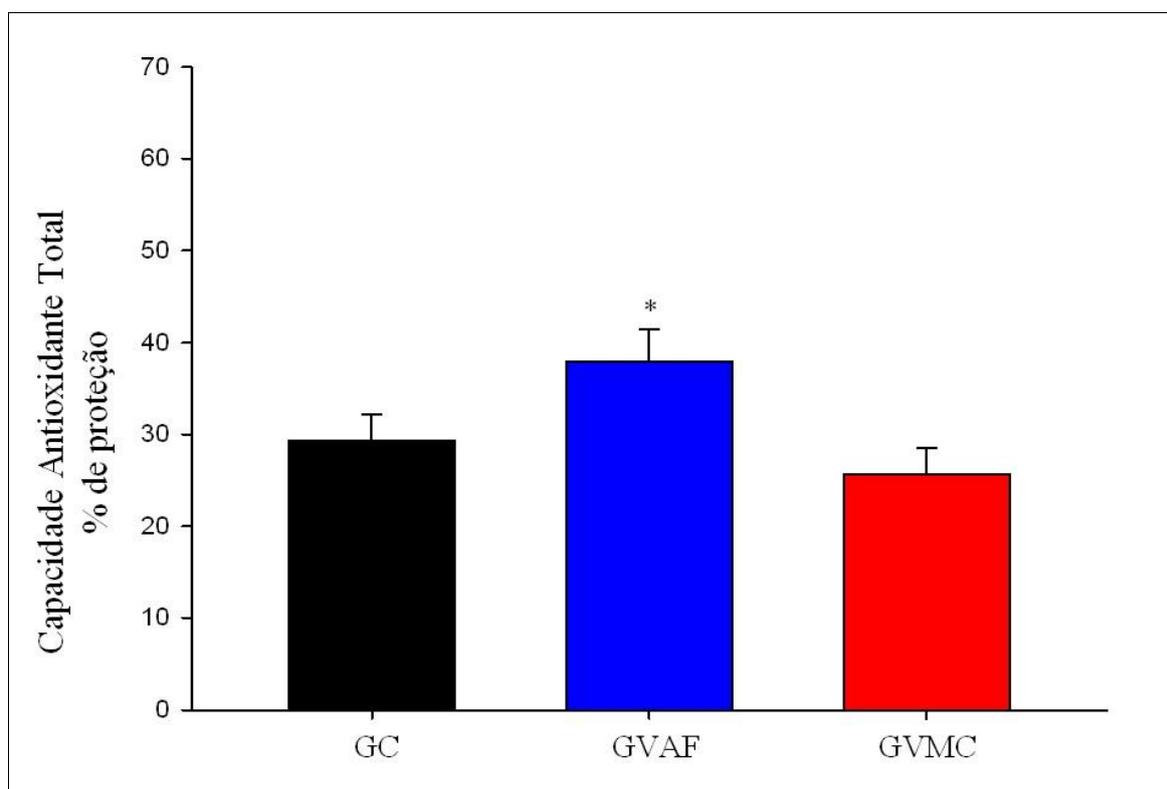
**Figura 4:** Representação dos níveis plasmáticos de malondialdeído em cada grupo. As barras acima e abaixo dos retângulos indicam os percentis 25 e 75. Teste estatístico: ANOVA on ranks Kruskal-Wallis.

E quando analisada as concentrações de malondialdeído no BAL também não houve diferença estatisticamente significativa, porém houve tendência a menores valores para o GVAF em comparação com o GVMC [GC: 25,75 (2,74 - 291,86) < GVAF: 72,63 (0,75 - 449,64) < GVMC: 167,15 (1,85 - 462,20);  $p > 0,05$ ].



**Figura 5:** Representação da concentração de malondialdeído no lavado broncoalveolar ( $p > 0,05$ ). As barras acima e abaixo dos retângulos indicam os percentis 25 e 75. Teste estatístico: ANOVA on ranks Kruskal-Wallis.

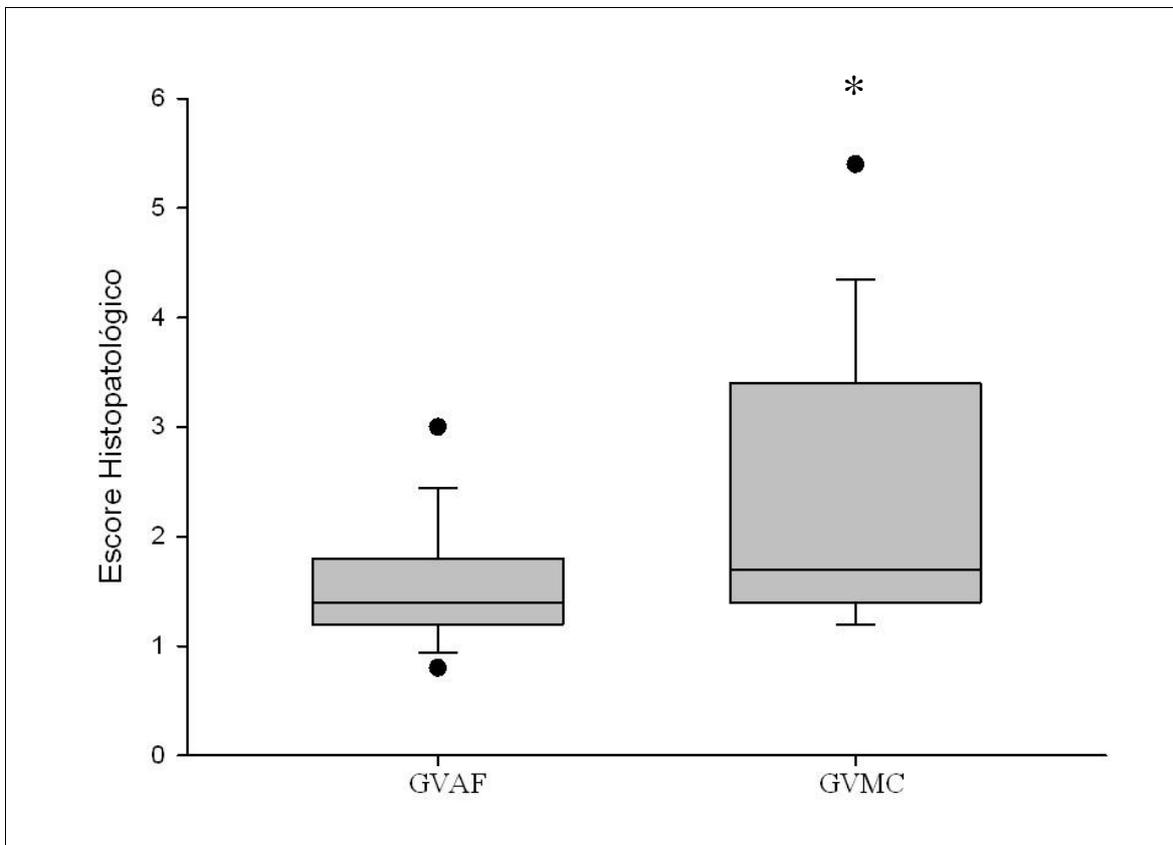
Ainda em relação ao estresse oxidativo, foi avaliada a capacidade antioxidante total no plasma (TAP), sendo que o GVAF apresentou proteção antioxidante semelhante ao GC e significativamente maior do que o GVMC, mostrando maior proteção antioxidante (GC:  $29,2 \pm 10,21$ ; GVAF:  $37,94 \pm 12,01$  > GVM:  $25,62 \pm 8,73$  % de proteção;  $p < 0,05$ ), como mostrado na figura 6.



**Figura 6:** Proteção pulmonar determinada pela capacidade antioxidante total (TAP) no plasma, para os grupos experimentais. \* $p < 0,05$  em relação ao grupo VMC. Teste ANOVA Student-Newman-Keuls.

### 3.3. Histopatologia

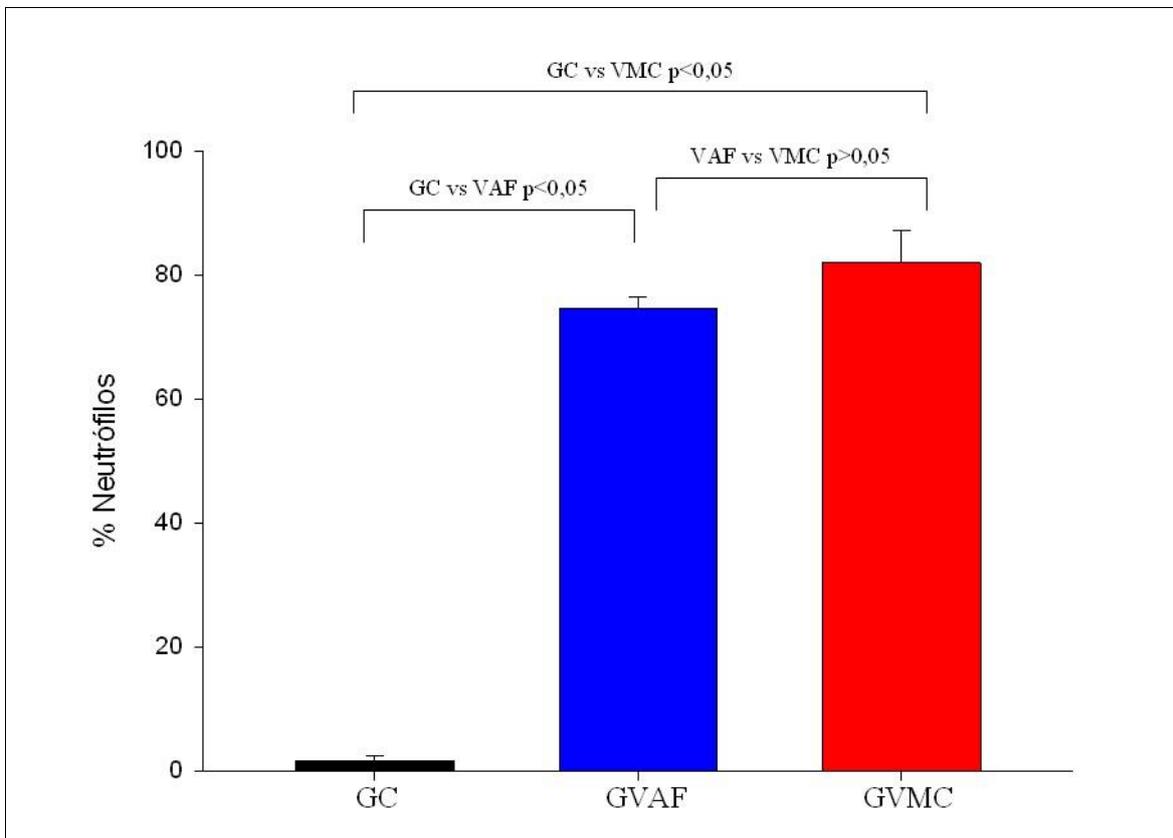
O GVAF apresentou escore de lesão histopatológica significativamente menor quando comparado ao GVMC, como mostrado na figura 7.



**Figura 7:** Escore de lesão histopatológica no tecido pulmonar [GVAF: 1,4 (1,2 – 1,8) < GVMC: 1,7 (1,4 – 3,2); \*:  $p < 0,05$ ]. As bordas inferiores dos retângulos indicam os percentis 25, as linhas horizontais dentro dos retângulos marcam as medianas e as porções superiores indicam os percentis 75. As barras acima e abaixo dos retângulos indicam os percentis 90 e 10, respectivamente, e os círculos preenchidos representam os valores individuais. Teste estatístico: Mann-Whitney.

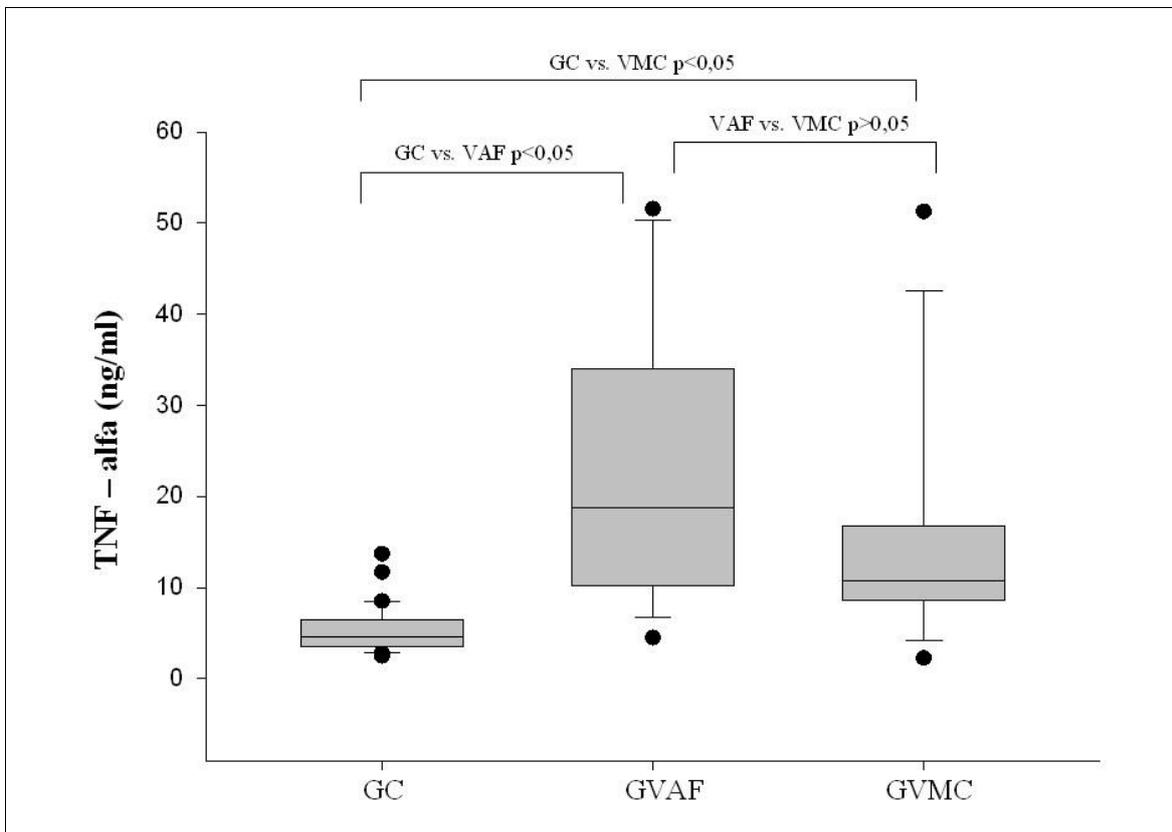
#### 3.4. Processo Inflamatório Alveolar

A contagem do número de neutrófilos no BAL não mostrou diferença significativa entre os grupos VAF e VMC ( $p > 0,05$ ), no entanto, ambos foram significativamente maiores quando comparados ao GC ( $p < 0,05$ ), como ilustrado na figura 8.



**Figura 8:** Porcentagem de neutr3filos no fluido do lavado broncoalveolar, (GC:  $1 \pm 2,5 <$  GVAF:  $74 \pm 7,25 =$  GVMC:  $84,5 \pm 25$ ;  $p < 0,05$ ). Teste estatístico: ANOVA Kruskal-Wallis on Ranks.

O mesmo ocorreu em rela33o aos n3veis de TNF-alfa no tecido pulmonar, n3o havendo diferen3a estatística entre os grupos com les3o pulmonar e ventilados com VOAF e VMC, sendo estes significativamente maiores quando comparados ao GC (figura 9).



**Figura 9:** Representação dos níveis de TNF-alfa (ng/ml) no tecido pulmonar. As bordas inferiores dos retângulos indicam os percentis 25, as linhas horizontais dentro dos retângulos marcam as medianas e as porções superiores indicam os percentis 75. As barras acima e abaixo dos retângulos indicam os percentis 90 e 10, respectivamente, e os círculos preenchidos representam os valores individuais. Teste estatístico: ANOVA Kruskal-Wallis on Ranks.

#### 4. Discussão

Enquanto alguns estudos avaliaram os efeitos da VMC protetora e da VOAF sobre a oxigenação, inflamação e lesão histopatológica pulmonar em modelos experimentais de LPA, poucos avaliaram estes efeitos quando a VOAF foi associada à posição prona.

Em relação à posição prona, vários estudos tem demonstrado que sua utilização como intervenção no tratamento da SDRA aumenta significativamente a oxigenação, melhorando a complacência pulmonar<sup>66,46</sup>, assim favorecendo a mecânica ventilatória. Em estudo de revisão publicado por Gattinoni et al.<sup>67</sup> os autores discutiram sobre os efeitos fisiopatológicos da SDRA e da posição prona, por meio da análise por imagens, mostrando que estudos randomizados e metanálises indicaram fortemente que há aumento 10% de sobrevida na população de pacientes com SDRA grave tratados com o emprego da posição prona. Isto pode ser confirmado pelo resultado de estudo

multicêntrico<sup>68</sup> que avaliou 466 pacientes com SDRA grave submetidos a sessões de posicionamento em prona por 16 horas com o desfecho sendo a proporção de pacientes que morreriam de qualquer causa em 28 dias após a inclusão. Os autores demonstraram que em pacientes com SDRA grave, a aplicação precoce do posicionamento em prona de forma prolongada diminuiu significativamente a taxa de mortalidade. Pelos benefícios que a posição prona pode oferecer, definimos a prona como posição principal para compararmos as ventilações em modelo de LPA induzida experimentalmente.

#### *4.1 Escolha da espécie animal e método de indução de lesão*

Na escolha do animal utilizado, havendo mais de uma alternativa de modelo para o estudo da SDRA, é preciso levar em consideração aspectos como facilidade de obtenção do animal, grau de dificuldade da técnica na manipulação, custo e experiência descrita na literatura<sup>69,32</sup>, e, por estas razões o coelho foi escolhido. Durante a manipulação dos animais, é necessário que a equipe domine a técnica de dissecação dos vasos sanguíneos, traqueostomia, lavagem pulmonar e ventilação mecânica, e que estes procedimentos ocorram de forma rápida e precisa, para que não haja sangramento ou hipóxia, provocando instabilidade hemodinâmica. Da mesma forma, a temperatura corporal é outro fator a ser controlado rigorosamente, pois a hipotermia também determina a evolução dos animais do ponto de vista metabólico e cardiovascular. Para tal, a monitoração contínua da temperatura retal e a utilização de bolsas térmicas foram importantes para garantir a estabilidade dos animais.

O modelo de lavagem com salina aquecida determina lesão pulmonar por remoção mecânica de surfactante com conseqüente distúrbio da relação ventilação-perfusão (V/Q). A mecânica ventilatória também se altera pelo comprometimento da complacência e aumento da resistência pulmonar, o que aumenta a permeabilidade capilar provocando edema alveolar<sup>70</sup>. No presente estudo, utilizamos, adicionalmente, a colocação dos animais em posição prona para avaliarmos os efeitos do posicionamento associado ao tratamento ventilatório mecânico.

O modelo de lavagem pulmonar com salina aquecida foi desenvolvido por Lachmann et al., em 1980<sup>59</sup> baseado na observação que a SDRA associa-se a redução de surfactante nos espaços alveolares e diminuição da concentração de proteínas associadas ao surfactante no lavado broncoalveolar. Assim, solução isotônica de salina aquecida é infundida nos pulmões e imediatamente removida, em lavagens sucessivas. Os ciclos de lavagem diminuem a concentração de lipídios no surfactante da superfície alveolar

alterando a tensão alveolar superficial. A substância surfactante é uma mistura complexa de proteínas e fosfolípídeos com várias funções fundamentais para os pulmões<sup>71</sup>. O surfactante diminui a tensão superficial e previne o colapso alveolar quando o volume pulmonar encontra-se reduzido. As proteínas do surfactante estabilizam o próprio surfactante e modulam a resposta do hospedeiro no alvéolo<sup>72</sup>. A lavagem com salina induz dano alveolar por dois mecanismos: 1) aumento do colapso alveolar, intensificando a LPIVM e 2) compromete a resposta de defesa alveolar. Muitos estudos combinaram este modelo com VM, criando, muitas vezes, um fator confusão quando se analisava qual elemento era responsável pela lesão alveolar, lavagem ou VM<sup>73</sup>. A adoção da VM convencional protetora neste estudo pode ter minimizado este viés.

Vários outros modelos foram descritos para a indução de SDRA em coelhos<sup>73</sup>, incluindo, entre outros: lesão por hiperóxica; administração intratraqueal de ácido oleico; uso subcutâneo de N-nitroso-N-metiluretano (NNNMU); instilação traqueal de ácido clorídrico; injeção de lipopolissacáride de *E. coli*. A lesão por hiperóxica tem efeitos muito variáveis dependendo da concentração de oxigênio e os animais precisam ser mantidos em ambiente fechado com altas concentrações de oxigênio por tempo prolongado, tornando o procedimento tecnicamente difícil. A injeção de ácido oleico produz edema e hemorragia pulmonar aguda e grave, sendo de reprodutibilidade difícil pela dificuldade de manutenção dos animais por mais de duas horas. A administração de NNNMU, por sua vez, requer adaptação do laboratório experimental, pois sua inalação induz lesão pulmonar grave nos técnicos e pesquisadores; além de necessitar de alto custo para sua realização, por esses motivos essa técnica encontra-se em desuso. A instilação de ácido clorídrico não foi utilizada pela escassez da literatura na aplicação em coelhos. No entanto, a injeção de *E. coli* vem sendo muito utilizada, porém em comparação com a lavagem pulmonar com solução salina, ainda é técnica de maior custo.

Assim, a lavagem pulmonar com salina aquecida foi o método de indução escolhido devido à ampla experiência da literatura com a técnica, facilidade de reprodução e na manipulação dos animais, segurança dos pesquisadores, baixo custo e experiência dos pesquisadores envolvidos que já utilizaram esta técnica em outros estudos de indução de SDRA<sup>31,32,34,35,58</sup>.

Para garantir que a lesão pulmonar tivesse efetivamente ocorrido, escolhemos o nível de relação  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 100\text{mmHg}$ , semelhante a alguns estudos experimentais que também utilizaram este método de lesão pulmonar com os mesmos níveis de oxigenação para definir a lesão<sup>32,33</sup> e também porque esse nível indica SDRA grave na prática clínica<sup>1</sup>.

#### 4.2. *Características gerais dos grupos*

Os animais dos três grupos não diferiram quanto as variáveis de oxigenação ( $\text{PaO}_2/\text{FO}_2$  e IO), complacência pulmonar estática e PAM antes de serem submetidos à indução da lesão, da mesma forma, não diferiram estatisticamente quanto ao peso e ao número de lavagens, sendo tal homogeneidade, importante para garantir que os grupos pudessem ser comparados.

Após confirmação do modelo, comprovamos a hipoxemia apresentada pelos animais por meio da redução na relação  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ , lembrando que a  $\text{FiO}_2$  foi mantida em 1,0 para todos os animais, de forma a tornar a relação  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  igual a  $\text{PaO}_2$ . No entanto, após as 4 horas de ventilação mecânica, o GVAF mostrou melhora significativa da oxigenação, apresentando valores semelhantes aos anteriores da indução da lesão, o que corrobora com estudo anterior do nosso grupo<sup>35</sup>, também realizado em coelhos com LPA induzida pela infusão de salina aquecida, o qual mostrou melhora significativa da oxigenação dos animais ventilados com VOAF em relação ao grupo em VMC protetora em posição supina.

O estresse oxidativo foi avaliado pela dosagem de MDA, biomarcador da peroxidação lipídica<sup>74</sup> dosado no plasma e no lavado broncoalveolar e também pelo estudo da TAP no plasma, método este que avalia a porcentagem de proteção antioxidante nos compartimentos aquoso e lipídico celular. Em relação ao estresse oxidativo e capacidade antioxidante, houve tendência a menores valores para o GVAF na análise do MDA plasmático e melhora significativa do TAP, no GVAF em comparação aos animais do GVMC, sendo que o GVAF apresentou valores de TAP maiores inclusive que o GC. Acreditamos que esse comportamento do GVAF em relação ao TAP tenha ocorrido, pois a ventilação mecânica convencional por si só, pode lesionar o pulmão saudável, devido ao movimento de abertura e fechamento cíclicos, enquanto que a VOAF, com seus benefícios em relação ao recrutamento alveolar, proporciona maior proteção pulmonar<sup>24</sup>. Este resultado está em acordo com os achados de Ronchi et al. 2011<sup>35</sup> que também utilizaram esse método e obtiveram no grupo ventilado com VOAF valores semelhantes ao grupo controle e significativamente superiores ao grupo em ventilação convencional.

Os achados histopatológicos típicos da SDRA neste modelo incluem: edema (aumento da permeabilidade a proteínas); infiltrado polimorfonuclear no espaço alveolar; formação de membrana hialina e congestão capilar<sup>75</sup>, os quais foram avaliados por meio do escore de inflamação, hemorragia, edema, atelectasia e necrose<sup>76,61</sup> demonstrando

neste estudo que o GVAF apresentou redução da lesão histopatológica quando comparado ao GVMC. Em trabalho que utilizou porcos com lesão pulmonar induzida com salina aquecida<sup>77</sup> foi observado que os animais tratados com VOAF exibiram sinais de inflamação significativamente menores quando comparados com os animais ventilados com VMC protetora no final do período de ventilação de 24 horas.

Em relação ao processo inflamatório alveolar é necessário considerar que a lavagem com salina aquecida provoca inflamação com aumento da permeabilidade vascular e ativação de mediadores inflamatórios como o TNF-alfa no lavado broncoalveolar<sup>31,78</sup>. Em nosso trabalho, não houve diferença estatística em relação à medida de TNF-alfa no tecido, além disso, observamos que os valores da porcentagem de neutrófilos encontrados no BAL não foram estatisticamente diferentes na comparação dos grupos de estudo, apesar de haver tendência a menores valores para o grupo VOAF. Jian et al.<sup>79</sup> também avaliaram a inflamação alveolar e observaram que a ventilação oscilatória de alta frequência reduziu a infiltração de neutrófilos e o acúmulo de eritrócitos nos espaços alveolares. Acreditamos que a semelhança entre os grupos encontrados em nosso trabalho, não tenha alcançado significância estatística devido à homogeneidade que a posição prona proporciona por si só, redistribuindo as forças compressivas aplicadas no pulmão, levando a melhora da oxigenação e do recrutamento como um todo<sup>67</sup>.

## **5. Conclusão**

O presente estudo demonstrou que a ventilação oscilatória de alta frequência associada à posição prona proporciona melhora da oxigenação e leva à redução do dano oxidativo e a atenuação de lesão pulmonar histopatológica comparada com a ventilação mecânica convencional protetora associada a posição prona em lesão pulmonar induzida experimentalmente.

## 6. Referências Bibliográficas

1. Authors/Writing Committee and the Members of the ARDS Definition Task Force. Acute Respiratory Distress Syndrome. The Berlin Definition. *JAMA*. 2012;307:2526-33.
2. Redding GJ. Current concepts in adult respiratory distress syndrome in children. *Curr Opin Pediatr* 2001; 13:261-266.
3. Fioretto JR, Ferrari GF, Ricchetti SMQ, et al. Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo em Crianças: Incidência, Mortalidade e Trocas Gasosas. *RBTI* 2001; 2:58-62.
4. Dahlem P, van Aalderren WMC, Bos AP. Pediatric acute lung injury. *Pediatric respiratory reviews* 2007; 8: 348-362.
5. Gattinoni L, Presenti A, Bombino M. Relationships between lung computed tomographic density, gas exchange and PEEP in acute respiratory failure. *Anesthesiology* 1988;69:824-832.
6. Kolobow T, Moretti MO, Fumagelli R. Severe impairment of lung function induced by high peak airway pressure during mechanical ventilation. *Am Rev Respir Dis* 1987;135:312-5.
7. Hickling KG, Henderson SJ, Jackson R. Low mortality associated with low volume permissive hypercapnia in severe adult respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 1990;16:372-377.
8. Malarkkan N, Snook NJ, Lumb AB. New aspects of ventilation in acute lung injury. *Anaesthesia*. 2003;58:647-667.
9. Ranieri VM, Giunta F, Suter PM, et al. Mechanical ventilation as a mediator of multisystem organ failure in acute respiratory distress syndrome. *JAMA* 2000;284:43-44.
10. Tsuno K, Miura K, Takeya M, et al. Histopathologic pulmonary changes from mechanical ventilation at high peak airway pressures. *Am Rev Respir Dis* 1991;143:1115-1120.
11. Tremblay L, Valenza F, Ribeiro SP, et al. Injurious ventilator strategies increase cytokines and c-fos m-RNA expression in an isolated rat lung model. *J Clin Invest* 1997;99:944-952.
12. Parker JC, Hernandez LA, Peevy KJ. Mechanisms of ventilator-induced lung injury. *Crit Care Med* 1993;21:131-143.
13. Dreyfuss D, Basset G, Soler P, et al. Intermittent positive-pressure hyperventilation with high inflation pressures produces pulmonary microvascular injury in rats. *Am Rev Respir Dis* 1985;132:880-884.
14. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2000; 342:1301-1308.
15. Chan KPW and Stewart TE. Clinical use of high-frequency oscillatory ventilation in adult patient with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 2005;3(Suppl.):S170-S174.
16. Mehta S, MacDonald R, Hallett DC, et al. Acute oxygenation response to inhaled nitric oxide when combined with high-frequency oscillatory ventilation in adults with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 2003;31:383-389.
17. Crotti S, Mascheroni D, Caironi P, et al. Recruitment and Derecruitment during Acute Respiratory Failure . A Clinical Study. *Am J Respir Crit Care Med* 2001 164: 131-140.
18. Richard JC, Maggiore SM, Jonson B, et al. Influence of Tidal Volume on Alveolar Recruitment. Respective role of PEEP and a recruitment maneuver. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1609-1613.
19. Arnold JH, Hanson JH, Toro-Figuero LO, et al. Prospective, randomized comparison of high-frequency oscillatory ventilation and conventional ventilation in pediatric

- respiratory failure. *Crit Care Med.* 1994;22:1530-9. Comment in: *Crit Care Med.* 1994;22:1521-1524. *Crit Care Med.* 1995;23:1443-1445. *Crit Care Med.* 1995;23:1445-1446. *Crit Care Med.* 1995;23:1606.
20. Froese AB, McCulloch PR, Sugiura M, et al. Optimizing alveolar expansion prolongs the effectiveness of exogenous surfactant therapy in the adult rabbit. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:569-577.
  21. Hemmila MR and Napolitano LM. Severe respiratory failure: advanced treatment options. *Crit Care Med* 2006;34(Suppl):S278-S290.
  22. Fort P, Farmer C, Westerman J, et al. High-frequency oscillatory ventilation for adult respiratory distress syndrome: A pilot study. *Crit Care Med* 1997; 25:937-947.
  23. Mehta S, Lapinsky SE, Hallet DC, et al. Prospective trial of high-frequency oscillatory ventilation for acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 2001; 29:1360-1369.
  24. Derdak S, Mehta S, Stewart TE, et al. High-frequency oscillatory ventilation for acute respiratory distress syndrome in adults: A randomized controlled trial. *Am J Resp Crit Care Med* 2002; 166:801-808.
  25. Mehta S, Granton J, MacDonald RJ, et al. High-frequency oscillatory ventilation in adults: The Toronto experience. *Chest* 2004; 126:518-527.
  26. Gerstmann DR, Minton SD, Stoddard RA, et al. The Provo multicenter ventilation trial: Improved pulmonary and clinical outcome in respiratory distress syndrome. *Pediatrics* 1996; 98:1044-1057.
  27. Plavka R, Kopecky P, Sebron V, et al. A prospective randomized comparison of mechanical ventilation and very early high frequency oscillatory ventilation in extremely premature newborn with respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 1999; 25:68-75.
  28. Ben Jaballah N, Khaldi A, Mnif K, et al. High-frequency oscillatory ventilation in pediatric patients with acute respiratory failure. *Pediatr Crit Care Med* 2006; 7:362-367.
  29. Rosenbert RB, Broner CW, Peters KJ, et al. High-frequency ventilation for acute pediatric respiratory failure. *Chest* 1993; 104:1216-1221.
  30. Ben Jaballah N, Mnif K, Bouziri A, et al. High-frequency oscillatory ventilation in pediatric patients with acute respiratory distress syndrome – Early rescue use. *Eur J Pediatr* 2005; 164:17-21.
  31. Imai Y, Nakagawa S, Ito Y, et al. Comparison of lung protection strategies using conventional and high-frequency oscillatory ventilation. *J Appl Physiol* 2001; 91:1836-1844.
  32. Rotta AT, Gunnarsson B, Fuhrman BP, et al. Comparison of lung protective ventilation strategies in a rabbit model of acute lung injury. *Crit Care Med* 2001; 29:2176-2184.
  33. Viana MEG, Sargentelli GA, Arruda ALM, et al. The impact of mechanical ventilation strategies that minimize atelectrauma in an experimental model of acute lung injury. *J Pediatr (Rio J)* 2004; 80:189-196.
  34. Meyer J, Cox PN, Mckerlie C, et al. Protective strategies of high-frequency oscillatory ventilation in a rabbit model. *Pediatr Res* 2006; 60:401-406.
  35. Ronchi CF, Ferreira ALA, Copos FJ, et al. High-frequency oscillatory ventilation attenuates oxidative lung injury in a rabbit model of acute lung injury. *Experimental Biology and Medicine* 2011; 236: 1188-1196.
  36. Casado-Flores J, Azagra AM, Ruiz-López MJ, et al. Pediatric ARDS: effect of supine-prone postural changes on oxygenation. *Intensive Care Med* 2002; 28: 1792-1796.
  37. Bryan AC. Comments of a devil's advocate. *Am Rev Respir Dis* 1974;110:143-144.
  38. Richard JC, Janier M, Lavenne F, et al. Effect of position, nitric oxide, and almitrine on lung perfusion in a porcine model of acute lung injury. *J Appl Physiol* 2002; 93:2181-2191.

39. Cakar N, der Kloot TV, Youngblood M, et al. Oxygenation Response to a Recruitment Manouever during supine and prone Positions in a Oleic Acid-Induced Lung Injury Model. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1949-1956.
40. Pelosi P, Tubiolo D, Mascheroni D, et al. Effects of the prone position on respiratory mechanics and gas exchange during acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:387-393.
41. Guerin C, Badet M, Rosselli S, et al: Effects of prone position on alveolar recruitment and oxygenation in acute lung injury. *Intensive Care Med* 1999; 25:1222-1230.
42. Albert R, Hubmayr R: The prone position eliminates compression of the lungs by the heart. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1660-1665.
43. Gu erin C, Gaillard S, Lemasson S, et al. Effects of systematic prone positioning in hypoxemic acute respiratory failure: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 292: 2379-2387.
44. Mentezepoulos SD, Roussos C, Zakynthinos E. Prone position reduces lung stress and strain in severe acute respiratory distress syndrome. *Eur Resp J* 2005; 25: 1046-1056.
45. Gu erin C. Ventilation in the prone position in patients with acute lung injury/ acute respiratory distress syndrome. *Curr Opin Crit Care* 2006; 12: 50-54.
46. Romero CM, Cornejo RA, G alvez R, et al. Extended prone position ventilation in severe acute respiratory distress syndrome: a pilot feasible study. *J Crit Care* 2009; 24: 81-88.
47. Relvas MS, Silver PC, Sagy M. Prone positioning of pediatric patients with ARDS results in improvement in oxigenation IF maintained > 12 h daily. *Chest* 2003; 124:269-274.
48. Casado-Flores J, Azagra AM, Ruiz-Lopez MJ, et al. Pediatric ARDS: effect of supine-prone postural changes on oxigenation. *Intensive Care Med* 2002; 28: 1798-1796.
49. Curley MAQ, Hibberd PL, Fineman LD, et al. Effect of prone positioning on clinical outcomes in children wiyh acute lung injury. A randomized controlled trial. *JAMA* 2005; 294: 229-237.
50. Wells DA, Gillies D, Fitzgerald DA. Cambios de posicion para el syndrome de dificultad respiratoria aguda en reci en nacidos y ninos hospitalizados. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;
51. Kopterides P, Siempos II, Amarganidis A. Prone positioning in hipoxemic respiratory failure: Meta-analysis of randomized controlled trials. *J Crit Care* 2009; 24: 89-100.
52. Alsaghir AH, Martin CM. Effect of prone positioning in patients with acute respiratory distress syndrome: A meta-analysis. *Crit Care Med* 2008; 36: 603-609.
53. Sud S, Sud M, Friedrich JO, et al. Effect of mechanical ventilation in the prone position on clinical outcomes in patients with acute respiratory failure: a systematic review and meta-analysis. *CMAJ*. 2008 Apr 22;178:1153-1161.
54. Valenza F, Guglielmi M, Maffioletti M, et al. Prone position delays the progression of the ventilator-induced lung injury in rats: Does lung strain distribution play a role? *Crit Care Med*. 2005; 33: 361-367.
55. Papazian L, Gainnier M, Marin V, et al. Comparison of prone positioning and high-frequency oscillatory ventilation in patients with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 2005; 33:2162-68.
56. Demory D, Michelet P, Arnal JM, et al. High-frequency oscillatory ventilation following prone positioning prevents a further impairment in oxygenation. *Crit Care Med* 2007; 35:106-111.
57. Brederlau J, Muellenbach R, Kredel M, et al. High frequency oscillatory ventilation and prone positioning in a porcine model of lavage-induced acute lung injury. *BMC Anesthesiol*. 2006 Apr 3;6:4.
58. Fioretto JR, Batistella RF, Bonatto RC, et al. Prone positioning attenuates lung inflammatory injury in an acute lung injury model in rabbits under high-frequency

- oscillatory ventilation. *Critical Care Medicine* 2010; 38:A45. doi: 10.1097/01.ccm.0000390903.16849.8c.).
59. Lachmann B, Robertson B and Vogel J. In vivo lung lavage as an experimental model of the respiratory distress syndrome. *Acta Anaesth Scand* 1980; 24:231-236.
  60. Mrozek JD, Smith KM, Bing DR, et al. Exogenous surfactant and partial liquid ventilation: physiologic and pathologic effects. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:1058-1065.
  61. Rotta AT, Gunnarsson B, Hernan LJ, et al. Partial liquid ventilation influences pulmonary histopathology in an animal model of acute lung injury. *J Crit Care* 1999; 14:84-92.
  62. Esterbauer H, Cheeseman KH: Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malondialdehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 1990; 186:407–421.
  63. Aldini G, Yeum KJ, Russell RM, et al. A method to measure the oxidizability of both the aqueous and lipid compartments of plasma. *Free Radic Biol Med* 2001; 31:1043–1050.
  64. Beretta G, Aldini G, Facino RM, et al. Total Antioxidant Performance (TAP): a validated fluorescence assay for the measurement of plasma oxidizability. *Anal Biochem* 2006; 354:290-298.
  65. Lamb NJ, Gutteridge JM, Baker C, Evans TW, Quinlan GJ. Oxidative damage to proteins of bronchoalveolar lavage fluid in patients with acute respiratory distress syndrome: evidence for neutrophil-mediated hydroxylation, nitration, and chlorination. *Crit Care Med* 1999; 27:1738-1744.
  66. Rival et al. Prone position and recruitment maneuver: the combined effect improves oxygenation. *Critical Care* 2011, 15:R125.
  67. Gattinoni L, Pesenti A, Carlesso E. Body position changes redistribute lung computed-tomographic density in patients with acute respiratory failure: impact and clinical fallout through the following 20 years. *Intensive Care Med* 2013; 39:1909–1915.
  68. Guérin C, Reignier J, Richard J-C, et al. Prone Positioning in Severe Acute Respiratory Distress Syndrome. *N Engl J Med* 2013; 368;23.
  69. Muir WW. Manual de anestesia veterinária. *Anestesia em coelhos*. 3ª Ed. São Paulo: Artmed; 1993. p312-316.
  70. Maurenbrecher H, Lamy M, Deby-Dupont G et al. An animal model of response and nonresponse to inhaled nitric oxide in endotoxin-induced lung injury. *Chest* 2001; 120:573–581.
  71. Hawgood S, Clements JA. Pulmonary surfactant and its apoproteins. *J Clin Invest* 1990; 86: 1–6.
  72. Wright JR. Immunomodulatory functions of surfactant. *Physiol Rev* 1997; 77: 31–962.
  73. Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 295: L379–L399.
  74. Vahlquist A and Duvic M. Retinoids and carotenoids in dermatology. *JAMA* 2008; 299:1611-1612.
  75. Abraham E, Carmody A, Shenkar R, Arcaroli J. Neutrophils as early immunologic effectors in hemorrhage- or endotoxemia-induced acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;279:L1137-45.
  76. Mrozek JD, Smith KM, Bing DR, et al. Exogenous surfactant and partial liquid ventilation: physiologic and pathologic effects. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:1058-1065
  77. Muellenbach RM, Kredel M, Said HM, Klosterhalfen B, Zollhoefer B, Wunder C, Redel A, Schmidt M, Roewer N, Brederlau J. High-frequency oscillatory ventilation reduces lung inflammation: a large-animal 24-h model of respiratory distress. *Intensive Care Med* 2007; 33:1423–1433.
  78. Imai T, Fujita T. Unilateral lung injury caused by ischemia without hypoxia in isolated

- rat lungs perfused with buffer solution. *J Lab Clin Med* 1994; 123: 830–836.
79. Jian MY, Koizumi T, Yokoyama T, Tsushima K, Kubo K. Comparison of acid-induced inflammatory responses in the rat lung during high frequency oscillatory and conventional mechanical ventilation. *Inflamm Res* 2010;59:931–937.

## CONTROLE DURANTE A INDUÇÃO DE SDRA

Data: \_\_\_\_\_ Animal n°: \_\_\_\_\_ Peso: \_\_\_\_\_ Volume \_\_\_\_\_  
 lavagem: \_\_\_\_\_  
 Grupo de estudo: \_\_\_\_\_

<b>Hora</b>							
<b>N° lavagens</b>	<b>Pré-indução</b>						
<b>VC (ml/kg)</b>							
<b>MAP</b>							
<b>P inspiratória</b>							
<b>Peep</b>							
<b>FR</b>							
<b>pH</b>							
<b>PaO<sub>2</sub></b>							
<b>Saturação</b>							
<b>IO</b>							
<b>PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub></b>							
<b>Complacência Estática</b>							
<b>FC</b>							
<b>PAM</b>							
<b>Temperatura</b>							
<b>Pancurônio</b>							

## CONTROLE DAS LAVAGENS

	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	8 <sup>a</sup>	9 <sup>a</sup>	10 <sup>a</sup>	11 <sup>a</sup>	12 <sup>a</sup>	13 <sup>a</sup>	14 <sup>a</sup>	15 <sup>a</sup>	16 <sup>a</sup>
<b>Infundido</b>																
<b>Retirado</b>																

<b>Hora</b>						
<b>Tempo (min.)</b>	<b>0</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>120</b>	<b>180</b>	<b>240</b>
<b>Posição</b>						
<b>Amplitude</b>	22	22	22	22	22	22
<b>MAP</b>	15	15	15	15	15	15
<b>FR</b>						
<b>pH</b>						
<b>PaO<sub>2</sub></b>						
<b>Saturação</b>						
<b>IO</b>						
<b>PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub></b>						
<b>FC</b>						
<b>PAM</b>						
<b>Temperatura</b>						
<b>Pancurônio</b>						
<b>Peso do pulmão direito (g)</b>						

**VOAF + POSIÇÃO PRONA EM SDRA EM COELHOS (GVAF)**

$$IO = [(FiO_2 \times MAP) / PaO_2] \times 100 \quad MAP = [(Pip \times Ti) + (Peep \times Te)] / (Ti + Te)$$

<b>Hora</b>						
<b>Tempo (min.)</b>	<b>0</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>120</b>	<b>180</b>	<b>240</b>
<b>Posição</b>						

<b>PEEP</b>	8	8	10	10	10	10
<b>PIP</b>						
<b>MAP</b>						
<b>FR</b>						
<b>pH</b>						
<b>PaO<sub>2</sub></b>						
<b>Sat.</b>						
<b>IO</b>						
<b>Complacência</b>						
<b>PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub></b>						
<b>FC</b>						
<b>PAM</b>						
<b>Temperatura</b>						
<b>Pancurônio</b>						
<b>Peso do pulmão direito (g)</b>						

**VMC + POSIÇÃO PRONA EM SDRA EM COELHOS (GVMC) ou VMC + POSIÇÃO SUPINA (GC)**

IO = Índice de Oxigenação =  $[(FiO_2 \times MAP) / PaO_2] \times 100$

MAP =  $[(Pip \times Ti) + (Peep \times Te)] / (Ti + Te)$