



EFEITOS DA SEDAÇÃO E BLOQUEIO NEUROMUSCULAR EM RATOS COM  
SÍNDROME DO DESCONFORTO RESPIRATÓRIO AGUDO

Liliana Guerrero Ayala

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientadores: Antonio Giannella-Neto

Alysson Roncally Silva Carvalho

Rio de Janeiro  
Setembro de 2014

EFEITOS DA SEDAÇÃO E BLOQUEIO NEUROMUSCULAR EM RATOS COM  
SÍNDROME DO DESCONFORTO RESPIRATÓRIO AGUDO

Liliana Guerrero Ayala

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO  
LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE)  
DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS  
REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM  
CIÊNCIAS EM ENGENHARIA BIOMÉDICA.

Examinada por:

---

Prof. Alysson Roncally Silva Carvalho, D.Sc.

---

Profa. Liliam Fernandes de Oliveira, D.Sc.

---

Prof. Hugo Castro Caire Faria Neto, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL  
SETEMBRO DE 2014

Ayala, Liliana Guerrero

Efeitos da Sedação e Bloqueio Neuromuscular em Ratos com Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo / Liliana Guerrero Ayala. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2014.

XIV, 76 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: Antonio Giannella-Neto

Alysson Roncally Silva Carvalho

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Biomédica, 2014.

Referências Bibliográficas: p. 71-76.

1. Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo. 2. Bloqueador Neuromuscular. 3. Pressão Esofágica. 4. Ratos. I. Giannella-Neto, Antonio *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Biomédica. III. Título.

*“Aprenda como se fosse viver para sempre. Viva como se fosse morrer amanhã.”*

Mahatma Gandhi

A Deus, á minha família e aos meus amigos de sempre.

## AGRADECIMENTOS

A Deus porque tenho certeza que desde sempre é quem guia meus passos. A minha mãe porque em cada momento de mi vida me deu seu apoio de todas as formas possíveis: espiritual, física, psicológica, econômica... todas!. Ao meu pai e aos meus irmãos por torcer, orar e estar sempre por perto me ajudando. E a toda minha família porque mesmo desde longe sinto seu amor e companhia, amo todos vocês.

À professora Carolina Ramirez pela ajuda e orientação quando todo este capítulo começou. Ao professor Giannella por responder aquele e-mail e abrir a porta para uma oportunidade de mestrado na UFRJ. Ao professor Alysson Carvalho por todo o apoio durante a fase experimental e fim do mestrado e pela ajuda quando iniciou o processo de revalidação do meu diploma.

A Mariana Abreu pela amizade, ajuda, paciência e compreensão antes, durante e depois dos experimentos. A Alcendino Neto porque sempre esteve ai com a melhor disposição a pesar de tanto trabalho. Vocês foram parte muito importante deste projeto e o fizeram possível!. A Bruno Curty Bergamini pela disposição e ajuda em este e todos os projetos que tentei desenvolver antes. Aos meus colegas do LEP pela colaboração desde que fiz parte do laboratório, especialmente a Renan Barthels, que durante o processamento dos dados respondeu minhas duvidas com a maior disposição. A todas as pessoas do laboratório de Fisiologia da Respiração, especialmente ao Professor Walter Zin, Mariana Ávila e Natalia Vasconcelos, muito obrigada pela ajuda e conhecimentos durante e depois dos experimentos.

As meninas do PEB, a todas e cada uma de vocês minha grande gratidão porque fizeram da minha passagem pelo PEB uma experiência inolvidável. A Débora Verneque porque com muito esforço e carinho tentou me introduzir na turma a pesar da minha habilidade para me afastar. A Viviane da Gloria porque sempre será minha tradutora oficial em todas as línguas, obrigada por me fazer sentir em casa e por dormir enquanto eu falava no ônibus. A Beatriz Cunha e Natália Martins por me permitirem compartilhar seus respetivos lares, obrigada demais pela paciência comigo e por tanto apoio que ainda hoje recebo de vocês. A Carolina Avancini por me apresentar o melhor brigadeiro e fazer tantos potes para mim. A Aline Cruz por fazer uma chá de panela na metade do mestrado porque não dava para deixar passar. A Leticia Raposo por me oferecer seu lar quando estava doentinha e pela ajuda e disposição quando precisei. A Raquel pelo amor e carinho de sus cumprimentos e abraços. E a todas as outras pessoas da turma que não posso mencionar porque vai

longe, obrigada pelos conselhos, correções do português e paciência com minha fala errada.

É impossível concluir os agradecimentos sem mencionar minhas amigas de sempre, aquelas que depois de tantos anos seguem torcendo por meu sucesso: Gladys, Xime, Adri, Yurley e Lady, saibam que CLO será sempre a base do conceito de amizade verdadeira que segue e segue a pesar do tempo, a distancia e os erros . A Nelin, Genny, Kitty e Sonia porque torcem o tempo todo para esteja bem. Obrigada pela amizade constante de todas. Dou graças a Deus por contar com pessoas como vocês e torço também por sua felicidade e sucesso.

A minha família brasileira, especialmente a Ana Pinho, pelo amor e apoio para concluir este ciclo e por me receberem como parte da família com tanto carinho. E por ultimo e não por isso menos importante, tenho que agradecer ao meu amor Jean Pinho, você fez parte deste mestrado desde o começo... foi amigo, namorado, esposo e “orientador” quando foi necessário. Sem duvida todo isto foi mas fácil estando ao seu lado. É difícil imaginar um final sem você: te amo.

Ao CNPq e à FAPERJ pelo apoio financeiro.

Resumo da Dissertação apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (M.Sc.)

## EFEITOS DA SEDAÇÃO E BLOQUEIO NEUROMUSCULAR EM RATOS COM SÍNDROME DO DESCONFORTO RESPIRATÓRIO AGUDO

Liliana Guerrero Ayala

Setembro/2014

Orientadores: Antonio Giannella-Neto

Alysson Roncally Silva Carvalho

Programa: Engenharia Biomédica

A síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) compromete a função respiratória normal levando a falha respiratória e necessidade de suporte ventilatório. As dificuldades no manejo ventilatório desta síndrome levaram ao uso de bloqueadores neuromusculares para sincronizar o paciente ao ventilador. No entanto, os efeitos adversos do seu uso geram controversa na prática clínica. A medição da pressão esofágica da uma estimativa da pressão pleural e permite determinar se existe contração ativa do diafragma e por tanto o nível de trabalho ventilatório. O objetivo de nosso trabalho foi avaliar o impacto do modo de ventilação assisto/controlado (AC) sobre o trabalho da ventilação, oxigenação e resposta inflamatória em ratos com SDRA moderada em diferentes planos anestésicos com e sem Bloqueador Neuromuscular (BNM). Foram estudados 46 animais, a lesão pulmonar foi induzida por lipopolissacarídeo e ventilação mecânica e posteriormente se mantiveram ventilados durante um período de duas horas com parâmetros convencionais. Os resultados mostraram maior potência no sinal de pressão esofágica nos ratos com baixa sedação sem bloqueador neuromuscular, evidenciando o maior trabalho ventilatório. Este grupo de ratos apresentou melhores índices de oxigenação, menores pressões pico e media, menor concentração de IL-6 e maior concentração de IL-10. A ventilação em modo AC com anestesia superficial e ausência de BNM parece melhorar a oxigenação arterial minimizando o quadro inflamatório agudo neste modelo experimental de SDRA em ratos.

Abstract of Dissertation presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

## EFFECTS OF SEDATION AND MUSCLE PARALISE IN RATS WITH ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME

Liliana Guerrero Ayala

September/2014

Advisors: Antonio Giannella-Neto

Alysson Roncally Silva Carvalho

Department: Biomedical Engineering

The acute respiratory distress syndrome impairs the normal respiratory function leading to respiratory failure and need for ventilatory support. The difficulties in the management of mechanical ventilation in this syndrome led to the use of neuromuscular blockers to engage the patient to the ventilator. However, the adverse effects of the use of blockers in intensive care generate controversial in clinical practice. The measurement of esophageal pressure gives an estimate of pleural pressure and to determine if there is active contraction of the diaphragm and therefore the level of work of the ventilation. The aim of our study was to evaluate the impact of assist/control mode of ventilation (AC) on the work of ventilation, oxygenation, and inflammatory response in rats with moderate ARDS in different anesthetic plans with and without Neuromuscular Blockers (NMB). Forty-six animals were studied and lung injury was induced by lipopolysaccharide and mechanical ventilation and subsequently kept ventilated for a period of two hours with standard parameters. The results showed higher signal potency in esophageal pressure in rats with low sedation without neuromuscular blocker, showing the greatest work of the diaphragm. This group of rats showed the best indices of oxygenation and reduced peak and mean pressure, lower concentration of IL-6 and increased IL-10 concentration. Ventilation in AC mode with superficial anesthesia and NMB appears to improve blood oxygenation by minimizing the acute inflammation in this experimental model of ARDS in rats.



# SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	1
2	REVISÃO DA LITERATURA .....	2
2.1	Síndrome do desconforto respiratório agudo .....	2
2.2	Citocinas: proteínas de resposta imediata .....	4
2.3	Estratégias de suporte na SDRA .....	8
2.3.1	Sedação .....	9
2.3.2	Bloqueadores neuromusculares no paciente com SDRA .....	12
2.4	Monitoramento da função do diafragma no paciente ventilado .....	17
2.4.1	Medição da pressão esofágica .....	19
2.5	Ratos como modelos animais de lesão pulmonar .....	24
2.5.1	Anatomia pulmonar do rato: .....	24
3	OBJETIVOS .....	30
3.1	Objetivo Geral .....	30
3.2	Objetivos específicos .....	30
4	Materiais e Métodos .....	31
4.1	Tipo de estudo e desenho geral .....	31
4.2	Animais e preparação .....	31
4.2.1	Sedação/anestesia e bloqueio neuromuscular: .....	32
4.2.2	Grupos experimentais .....	32
4.3	Protocolo experimental geral .....	33
4.3.1	Modelo de lesão pulmonar .....	34
4.3.2	Gasometria e pressão arterial .....	35
4.3.3	Citocinas .....	36
4.4	Coleta de dados: .....	36
4.4.1	Calibração dos transdutores .....	38
4.5	Processamento dos sinais .....	38
4.6	Análise estatística .....	39
5	Resultados .....	40
5.1	Modelo de SDRA .....	40

5.2	Variáveis ventilatórias.....	41
5.3	Frequência cardíaca e pressão arterial.....	41
5.4	Potência do sinal de Pesof .....	43
5.5	Resposta inflamatória no tecido pulmonar:.....	46
5.6	Resposta inflamatória no plasma:.....	50
5.6.1	IL-6.....	50
5.6.2	IL-10 e IL-1 $\beta$ :.....	50
5.6.3	TNF- $\alpha$ .....	51
5.7	Gasometria arterial.....	52
5.7.1	Índice PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> .....	52
5.7.2	Pressão arterial de dióxido de carbono (PaCO <sub>2</sub> ).....	53
5.7.3	Bicarbonato (HCO <sub>3</sub> ).....	54
5.7.4	Potencial de Hidrogênio (pH).....	55
6	Discussão .....	56
6.1	Limitações .....	61
7	RESULTADOS POSTERIORES .....	64
7.1	Variáveis ventilatórias.....	64
7.2	Frequência cardíaca e pressão arterial.....	65
7.3	Potência do sinal de Pressão esofágica .....	66
7.4	Gasometria arterial.....	67
7.4.1	Índice PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> .....	67
7.4.2	Pressão arterial de dióxido de carbono (PaCO <sub>2</sub> ).....	68
7.4.3	Bicarbonato (HCO <sub>3</sub> ).....	68
7.4.4	Potencial de Hidrogênio (pH).....	69
8	Conclusões .....	70
9	Referencias bibliográficas .....	71

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação gráfica das pressões no pulmão.....	18
Figura 2. Posicionamento do cateter esofágico.....	20
Figura 3. Imagem característica de um sinal de pressão de vias aéreas(Pboca) e pressão esofágica(Pesof) de um rato em ventilação mecânica modo VCV.....	21
Figura 4. Sinal de Pesof no domínio do tempo.....	22
Figura 5. Potência do sinal de Pesof calculada a partir da área da densidade de potência espectral.....	23
Figura 6. Micro-tomografia da anatomia pulmonar do rato.....	25
Figura 7. Desenho gráfico do modelo de lesão pulmonar..	34
Figura 8. Representação simples da montagem para aquisição de sinais de mecânica ventilatória .....	37
Figura 9. PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> no grupo V durante o protocolo.....	40
Figura 10. Frequência Cardíaca por grupos no final do protocolo .....	42
Figura 11. Pressão arterial dos ratos no final das duas horas de VM.....	42
Figura 12. Curvas características dos sinais de mecânica ventilatória por grupos... ..	43
Figura 13. Média da potência do sinal da pressão esofágica em cada rato e media por grupos .....	44
Figura 14. Potência do sinal de Pesof em três ratos do grupo LOW. ....	45
Figura 15. Gráficos característicos da potência do sinal de Pesof de um rato do grupo HIGH, um rato do grupo LOW ATRACÚRIO e um rato do grupo HIGH ATRACÚRIO. 45	
Figura 16. IL-6 no tecido pulmonar nos diferentes grupos no final do protocolo.....	46
Figura 17. IL10 no tecido pulmonar por ratos e por grupos.....	47
Figura 18. Valores de IL-1 $\beta$ no tecido pulmonar por grupos no final do protocolo .....	48
Figura 19. Valor TNF- $\alpha$ no tecido pulmonar por grupos no final do protocolo.....	49
Figura 20. IL-6 no plasma por rato e por grupos no final do protocolo. ....	50
Figura 21. TNF- $\alpha$ no plasma por grupos no final do protocolo.....	51
Figura 22. PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> por grupos no fim do protocolo (n=6) .....	52
Figura 23. PaCO <sub>2</sub> no final do protocolo por grupos (n=6).....	53
Figura 24. HCO <sub>3</sub> por grupos no fim do protocolo (n=6) .....	54
Figura 25. pH no final das duas horas de VM por grupos (n=6) .....	55
Figura 26. Frequência cardíaca no final do protocolo.....	65
Figura 27. Pressão arterial media no final do protocolo .....	65

Figura 28. Média da potência do sinal de pressão esofágica durante as 2 horas de VM .....	66
Figura 29. PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> por grupos no fim do protocolo (n=6) .....	67
Figura 30. PaCO <sub>2</sub> no final do protocolo por grupos (n=6).....	68
Figura 31. HCO <sub>3</sub> por grupos no fim do protocolo (n=6) .....	69
Figura 32. pH no final das duas horas de VM por grupos (n=6) .....	69

## LISTA DE SÍMBOLOS

A	Amplitude
AC	Assisto/controlado
BAL	Lavado bronco-alveolar
BNM	Bloqueadores neuromusculares
CCS	Centro Ciências da Saúde
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
CRF	Capacidade residual funcional
DI <sub>95</sub>	Dose necessária para reduzir a função neuromuscular em 95%
EV	Endovenoso
FiO <sub>2</sub>	Fração inspirada de oxigênio
GABA	Ácido ácido gamma-aminobutírico
GRO $\alpha$	Proteína relacionada ao crescimento
HCO <sub>3</sub>	Bicarbonato
IFN	Interferones
IL	Interleucina
Kg	Quilograma
LFR	Laboratório fisiologia da respiração
Mg	Miligramas
MCP	Proteína quimiotáctica de monócitos-1
MIP-2	Proteína inflamatória de monócito
MRA	Manobra de recrutamento alveolar
PA	Pressão arterial
Palv	Pressão alveolar
PAM	Pressão arterial média
PaO <sub>2</sub>	Pressão arterial de oxigênio
Pboca	Pressão de abertura das vias aéreas
PCO <sub>2</sub>	Pressão arterial de dióxido de carbono
PH	Potencial de hidrogênio
Ppl	Pressão pleural
Pesof	Pressão esofágica
PEEP	Pressão positiva ao final da expiração
Ptp	Pressão transpulmonar
RX	Raio X

SDRA	Síndrome de desconforto respiratório agudo
T	Período
TNF	Fator de necrose tumoral
UFRJ	Universidade federal do rio de janeiro
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VILI	Lesão pulmonar induzida pela ventilação mecânica
VM	Ventilação mecânica
ZEEP	Pressão positiva ao final da expiração de zero

# 1 INTRODUÇÃO

A Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo é uma condição caracterizada por comprometimento severo da oxigenação que leva a falha do sistema respiratório, que não consegue responder às demandas básicas para manter as funções vitais. As estratégias de suporte oferecidas na unidade de terapia intensiva (UTI), entre elas a ventilação mecânica (VM), têm permitido a manutenção da função de troca gasosa para levar o oxigênio requerido pelos tecidos, e eliminar o dióxido de carbono produzido pelo metabolismo.

Muitas têm sido as estratégias desenvolvidas para o suporte ventilatório dos pacientes com SDRA e o acoplamento ventilatório é considerado um dos maiores desafios, levando em conta que a “luta do paciente com o ventilador” produz aumento do trabalho respiratório e maior alteração da oxigenação. Medicamentos sedativos são administrados via intravenosa no paciente em VM para aliviar o desconforto da intubação endotraqueal, diminuir as demandas metabólicas do paciente e facilitar a evolução da doença. Em casos especialmente complicados em que é difícil “sincronizar o paciente à ventilação mecânica” o uso de bloqueador neuromuscular (BNM) surgiu como ferramenta para melhorar a interação paciente-ventilador. No entanto, o uso destes medicamentos em pacientes criticamente doentes têm sido associado a polineuropatia e alterações da função da musculatura geral (LEATHERMAN *et al.*, 1996; DAVIS *et al.*, 1998).

O controverso estudo publicado por PAPAZIAN *et al.* (2010) mostrou que o uso de cisatracúrio em pacientes com SDRA, diminuiu o número de dias em VM e a mortalidade aos 90, dias sem apresentar diferença significativa nos casos de debilidade muscular, em comparação com o grupo controle. Estes dados levantaram controvérsia e levaram à análise das possíveis causas, estimulando a

realização de novos estudos que esclareçam estes resultados. Foi o uso do bloqueador neuromuscular quem levou à menor mortalidade aos 90 dias? Qual foi o protocolo de sedação usado nesses pacientes? Pode só uma boa sedação que ofereça um adequado acoplamento com o ventilador produzir melhores resultados sem a necessidade de bloqueador neuromuscular?

O objetivo de nosso trabalho foi avaliar o impacto do modo de ventilação assisto/controlado sobre o trabalho da ventilação, oxigenação e resposta inflamatória em ratos com SDRA moderada em diferentes planos anestésicos com e sem Bloqueador Neuromuscular.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Síndrome do desconforto respiratório agudo

A síndrome do desconforto respiratório agudo foi descrita inicialmente por Ashbaugh *et al.*, (1967) como um padrão similar ao apresentado em crianças com doença de membrana hialina, caracterizado por hipoxemia severa, taquipneia e cianose refratária à terapia com oxigênio. Outras características da síndrome descrita incluíam perda da complacência pulmonar, infiltração alveolar difusa no Raio X (RX) de tórax em pacientes sem historia prévia de falha respiratória e tempo de início que ia desde uma hora até 96 horas depois da doença ou lesão desencadeante. Esta definição tem sofrido ligeiras mudanças através dos anos e não difere muito do descrito inicialmente.

A Conferencia do Consenso Europeu-Americano no ano de 1994 definiu a SDRA como a hipoxemia ( $PaO_2/FiO_2 \leq 200$  mm de Hg) com infiltrados bilaterais no RX de tórax , sem evidencia de hipertensão do átrio esquerdo. Adicionalmente, foi descrita outra entidade com critérios similares, mas com uma hipoxemia menos severa



( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 300$  mm de Hg) denominada Lesão Pulmonar Aguda (BERNARD *et al.*, 1994).

Anos mais tarde, um grupo de especialistas convocados pela Sociedade Europeia de Medicina Intensiva com aprovação da Sociedade Torácica Americana e da Sociedade Americana de Terapia Intensiva, reuniram-se para atualizar a definição de SDRA. Eles descrevem a síndrome como um tipo de lesão pulmonar inflamatória, difusa e aguda que leva ao aumento da permeabilidade capilar, incremento do peso pulmonar e perda de tecido pulmonar aerado. As características clínicas avaliadas nestes pacientes são: oxigenação, que vai determinar o grau de severidade da síndrome; tempo de início da insuficiência respiratória (que deve ser menor que uma semana); e imagens de tórax com opacidade bilateral característica do edema pulmonar que não seja completamente explicado por insuficiência cardíaca ou sobrecarga de líquidos (ARDS DEFINITION TASK FORCE *et al.*, 2012).

Os desencadeantes da SDRA, descritos há vários anos, incluem os traumatismos de tórax, as transfusões sanguíneas e a grande quantidade de líquidos infundidos no paciente na ressuscitação. Por outro lado, as aspirações de conteúdo gástrico, pneumonias, pancreatites e infecções sistêmicas também podem causar este edema de tipo não cardiogênico (HASSAN; HACKNEY, 1982).

Clinicamente, a SDRA se caracteriza por quatro fases. A primeira fase ou fase aguda se evidencia por uma alcalose respiratória e é seguida por um período de latência (fase dois) com gradual desenvolvimento de infiltrados no RX de tórax similares ao edema de tipo cardiogênico; exceto que na SDRA o coração é normal e os infiltrados são mais periféricos. A terceira fase é caracterizada pela dispneia progressiva, taquipneia, hipoxemia e diminuição da complacência pulmonar, com imagens radiográficas que mostram broncograma no espaço aéreo consolidado. Finalmente, a quarta fase ou fase crônica é caracterizada por alterações fisiológicas importantes como *shunt* intrapulmonar com hipoxemia refrataria e acidoses respiratória e metabólica concomitantes. Nesta última fase, o RX de tórax evidencia

lesões reticulares e o começo de um padrão de fibrose pulmonar (WEINACKER; VASZAR, 2001).

Patologicamente, três etapas se correlacionam com as fases clínicas. Na primeira etapa, ou de “exsudação”, existe alteração da permeabilidade do endotélio e epitélio pulmonar, com aumento das proteínas no alvéolo e no espaço intersticial; esta etapa é considerada fase de dano alveolar difuso. As anormalidades do surfactante pulmonar causam atelectasias com maior comprometimento nas regiões dependentes do pulmão. Aparece hemorragia alveolar e infiltração de neutrófilos e monócitos no interstício. Estas células contribuem com o processo inflamatório e contribuem com a ativação de uma variedade de citocinas e do fator de complemento, incluindo o fator de necrose tumoral alfa e as interleucinas (IL)-1, -6, -8 e -10 que ao mesmo tempo ativam outros mediadores inflamatórios. Uma breve revisão das principais citocinas inflamatórias ativas durante a SDRA é apresentada mais adiante.

Após 3-10 dias do início do quadro clínico começa a fase de organização ou fibro-proliferação. Nesta fase, além de células inflamatórias, existe infiltração de fibroblastos no interstício. Apresenta-se proliferação de pneumócitos tipo II que substituem os de tipo I e os fibroblastos começam o depósito de colágeno, engrossando as paredes alveolares. No final desta fase e início da fase final da SDRA desenvolve-se fibroses e aumento dos cistos subpleurais (WEINACKER; VASZAR, 2001).

## **2.2 Citocinas: proteínas de resposta imediata**

As citocinas são pequenas proteínas produzidas por uma grande variedade de células que ao serem liberadas influenciam no comportamento de outras células como células de defesa e células responsáveis da reparação de feridas, entre outras. No entanto, a produção em excesso das citocinas pode levar a lesão dos tecidos, instabilidade hemodinâmica e alterações metabólicas (BLACKWELL; CHRISTMAN,

1996). São muitas as citocinas conhecidas por serem liberadas nos processos inflamatórios, as quatro principais serão apresentadas a continuação: o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), a interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), a interleucina 6 (IL-6) e a interleucina 8 (IL-8) (BLACKWELL; CHRISTMAN, 1996).

### **2.2.1.1 Fator de Necrose Tumoral $\alpha$ (TNF $\alpha$ )**

O TNF $\alpha$  é um mediador de inflamação associado com um grande número de infecções e doenças inflamatórias não infecciosas. É produzido aguda e tardiamente por monócitos, macrófagos e linfócitos-T e parece ter um papel importante na coordenação da resposta inflamatória e na ativação da cascata das citocinas. Sua vida média plasmática é curta (20 minutos), mas este tempo é o suficiente para provocar mudanças metabólicas e hemodinâmicas importantes e para ativar outras citocinas distais (OLIVEIRA *et al.*, 2011). *In vitro*, TNF $\alpha$  é um potente indutor de outras citocinas, incluindo IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8 (BLACKWELL; CHRISTMAN, 1996).

Em humanos com sepse induzida por injeção de endotoxina, a produção de TNF $\alpha$  é rapidamente ativada e pode ser detectada no plasma. MICHIE *et al.* (1988) infundiram endotoxina de *Escherichia coli* em voluntários saudáveis e encontraram que as concentrações de TNF $\alpha$  aumentaram significativamente em comparação com o grupo controle, com pico depois de uma hora de infusão.

### **2.2.1.2 Interleucina-1(IL-1)**

A IL-1 é produzida por macrófagos, monócitos e células não imunológicas como fibroblastos e células endoteliais ativadas durante lesão celular, infecção e inflamação. Os dois tipos mais conhecidos são IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , ambos os tipos ativam o mesmo receptor IL-1 e, conseqüentemente, compartilham várias atividades biológicas. A IL-1 $\alpha$  está associada com membranas celulares e age mediante contatos celulares

(comunicação celular justácrina) (OLIVEIRA *et al.*, 2011). A IL-1 $\beta$  é sintetizada por indução de outras citocinas como o TNF $\alpha$ , o IFN $\alpha$ , o IFN $\beta$  e o IFN $\gamma$ , assim como por endotoxinas bacterianas, vírus, mitógenos e antígenos. A infusão de IL-1 $\beta$  em animais de experimentação causa hipotensão e infiltração leucocitária no pulmão (GARDINER *et al.*, 1998).

Em pacientes sépticos encontram-se níveis elevados de IL-1 $\beta$  que diminuem ao longo da evolução do quadro clínico. No entanto, estes níveis se mantêm altos inclusive na fase de recuperação, quando a síndrome de resposta inflamatória sistêmica tem desaparecido (DE PABLO SÁNCHEZ *et al.*, 2005).

### **2.2.1.3 Interleucina 6 (IL-6)**

A IL-6 é segregada por muitos tipos de células como macrófagos, monócitos, eosinófilos, hepatócitos e a glia e seus potentes indutores são o TNF $\alpha$  e a IL-1. É um dos mais importantes mediadores da indução, síntese e liberação de proteínas na fase aguda de estímulos dolorosos, trauma, infecção e estados pós-operatórios. Após a lesão, a IL-6 pode ser detectada no plasma aos 60 minutos, com pico entre 4 e 6 horas e pode persistir até 10 dias (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Como muitas outras citocinas, a IL-6 tem propriedades tanto pro como anti-inflamatórias: induz proteínas na fase aguda, mas inibe a síntese de citocinas pro-inflamatórias como o TNF $\alpha$ , a IL-1 $\beta$ , o IFN $\gamma$  e a proteína inflamatória do macrófago tipo 2 (MIP-2 do inglês *macrophage inflammatory protein -2*) (DE PABLO SÁNCHEZ *et al.*, 2005).

### **2.2.1.4 Interleucina 8 (IL-8)**

A IL-8 é uma proteína pequena que pertence à família das quimiocinas. É produzida por fagócitos mononucleares, leucócitos polimorfonucleares, células endoteliais e células epiteliais em resposta a uma variedade de estímulos, incluindo

endotoxina, IL-1 e TNF $\alpha$ . Sua principal função é ativar e quimo-atrair neutrófilos aos lugares de inflamação. A IL-8 é mediadora importante da disfunção de múltiplos órgãos (incluindo a SDRA que ocorre nos pacientes com síndrome séptico) e está presente no lavado bronco-alveolar (BAL do inglês *Bronchoalveolar Lavage*) dos pacientes com SDRA (BLACKWELL; CHRISTMAN, 1996).

#### **2.2.1.5 Interleucina 10 (IL-10)**

É um polipeptídeo não glicosilado sintetizado nas células imunológicas e tecido neuroendócrino e neural. É a citocina anti-inflamatória mais importante da resposta imune. Ela atua inibindo as citocinas pro-inflamatórias, incluindo TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8 e IL-12 produzidas por macrófagos e monócitos ativados, estimulando a produção endógena de citocinas anti-inflamatórias. Adicionalmente, degrada o RNA mensageiro encarregado da síntese destas citocinas. A IL-10 é produzida proporcionalmente à intensidade do estímulo inflamatório e o TNF é considerado o principal estímulo para ser secretada (BLACKWELL; CHRISTMAN, 1996).

A liberação de todas as citocinas descritas anteriormente ocorre em cascata e inicia quando um estímulo (ex. endotoxina de bactéria gram negativa) induz a produção e secreção das citocinas produzidas agudamente como o TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Posteriormente, estas citocinas e o estímulo inicial (neste caso a endotoxina), levam a produção de outras citocinas produzidas tardiamente (tais como a IL-6 e IL-8) que intensificam e perpetuam a resposta inflamatória e podem ter uma função de reparo celular. Como já se mencionou, algumas citocinas (como a IL-6 e IL-10) parecem diminuir a produção das citocinas inflamatórias, o que pode ser importante na limitação da reação inflamatória (BLACKWELL; CHRISTMAN, 1996).

O paciente com SDRA apresenta resposta inflamatória sistêmica descontrolada como resultado de uma lesão direta do pulmão ou de uma lesão indireta que ativa a

cascata. O aumento descontrolado das citocinas nas fases iniciais do SDRA tem sido associado com aumento da mortalidade. Um estudo prospectivo que avaliou o nível de citocinas no BAL e plasma de 27 pacientes com SDRA severo, mostrou que a média de TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL-6 e IL-8 foi significativamente maior nos pacientes que não sobreviveram durante o período de internação na UTI e permaneceu significativamente elevada no tempo, em comparação com os pacientes que sobreviveram (MEDURI *et al.*, 1995b; MEDURI *et al.*, 1995a).

Dados similares foram encontrados por BOUROS *et al.* (2004). Eles mediram a IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 em 59 pacientes admitidos na UTI com risco de SDRA e encontraram níveis de IL-8 e IL-10 mais elevados nos pacientes que não sobreviveram. Seus resultados mostraram um valor preditivo negativo para a IL-6 no BAL e plasma de 100% e 95%, respectivamente. Por outro lado, ao comparar dados de pacientes com SDRA e pacientes com outras patologias pulmonares, os resultados mostram valores mais altos de IL-6 e IL-8 nos casos de SDRA em comparação com pacientes com pneumonia e edema cardiogênico. Estes resultados demonstram a grande resposta inflamatória que se desencadeia na fase inicial da síndrome o que leva as grandes alterações da mecânica e estrutura pulmonar (SCHÜTTE *et al.*, 1996; BAUER *et al.*, 2000).

### **2.3 Estratégias de suporte na SDRA**

As estratégias de tratamento destacadas no paciente com SDRA incluem a ventilação pulmonar protetiva, que demonstrou diminuir a mortalidade e consiste no uso de modos ventilatórios limitados por pressão, pressão expiratória final positiva (PEEP do inglês *positive end-expiratory pressure*) suficiente para manter o pulmão aberto, volumes correntes baixos (6 ml/kg), hipercapnia permissiva e relações inspiração-expiração invertidas (AMATO *et al.*, 1998). A VM do paciente em posição prono surgiu como uma técnica para tentar melhorar a oxigenação e a mecânica ventilatória

nos pacientes com comprometimento pulmonar severo e resultados recentes também demonstram diminuir a mortalidade (WEINACKER; VASZAR, 2001; GUÉRIN *et al.*, 2013). Entre tanto, o uso de estratégias ventilatórias que fogem do padrão respiratório fisiológico, unido às alterações estruturais do pulmão e às alterações da mecânica ventilatória, fez aparecer outro desafio: a luta do paciente com a ventilação mecânica. Para resolver este problema, os agentes sedantes e os bloqueadores neuromusculares (nos casos mais severos), apareceram como aliados no tratamento do paciente em terapia intensiva.

### **2.3.1 Sedação**

O paciente com diagnóstico de SDRA é mantido na unidade de terapia intensiva enquanto avança sua fase inflamatória e proliferativa no pulmão, melhora seu quadro clínico e pode ser liberado da ventilação mecânica. O objetivo da sedação no paciente ventilado é oferecer conforto e diminuir o estresse e a ansiedade. A maioria dos pacientes requer um ou mais tipos de sedantes. Cada agente de sedação tem uma diferente vida média e uma das complicações do seu uso é a acumulação das drogas que causa depressão do sistema nervoso e, conseqüentemente, a prolongação do tempo em VM e do tempo de internação no hospital (KOLLEF *et al.*, 1998).

Os medicamentos mais comumente usados na sedação do paciente em terapia intensiva são os opióides e as benzodíazepinas. Os opióides são usados para prover analgesia, narcose e ansiólise, são também muito usados em pacientes criticamente doentes e os mais comuns são a morfina, o fentanil e o remifentanil. Os efeitos secundários destes medicamentos são a depressão respiratória, bradicardia, e hipotensão secundária a liberação de histamina. Podem ainda produzir náuseas, vômito e inibição do peristaltismo (ROWE; FLETCHER, 2008) (HOGART; HALL,

2004). Algumas características da farmacologia dos opióides são apresentadas no quadro a seguir:

Quadro 1. Características farmacológicas importantes dos opióides

MORFINA	FENTANIL	REMIFENTANIL
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pouca lipossolubilidade</li> <li>• Efeito pico aos 15-20'</li> <li>• Duração de ação 3-6 horas</li> <li>• Libera histamina: causa hipotensão</li> <li>• Risco síndrome abstinência</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Opióide com maior potência</li> <li>• Altamente lipossolúvel</li> <li>• Vida média 30-60''</li> <li>• Causa tolerância rapidamente</li> <li>• Não libera histamina: menos efeitos hemodinâmicos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Potência similar ao fentanil</li> <li>• Vida média ultra-curta: 3'</li> <li>• Metabolizado pelo plasma</li> <li>• Uso prolongado causa tolerância</li> <li>• Produz maior hipotensão que o fentanil</li> </ul>

(MATHER, 1983; BRESOLIN; FERNANDES, 2002)

Por outro lado, as benzodiazepinas são os sedativos mais frequentemente usados em terapia intensiva para o tratamento da ansiedade, mas não produzem alívio da dor. Os mais comuns são o diazepam, lorazepam e midazolam. Este tipo de medicamentos podem ser administrados *in bolus* ou em infusão contínua e tem efeito sinérgico com os opióides. A cinética e metabolismo das benzodiazepinas mudam em pacientes com alteração hepática ou renal. Estes agentes tem efeito acumulativo quando se administra em infusão. No entanto, causam menos comprometimento hemodinâmico que os agentes anestésicos (ROWE; FLETCHER, 2008; HOGART; HALL, 2004).

A ação central das benzodiazepinas é facilitar a inibição do ácido ácido gamma-aminobutírico (GABA) que faz a maior parte da inibição do sistema nervoso central (REVES *et al.*, 1985). O Quadro 2 descreve as principais características farmacológicas das benzodiazepinas mais importantes.



Quadro 2. Características farmacológicas das benzodiazepinas

MIDAZOLAM	DIAZEPAM	LORAZEPAM
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Afinidade pelos receptores de benzodiazepinas duas vezes maior que o diazepam.</li> <li>• Pico de ação aos 3-10'</li> <li>• Duração de ação: 30-120'</li> <li>• Efeito amnésico relacionado com a dose</li> <li>• Maior diminuição da pressão arterial que o diazepam</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pouco hidrossolúvel e cada vez menos usado</li> <li>• Vida média longa: 20-50 hrs.</li> <li>• Pico de ação: 3-4'</li> <li>• Se administração intravenosa for rápida pode causar hipotensão e depressão respiratória</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Efeito similar ao midazolam</li> <li>• Pico de ação: 1 hr</li> <li>• Vida média: 4-8 horas</li> <li>• Se for administrado com opióides pode produzir hipotensão e depressão respiratória</li> <li>• Usado para tratamento da síndrome de abstinência por opióides</li> </ul>

(REVES *et al.*, 1985; BRESOLIN; FERNANDES, 2002)

Um estudo prospectivo, multicêntrico, realizado com 5,183 pacientes de 20 países que receberam ventilação mecânica por mais de 12 horas, encontrou que 68% dos pacientes receberam algum tipo de sedante, numa média de três dias, em algum momento da VM. A maior parte dos pacientes que receberam sedantes ou analgésicos (67%) receberam uma combinação de drogas e a combinação mais comum foram os opióides com as benzodiazepinas (25%). A sedação administrada foi independente do modo ventilatório e da administração de bloqueador neuromuscular. Adicionalmente, o uso de drogas sedativas esteve associada com mais dias de ventilação mecânica (4 dias *versus* 3 dias em pacientes que não receberam sedação) e mais tempo na unidade de terapia intensiva (8 dias *versus* 5 dias em pacientes que não receberam sedação) (ARROLIGA *et al.*, 2005). Pacientes em que a combinação de diversos sedantes não é suficiente para se sincronizar com o ventilador, o uso de bloqueadores neuromusculares representa uma estratégia de manejo.

### 2.3.2 Bloqueadores neuromusculares no paciente com SDRA

Os bloqueadores neuromusculares (BNM) são agentes que não produzem sedação e foram introduzidos na clínica em 1942 como parte da prática anestésica. Posteriormente, seu uso em terapia intensiva foi além da intubação endotraqueal e começaram serem utilizados em pacientes com pressão intracraniana alta. Outras indicações dos BNM incluem diminuir a luta do paciente com o ventilador, minimizar o trabalho respiratório e reduzir o consumo de oxigênio em pacientes com hipoxemia severa (ROWE; FLETCHER, 2008).

OS BNM são compostos quaternários de amônio e estão estruturalmente relacionados com a acetilcolina, sendo atraídos pelos receptores nicotínicos pós-sinápticos. Eles são classificados como medicamentos despolarizantes e não despolarizantes dependendo da sua ação no receptor nicótico. Os despolarizantes são agonistas dos receptores de acetilcolina e a succinilcolina é o único BNM despolarizante em uso clínico atualmente (APPIAH-ANKAM; HUNTER, 2004). Algumas das suas características são apresentadas no Quadro 3.

Quadro 3. Características farmacológicas da succinilcolina

<b>SUCCINILCOLINA</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Usado na intubação endotraqueal com dose de 1.0-1.5 mg/Kg produz bloqueio muscular durante 60 s.</li><li>• A recuperação ocorre entre os três e 15 minutos.</li><li>• Efeitos adversos: estímulo de receptores muscarínicos (bradicardia, aumento pressão intraocular, aumento do potássio).</li><li>• Não é usado para infusão em pacientes em terapia intensiva.</li></ul>

(APPIAH-ANKAM; HUNTER, 2004; TRIPATHI; HUNTER, 2006).

Os bloqueadores neuromusculares não despolarizantes antagonizam a ação da acetilcolina competitivamente no receptor de nicotina pós-sináptico, impedindo o potencial de ação. Para produzir um bloqueio completo, pelo menos 92% dos receptores devem ser ocupados. Entre este grupo de BNM encontram-se o pancurônio, vecurônio e rocurônio (os três com componente amino-esteróide) e o atracúrio e cisatracúrio (do grupo das benzilisoquinolinas). Os Quadros 4, 5 e 6 descrevem suas características farmacológicas (APPIAH-ANKAM; HUNTER, 2004).

Quadro 4. Características farmacológicas do pancurônio e vecurônio

<b>PANCURÔNIO</b>	<b>VECURÔNIO</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• De ação prolongada</li> <li>• Início de ação aos 3'</li> <li>• Risco de bloqueio prolongado em pacientes com falha renal ou hepática</li> <li>• Causa aumento da frequência cardíaca, pressão arterial e gasto cardíaco.</li> <li>• Dose 0,05 a 0,1 mg/Kg/h endovenoso (EV) em infusão</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mais lipossolúvel que o pancurônio.</li> <li>• Início de ação aos 3'</li> <li>• Duração ação de 30'</li> <li>• Risco de bloqueio prolongado em pacientes com falha renal</li> <li>• Não libera histamina</li> <li>• Dose 0,05-0,1 mg/Kg/h em infusão contínua ou <i>in bolus</i> de uma em uma hora</li> </ul>

(TRIPATHI; HUNTER, 2006; BRESOLIN; FERNANDES, 2002)

Quadro 5. Características farmacológicas do rocurônio

<b>ROCURÔNIO</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rápido início de ação: 2'.</li> <li>• Mais lipossolúvel que o vecurônio, mas 6-8 vezes menos potente do que ele.</li> <li>• Não tem efeitos simpaticomiméticos diretos, mas em dose alta tem efeito vagolítico.</li> <li>• Produz mais reações anafiláticas que o pancurônio ou vecurônio.</li> </ul>

(APPIAH-ANKAM; HUNTER, 2004)

Quadro 6. Características farmacológicas do atracúrio e cisatracúrio

<b>ATRACÚRIO</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Introduzido na prática clínica nos anos 80.</li><li>• Constituído por uma mistura de dez isômeros ópticos e geométricos.</li><li>• Início de ação relativamente rápida: 90 s.</li><li>• Dose 0,5-0,6 mg/Kg.</li><li>• Vida média de 21 minutos.</li><li>• O efeito não é prolongado em insuficiência hepática ou renal.</li><li>• Mínimos efeitos adversos cardiovasculares, mas está associado com liberação de histamina a altas doses.</li><li>• Tem sido usado em pacientes criticamente doentes para facilitar a ventilação mecânica, com recuperação da atividade neuromuscular uma ou duas horas depois de parar a infusão.</li><li>• Em alguns pacientes tem sido associado com debilidade neuromuscular</li></ul>
<b>CISATRACURIO</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• É um dos dez isômeros do atracúrio.</li><li>• Possui um perfil similar ao atracúrio, mas é mais potente.</li><li>• Não existem evidências de que isômeros apresentem comportamento diferente sobre a propriedade de liberar histamina.</li></ul>

(MURRAY *et al.*, 2002)(CORREA; SUDO; SUDO, 2010)

Os BNM com componente amino-esteróide estão em desuso em terapia intensiva devido a possuir maior efeito vagolítico e devem ser administrados com precaução em pacientes com alteração hepática e renal (MURRAY *et al.*, 2002). Adicionalmente, este tipo de BNM mostrou tempo de eliminação prolongado depois da infusão contínua, sendo associado com miopatia do paciente criticamente doente (PRIELIPP *et al.*, 1995). No entanto, os BNM do grupo benzilisoquinolio também mostraram resultados adversos com seu uso. TOUSIGNANT *et al.* (1995) reportaram um caso de fraqueza muscular num paciente asmático de 18 anos ventilado durante 7 dias com infusão de atracúrio e tratado com metilprednisolona. Porém, no ano seguinte, RUBIO *et al.* (1996) reportaram um caso de paralisia muscular durante aproximadamente 50 horas em um paciente tratado com atracúrio e sem uso de corticoides.

Um estudo retrospectivo, publicado por LEATHERMAN *et al.* (1996) mostrou que pacientes asmáticos que recebem BNM e corticoides tem mais risco de desenvolver paralisia muscular que aqueles tratados unicamente com corticoide. Ao mesmo tempo ficou demonstrado que o risco de paralisia não está diminuído se o bloqueio é realizado por medicamentos do grupo dos benzilisoquinolinos (atracúrio) ou por relaxantes do grupo dos amino-esteróides (pancurônio e vecurônio).

DAVIS *et al.* (1998) reportaram um caso de paralisia muscular em uma paciente de 45 anos com SDRA que foi ventilada mecanicamente durante 30 dias, dos quais 11 recebeu infusão de cisatracúrio, com administração concomitante de metilprednisolona.

Entretanto, os estudos da última década parecem apontar ao uso do cisatracúrio em terapia intensiva, por apresentar menores efeitos adversos e por ter demonstrado alguns efeitos benéficos. GAINNIER *et al.* (2004) realizaram um estudo prospectivo em 56 pacientes com SDRA e avaliaram os efeitos da infusão de cisatracúrio durante 48 horas nas trocas gasosas durante um período de 120 horas. Os resultados mostraram um efeito significativamente benéfico no índice  $PaO_2/FiO_2$ , no grupo de pacientes com BNM em comparação com o grupo controle. Ao mesmo tempo, os requerimentos de PEEP foram significativamente menores no grupo tratado com cisatracúrio.

FOREL *et al.* (2006) avaliaram os efeitos do cisatracúrio na inflamação pulmonar e sistêmica em 36 pacientes com SDRA e mostraram uma diminuição nas concentrações da IL-1 $\beta$  e IL-8 no lavado bronco-alveolar dos pacientes tratados com bloqueador neuromuscular depois de 48 horas, em comparação com o grupo controle. Do mesmo jeito, as concentrações plasmáticas de IL-8 e IL-6 diminuíram no tempo no grupo de pacientes tratados com bloqueio neuromuscular.

Um ano depois, TESTELMANS *et al.* (2007) avaliaram o efeito da infusão durante 24 horas de rocurônio (a baixa dose) e cisatracúrio (a doses baixa e alta) sobre o diafragma de ratos ventilados mecanicamente. Os resultados mostraram que

tanto no grupo tratado com rocurônio quanto no grupo do cisatracúrio a força *in vitro* do diafragma diminuiu significativamente em comparação com o grupo controle (com infusão de solução salina). No entanto, ao comparar o grupo de rocurônio com cisatracúrio, a diminuição da força neste último teve uma menor proporção com diferença estatística significativa, mostrando menores efeitos adversos. Estes resultados apoiam os dados que sugerem que a estrutura amino-esteróide do rocurônio pode estar associada com maior disfunção muscular em comparação com os BNM do grupo dos benzilisoquinolios como o cisatracúrio.

Por sua parte, CORREA *et al.* (2010) estudaram os efeitos do atracúrio e cisatracúrio sobre a pressão arterial de ratos a doses inibitórias de 95% (DI<sub>95</sub> – Dose necessária para reduzir a função neuromuscular em 95%). Eles observaram que estes dois medicamentos, administrados *in bolus*, via endovenosa, não alteraram a pressão arterial média (PAM) na dose equivalente a DI<sub>95</sub>. No entanto, com dose de quatro vezes a DI<sub>95</sub> o atracúrio causou a diminuição significativa da pressão arterial em comparação com o grupo controle. Só na dose correspondente a 16 vezes a DI<sub>95</sub> do cisatracúrio observou-se diminuição significativa da PAM. Estes resultados coincidem com prévios reportados por WASTILA *et al.* (1996) que demonstram a maior estabilidade cardiovascular oferecida pelo cisatracúrio.

Outro estudo publicado por PAPAZIAN *et al.* (2010) realizado em 340 pacientes com SDRA severa, mostrou que no grupo de pacientes em que foi administrado cisatracúrio nas primeiras 48 horas a mortalidade aos 90 dias foi menor que no grupo placebo (31,6% versus 40,7%). A mortalidade aos 28 dias foi de 23,7% no grupo com cisatracúrio versus 33,3% no grupo placebo. Neste estudo, o número de paresias adquiridas na UTI não apresentou diferenças significativas entre os dois grupos.

Ocorre que até hoje os resultados são controversos e não existe consenso quanto ao uso BNM em terapia intensiva (ALHAZZANI *et al.*, 2013; HRAIECH; FOREL; PAPAZIAN, 2012). Adicionalmente, os possíveis efeitos benéficos do uso do bloqueio neuromuscular devem ser avaliados, levando em conta as atelectasias progressivas

produto da falta de tono muscular do diafragma. Outra desvantagem do uso de BNM é a fraqueza que se desenvolve no diafragma devido à falta de contração muscular e ao uso de ventilação prolongada com modos controlados (MURRAY; BRULL; BOLTON, 2006). Algumas técnicas para monitorar a função do diafragma nos pacientes em VM são explicadas no capítulo seguinte.

#### **2.4 Monitoramento da função do diafragma no paciente ventilado**

O monitoramento da função respiratória dos pacientes em ventilação mecânica representa um dos objetivos da unidade de terapia intensiva. Para uma análise correta da mecânica ventilatória é preciso compreender as pressões geradas nos diferentes componentes do sistema respiratório (BENDITT, 2005).

O pulmão e a caixa torácica são estruturas tridimensionais que mobilizam um volume específico de ar de forma natural pela ação do músculo diafragma (entre outros) ou artificialmente através de um ventilador mecânico. Pulmão e caixa torácica são mobilizados juntos, unidos pelo espaço pleural. A pressão neste espaço é denominada pressão pleural ( $P_{pl}$ ) e em condições de repouso ela é ligeiramente negativa, pois o pulmão é uma estrutura passiva elástica que tem a tendência de retornar a uma posição de menor volume. No final de uma exalação tranquila (na capacidade residual funcional - CRF) e com as vias aéreas abertas, a pressão alveolar ( $P_{alv}$ ), a pressão de abertura das vias aéreas ( $P_{boca}$ ) e a pressão atmosférica ( $P_{atm}$ ) são iguais. Ver Fig.1 (BENDITT, 2005).

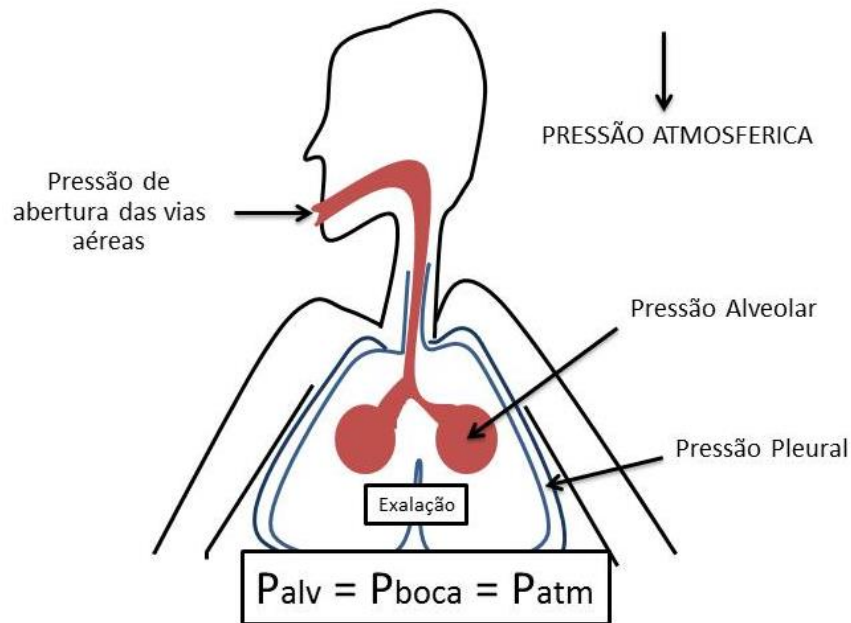


Figura 1. Representação gráfica das pressões no pulmão: pressão alveolar ( $P_{alv}$ ), pressão pleural ( $P_{pl}$ ), pressão de abertura das vias aéreas ( $P_{boca}$ ) e pressão atmosférica ( $P_{atm}$ ). Em exalação e com a glotis aberta, todas estas pressões são iguais.

Por conseguinte, com o pulmão em CRF e com a boca aberta, a pressão de distensão do pulmão ou pressão transpulmonar ( $P_{tp}$ ) é igual à pressão de dentro do pulmão  $P_{alv}$  (que neste caso é quase igual à pressão atmosférica) menos a pressão no espaço pleural ( $P_{pl}$ ) (BENDITT, 2005).

$$P_{tp} = P_{alv} - P_{pl} \quad (1)$$

Isto é importante porque a  $P_{tp}$  determina o volume do pulmão, qualquer mudança nesta pressão determina alterações do volume pulmonar e, conseqüentemente, da ventilação. Por tanto, para entender como ocorre o trabalho ventilatório, precisamos entender e medir a  $P_{alv}$  e a  $P_{pl}$ . Estas medidas nos vão permitir calcular a pressão de distensão do pulmão, parede torácica e sistema respiratório (BENDITT, 2005).



A  $P_{alv}$  é medida através da  $P_{boca}$  que durante uma manobra estática com glotis aberta faz com que estas duas sejam iguais ( $P_{alv} = P_{boca}$ ) (BENDITT, 2005). Para medir a  $P_{pl}$  se faz uso da medição da pressão esofágica. A proximidade anatômica do esôfago com o espaço pleural faz com que a pressão em seu terço inferior seja muito próxima à pressão na pleura adjacente quando o paciente está em posição ortostática. Sabendo que o esôfago é uma estrutura passiva (exceto quando se está deglutindo) pode-se supor que ele transmite facilmente as pressões do espaço pleural adjacente (MILIC-EMILI; MEAD; TURNER, 1964). Uma explicação mais detalhada da técnica e objetivos da medição da pressão esofágica é apresentada a seguir.

#### **2.4.1 Medição da pressão esofágica**

Foi mencionado anteriormente que a medição da pressão esofágica ( $P_{esof}$ ) permite ter uma medida próxima da pressão pleural, por conseguinte, mudanças na  $P_{esof}$  ( $\Delta P_{esof}$ ) correspondem a mudanças na  $P_{pl}$  ( $\Delta P_{pl}$ ). Podemos deduzir então que durante respiração espontânea as mudanças na  $P_{esof}$  são um reflexo do esforço respiratório do paciente e por tanto do trabalho ventilatório (ZIN; MILIC-EMILI, 2005).

A medição indireta da  $P_{pl}$  é realizada através da inserção, no interior do esôfago, de um cateter de polietileno, de dois milímetros de diâmetro, com múltiplos orifícios distais. Vários tipos de cateteres são usados: um deles tem na sua região distal um balão de 10 cm de comprimento inflado com ar e é comumente usado em adultos (BAYDUR *et al.*, 1982); o outro tipo (de cateteres) é cheio de líquido e usa-se frequentemente em recém nascidos ou em estudos com pequenos animais (COOK *et al.*, 1957). Ambos os tipos são confortáveis e apresentam pouco risco de perfuração (MARINI; WHEELER, 1999; BENDITT, 2005).

O posicionamento dos cateteres com balão é simples: logo após de introduzir o cateter através do nariz até o estômago, ele é insuflado com 0,5 - 1 mL de ar e

conectado a um transdutor de pressão. A presença de deflexões negativas durante a inspiração do paciente é sinal de que o cateter está no estômago, neste momento, o cateter deve ser retirado cuidadosamente 10 cm desde a posição em que as deflexões começaram a aparecer. Para testar a posição final do cateter pode ser realizado um “teste de oclusão” no qual o paciente respira espontaneamente contra uma via aérea ocluída e são comparadas as deflexões da pressão da via aérea e da pressão esofágica que devem ser quase idênticas (Fig. 2) (MARINI; WHEELER, 1999; BENDITT, 2005).

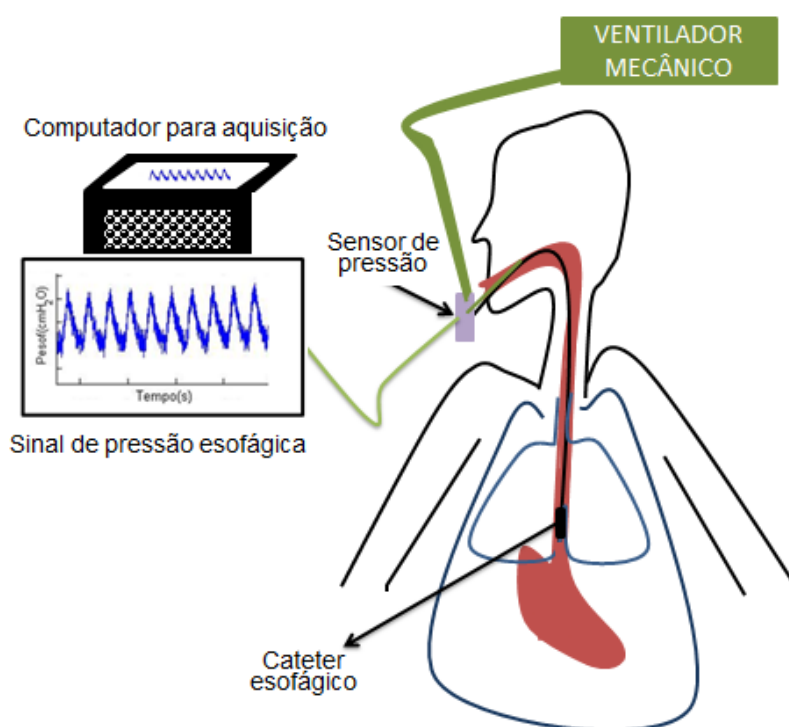


Figura 2. Posicionamento do cateter esofágico. O cateter deve ser posicionado no terço distal do esôfago. O correto posicionamento é avaliado a partir da curva de Pesof que deve ser similar à curva da pressão das vias aéreas durante a respiração espontânea contra uma via aérea ocluída.

O mesmo procedimento de inserção é seguido para o outro tipo de cateter que é previamente preenchido com água ou solução salina e posteriormente introduzido no esôfago. Neste tipo de cateteres, várias injeções de líquido devem ser realizadas durante o período de medição para evitar a oclusão do cateter com secreções e para mantê-lo livre de bolhas garantindo a qualidade do sinal (ZIN; MILIC-EMILI, 2005).

Uma medição simples da pressão esofágiana dá uma representação visual da contração do diafragma ou do grau da assistência do paciente à ventilação mecânica. A Fig. 3 mostra um sinal de pressão de vias aéreas ( $P_{\text{boca}}$ ) e pressão esofágiana ( $P_{\text{esof}}$ ) medida em um rato em ventilação mecânica em modo assisto/controlado por volume com sedação baixa e alta assistência ventilatória. Em ambos os sinais observam-se as deflexões negativas devido ao esforço inspiratório do rato. A integral da área que corresponde com a oscilação negativa do sinal de pressão esofágica é uma medida do esforço inspiratório do rato ciclo a ciclo. A análise deste sinal ( $P_{\text{esof}}$ ) durante a respiração permite determinar o esforço realizado pelos músculos inspiratórios para ventilar os pulmões. Esta análise pode ser feita tanto no tempo quanto na frequência. Uma breve revisão de análise de sinais é apresentada a continuação.

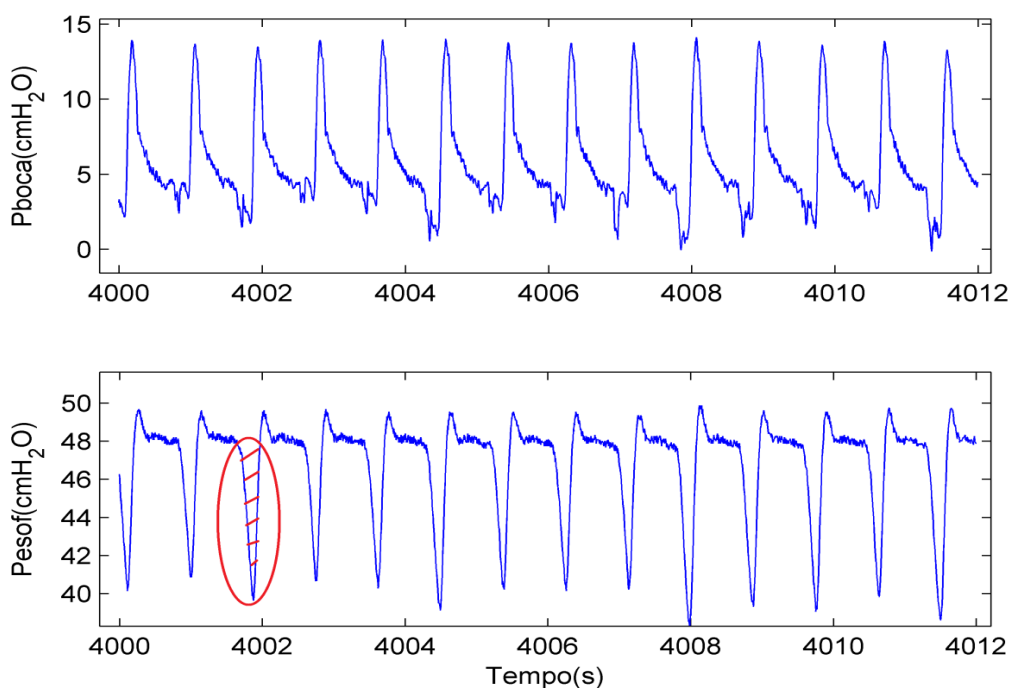


Figura 3. Imagem característica de um sinal de pressão de vias aéreas( $P_{\text{boca}}$ ) e pressão esofágica( $P_{\text{esof}}$ ) de um rato em ventilação mecânica modo VCV, com esforço inspiratório espontâneo.

### 2.4.1.1 Análise do sinal da Pesof como sinal biológico

Os sinais permitem a descrição de uma grande variedade de fenômenos físicos ou biológicos (ex. respiração) e podem ser descritos de muitas maneiras, seja como tensão, força, deslocamento, velocidade ou pressão, entre outras. Em todos os casos, a variável que descreve o sinal é considerada dependente e o tempo é considerado uma variável independente. No entanto, em muitos casos, principalmente em fenômenos físicos dinâmicos, pode existir mais de uma variável independente (SOUZA, 2010).

Quando as variáveis independentes são contínuas, os sinais são chamados de “contínuos” e quando a variável independente é discreta, são considerados “discretos” (SOUZA, 2010). No caso do sinal da Pesof, temos um sinal contínuo com variável dependente a Pressão e variáveis independentes o Tempo e a Frequência.

Já foi observado que os sinais podem ser analisados no domínio do tempo e no domínio da frequência. Na primeira análise, como seu nome indica, mostra-se a variação do sinal no Tempo permitindo determinar a amplitude (A) e período (T) como é observado na Fig. 4 que representa um sinal de Pesof de um rato em ventilação mecânica.

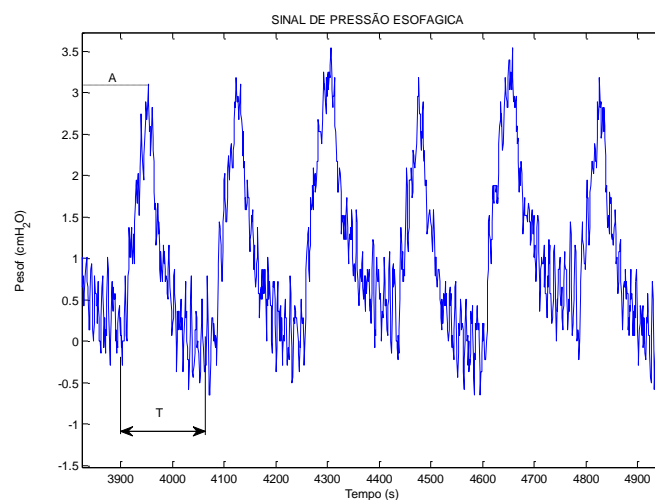


Figura 4. Sinal de Pesof no domínio do tempo. Observa-se o período (T) e a amplitude do sinal (A).

A representação no domínio da frequência é obtida a partir da Transformada de Fourier. Esta transformada descompõe o sinal em suas componentes elementares de seno e cosseno (LATHI, 1976). Por exemplo, a função correspondente a uma onda triangular (similar à observada na Fig. 4) é dada pela equação a seguir:

$$f(t) = \frac{4}{\pi} \left( \text{sen } \omega t - \frac{1}{9} \text{sen } 3\omega t + \frac{1}{25} \text{sen } 5\omega t - \dots \right) \quad (2)$$

onde  $\omega$  é a frequência e  $t$  é o tempo. A análise na frequência mostra como a potência do sinal é distribuída em uma banda de frequências. Esta é denominada “Densidade de Potência Espectral” (LATHI, 1976).

O cálculo da área correspondente à densidade de potência espectral do sinal é uma representação da potência do sinal que está sendo analisado, que no caso da Pesof representaria o trabalho dos músculos inspiratórios durante a ventilação. A Fig. 5 mostra a potência do sinal de Pesof apresentado na Fig.4 (calculada na faixa de frequências de 0 a 8 Hz) ao longo de duas horas de ventilação mecânica.

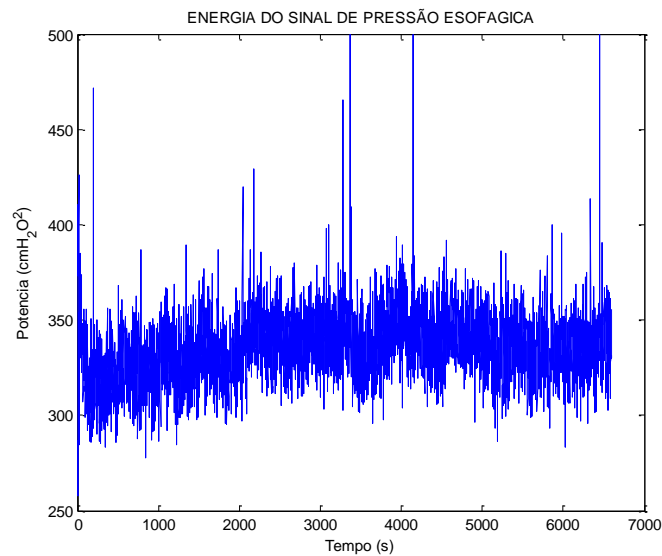


Figura 5. Potência do sinal de Pesof calculada a partir da área da densidade de potência espectral

Finalmente, a transformada inversa de Fourier converte a função do domínio da frequência de volta ao domínio do tempo (LATHI, 1976).

A análise dos sinais biológicos, como aqueles adquiridos durante o monitoramento ventilatório, complementa o estudo da fisiologia dos sistemas. Para isto, modelos animais têm sido usados há várias décadas como uma alternativa para a pesquisa *in vivo* de doenças como a SDRA. Embora nenhum modelo animal reproduz todas as características desta síndrome em humanos, a utilização de modelos experimentais continua sendo a melhor opção na avaliação da mecânica pulmonar e resposta inflamatória (MATUTE-BELLO *et al.*, 2008).

## **2.5 Ratos como modelos animais de lesão pulmonar**

Os ratos como modelos de lesão pulmonar, começaram ser usados em meados do século XIX, e foram precedidos pelo rato norueguês *Rattus norvegicus*, do qual se derivaram as populações usadas até o presente. Estes animais têm sido preferidos nas investigações pulmonares devido à maior disponibilidade de provas moleculares e a um maior conhecimento do seu sistema imunológico em relação a animais de maior tamanho (IRVIN; BATES, 2003). Uma breve descrição das características anátomo-fisiológicas do rato é descrita a seguir.

### **2.5.1 Anatomia pulmonar do rato:**

O sistema respiratório do rato, composto por dois pulmões assim como nos humanos, apresenta quatro lóbulos no pulmão direito e um único lóbulo no esquerdo como se observa na Fig. 6. Embora a estrutura microscópica dos pulmões destes animais é consideravelmente diferente em relação à humana, ainda é relativamente pequeno o número de estudos publicados sobre a arquitetura pulmonar do rato e de outras espécies animais (IRVIN; BATES, 2003).

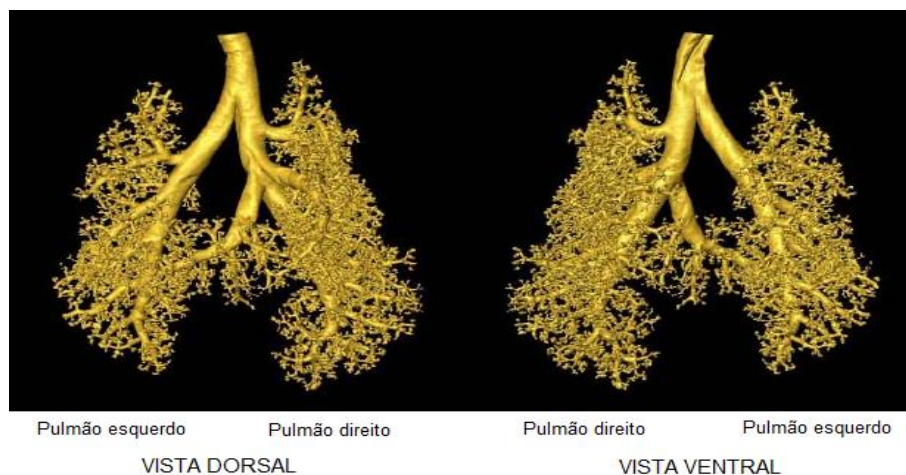


Figura 6. Micro-tomografia da anatomia pulmonar do rato. Pulmão direito multilobular e pulmão esquerdo unilobular. Retirado de: <http://imaging.bme.ucdavis.edu/overview-2/image-gallery/>, galeria de imagens, UCDAVIS College of Engineering. (Publicado com permissão do autor, Wexler, L.)

Além das diferenças enquanto a lobularidade, outras diferenças estruturais podem ser encontradas no pulmão do rato em relação ao humano. O Quadro 7 faz uma comparação dos aspectos mais relevantes da anatomia nas duas espécies.

Quadro 7. Comparação da anatomia do rato e do humano.

Variável	Rato	Humano
Nº de lóbulos no pulmão direito	4	3
Nº de lóbulos no pulmão esquerdo	1	2
Pleura delgada	Sim	Não
% de parênquima pulmonar que ocupa o pulmão	24	12
Tamanho do alvéolo ILM*	100 $\mu\text{m}$	210 $\mu\text{m}$
Espessura da barreira alvéolo-arterial	0.38 $\mu\text{m}$	0.62 $\mu\text{m}$
Gerações de vias aéreas	13-17	17-21

\* ILM: Intercepto linear médio

Fonte: IRVIN e BATES, 2003

Outro aspecto relevante na fisiologia do rato é seu metabolismo aumentado, o que faz a maioria dos seus parâmetros ser muito diferente daqueles comumente vistos em humanos. No Quadro 8 são apresentados os principais parâmetros.

Quadro 8. Parâmetros fisiológicos dos ratos

<b>Parâmetros fisiológicos em ratos</b>	
<i>Signos vitais</i>	
Frequência cardíaca (bpm)	300-500
Pressão Arterial Sistólica (mmHg)	120-140
Pressão Arterial Diastólica (mmHg)	80-90
Pressão Arterial Média (mmHg)	100-110
Temperatura corporal (°C)	37.5 - 38.5
Peso adulto macho (g)	250-400
Fêmea (g)	220-300
<i>Parâmetros sanguíneos</i>	
Volume de sangue (ml/kg)	60
Hemoglobina (g/100ml)	14-20
Hematócrito (vol%)	36-48
<i>Parâmetros bioquímicos</i>	
Glicemia (mg/dl)	75(50-135)

Fonte: Carvalho *et al.* (2009), Santos *et al.* (2010)

Embora a informação anteriormente apresentada mostre diferenças significativas na fisiologia do rato, os valores da gasometria arterial são similares aos observados em humanos. Entretanto, os dados reportados na literatura variam grandemente. BRUN-PASCAUD *et al.* (1982) apresentam os valores normais dos gases arteriais encontrados em diversos estudos e seus valores se resumem no Quadro 9.

Quadro 9. Valores normais da gasometria arterial do rato

<b>Parâmetro</b>	<b>Valor normal</b>
pH	7.40-7.48
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	115-129
PaCO <sub>2</sub> (mmHg)	36-54
HCO <sub>3</sub> (mmol/L)	23-29

Fonte: BRUN-PASCAUD *et al.* (1982)



Todavia os modelos murinos têm sido usados extensamente no estudo da lesão pulmonar e conseguem reproduzir algumas características da lesão epitelial, resposta inflamatória aguda e alterações mecânicas. Modelos iniciais usaram lipopolissacarídeo (LPS), um componente da membrana externa das bactérias Gram-negativas, para induzir lesão pulmonar e reproduzir a SDRA. Esta endotoxina induz uma forte resposta do sistema imunitário normal (WELBOURN; YOUNG, 1992).

WHEELDON *et al.* (1992) avaliaram um modelo de endotoxina aerosolizada intra-traqueal e encontraram que os ratos tratados com ela apresentaram diminuição da complacência e leve edema pulmonar 6 horas depois da exposição. Às 24 horas, encontrou-se abundante exsudado e formação de membranas hialinas com infiltração neutrófila no parênquima pulmonar e às 48 horas observou-se comprometimento extenso do parênquima com grande fluxo de neutrófilos. Finalmente, às 72 horas de exposição, o edema tinha diminuído deixando resíduos proteicos de eosinófilos, com áreas irregulares de consolidação e engrossamento das paredes alveolares. Estes resultados permitiram suportar a ideia de um modelo de lesão induzido por endotoxina.

Mais tarde, outras estratégias demonstraram produzir lesão pulmonar. O trabalho publicado por CHIUMELLO *et al.* (1999) comparou os efeitos locais e sistêmicos de 4 estratégias diferentes de ventilação mecânica (High volume-16 ml/kg- , pressão positiva ao final da expiração de zero [ZEEP]: HVZP; High volume, PEEP de 5 cmH<sub>2</sub>O: HVP; Low volume - 9 ml/kg - ,ZEEP: LVZP; Low volume, PEEP de 5 cmH<sub>2</sub>O: LVP). Os resultados mostraram que a ventilação com volumes altos e ZEEP apresentou um aumento significativo nos níveis do TNF- $\alpha$  e MIP-2 plasmáticos após 4 horas de ventilação. No lavado bronco-alveolar o aumento no nível de citocinas não apresentou diferenças significativas entre os grupos depois de 4 horas de ventilação, porém, o grupo com maior nível (de citocinas) foi o HVZP. Estes resultados mostraram que a estratégia ventilatória usada influi na liberação de citocinas, e pode ser usada para induzir lesão pulmonar.

Estudos posteriores usaram de forma sinérgica o LPS e a lesão pulmonar induzida pela ventilação mecânica (VILI do inglês *ventilator-induced lung injury*) para induzir lesão pulmonar. RICARD *et al.* (2001) demonstraram que o uso de LPS e ventilação mecânica (durante 2 horas) induz liberação de citocinas (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , MIP-2) no plasma, enquanto a ventilação mecânica isolada durante 2 horas e com altos volumes, não produz seu aumento. Um estudo similar apresentado no trabalho de ALTEMEIER *et al.* (2004) mostrou um aumento sinérgico na expressão da IL-8, da proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1 do inglês *monocyte chemoattractant protein-1*) e do oncogene regulador do crescimento- $\alpha$  (GRO- $\alpha$  do inglês *growth-related oncogene- $\alpha$* ) no lavado bronco-alveolar de coelhos tratados com LPS e VM durante 8 horas.

DIXON *et al.* (2009) publicaram os dados do seu modelo de lesão pulmonar que incluiu a instilação de LPS na traqueia do rato seguida por uma manobra de VILI. Seus resultados reportam edema pulmonar de permeabilidade após a injeção de LPS intratraqueal assim como uma resposta inflamatória com aumento das citocinas plasmáticas após 2 horas e permaneceram elevadas após 4 horas. Do mesmo jeito, foi observada resposta inflamatória pulmonar caracterizada por níveis elevados de TNF $\alpha$  e IL-6 após 4 horas da instilação do LPS. A gasometria arterial mostrou queda da oxigenação aos 15 minutos e permaneceu assim nas quatro horas seguintes. Adicionalmente, alterações da mecânica ventilatória se observaram 30 minutos após VM, com aumento da resistência das vias aéreas. O aumento da elastância foi observado após 2 horas da instilação.

Outros modelos de lesão foram estudados por DIROCCO *et al.* (2010). Eles compararam o efeito alveolar da lesão induzida por ventilação mecânica, lipopolissacarídeo, ácido oleico e inativação do surfactante. Os resultados mostraram queda significativa da complacência estática pulmonar e hipoxemia em todos os modelos. Contudo, a hipoxemia levou mais tempo em se desenvolver no grupo de LPS em comparação com os outros grupos. Adicionalmente, todos os grupos com exceção

do grupo de LPS apresentaram um aumento significativo da instabilidade alveolar durante a lesão e mostraram significativamente mais água no pulmão em comparação com os controles. Os dados anteriores permitem validar diferentes modelos para induzir a SDRA em ratos. Neste trabalho utilizaremos o modelo descrito por DIXON *et al.* (2009) (LPS + VILI), para avaliar o efeito agudo do uso de bloqueador neuromuscular, em ratos com SDRA em fase aguda.

# 3 OBJETIVOS

## 3.1 Objetivo Geral

- Avaliar o impacto do modo de ventilação assisto/controlado sobre o trabalho da ventilação, oxigenação e resposta inflamatória em ratos com Síndrome de Desconforto Respiratório Agudo em diferentes planos anestésicos com e sem bloqueador neuromuscular.

## 3.2 Objetivos específicos

- Calcular o trabalho da ventilação a partir da potência do sinal de pressão esofágica (Pesof) em ratos com lesão pulmonar, com dois níveis de sedação/anestesia, com e sem bloqueador neuromuscular, durante duas horas de ventilação mecânica.
- Avaliar a oxigenação, através do índice  $PaO_2/FiO_2$ , no final das duas horas de ventilação de ratos submetidos à lesão pulmonar tratados com dois níveis de sedação/anestesia, com e sem bloqueador neuromuscular.
- Comparar o equilíbrio ácido base no final das duas horas de ventilação de ratos submetidos à lesão pulmonar com dois níveis de sedação/anestesia, com e sem bloqueador neuromuscular.
- Medir os valores de IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 e TNF $\alpha$  no tecido pulmonar no final das duas horas de ventilação de ratos submetidos à lesão pulmonar com dois níveis de sedação/anestesia, com e sem bloqueador neuromuscular.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

Este trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) sob número de referência IBCCF198. Os procedimentos foram realizados no Laboratório de Fisiologia da Respiração (LFR), de acordo com a Lei 11.794 de novembro de 2008, que regulamenta o uso científico de animais.

### **4.1 Tipo de estudo e desenho geral**

Trata-se de um estudo experimental realizado em ratos submetidos a lesão pulmonar induzida com lipopolissacarídeo de *Escherichia Coli* e ventilação mecânica, e posteriormente ventilados mecanicamente durante duas horas. Durante o estudo os ratos foram mantidos com sedação/anestesia com ou sem bloqueio neuromuscular.

### **4.2 Animais e preparação**

Foram estudados 46 ratos Wistar machos, saudáveis, provenientes de biotério central do CCS, com condições de alimentação e acomodação adequadas, e peso entre 300 e 400 g. Os animais foram retirados da gaiola, pesados e colocados na mesa de procedimentos para indução de anestesia e início do protocolo experimental.

#### **4.2.1 Sedação/anestesia e bloqueio neuromuscular:**

Os animais foram anestesiados com isoflurano balanceado em O<sub>2</sub> (50%) e ar medicinal usando vaporizador (Classic T3- Surgivet®). A dose ajustada foi 1,4 e 2,8%vol para o grupo com sedação baixa e alta, respectivamente. Adicionalmente, os ratos com sedação baixa e alta receberam midazolam a dose 0,5 e 2,5 mg/kg/h, respectivamente. O bloqueio neuromuscular foi dado por bensilato de atracurio a dose de 10 mg/kg/h.

#### **4.2.2 Grupos experimentais**

No total seis grupos experimentais foram estudados (cada um deles com seis ratos):

- Grupo I (LOW): Grupo com sedação inalatória superficial;
- Grupo II (HIGH): Grupo com sedação inalatória profunda;
- Grupo III (LOW ATRACÚRIO): Grupo com sedação inalatória superficial + bloqueador neuromuscular;
- Grupo IV (HIGH ATRACÚRIO): Grupo com sedação inalatória profunda + bloqueio neuromuscular;
- Grupo V (CATETERIZADO): Grupo com sedação inalatória profunda + bloqueio neuromuscular + monitoramento hemodinâmico contínuo durante o protocolo experimental;
- Grupo VI: Grupo controle.

### 4.3 Protocolo experimental geral

Posterior à indução anestésica, um cateter de silicone intravenoso calibre 24 (BD Angiocat™) foi inserido na veia da calda para infusão de líquidos basais. Foi realizada intubação traqueal (via oral) usando otoscópio para uso veterinário (Surgical Systems LTD, Ref. 64421) com um cateter de silicone calibre 16.

Logo após intubação, os ratos foram conectados ao ventilador para pequenos animais *Inspira ASV* modelo 557062 (*Harvard Apparatus*, USA) com os denominados “parâmetros ventilatórios de base” que são descritos no Quadro 10. Estes parâmetros foram mantidos por um período de estabilização de 15 minutos. Durante este período, era colocado um termômetro retal para monitoramento contínuo da temperatura do animal (que foi mantida durante o protocolo usando um colchão de aquecimento - Pad Model CAT94B). Neste período de estabilização, iniciava-se também a infusão de líquidos (solução salina normal - SSN) a dose de 10 ml/Kg/hr através da veia da calda e o cateter esofágico era introduzido e posicionado para monitoramento contínuo da Pesof.

Quadro 10. Parâmetros ventilatório de base do protocolo experimental

PARAMETROS VENTILATORIOS DE BASE	
Estratégia ventilatória	Assisto-Controlada
Modo	Volume
Volume corrente ( $V_T$ )	8 ml/ Kg
Frequência respiratória (FR)	70 rpm
Pressão expiratória ao Final expiração (PEEP)	3 cmH <sub>2</sub> O
Relação inspiração: expiração (I:E)	1:2
Fração inspirada de oxigênio (FiO <sub>2</sub> )	50%

Passado o período de estabilização, induzia-se a lesão pulmonar seguindo o modelo usado por DIXON *et al.* (2009).

### 4.3.1 Modelo de lesão pulmonar

A lesão pulmonar foi induzida com a instilação, através do tubo traqueal do rato, de 15 mg/Kg de Lipopolissacarídeo de Escherichia Coli 0111:B4 (L4130, Sigma-Aldrich®), diluídos em SSN e administrados em três volumes separados de 0,1 ml. Após a injeção de cada volume de 0,1 ml, se injetavam 3 ml de ar *in bolus* e se realizava uma manobra de lesão pulmonar induzida pelo ventilador durante 15 segundos (ver parâmetros de VILI no Quadro 11). Finalmente, um período de estabilização de 5 min precedia a instilação da seguinte dose de LPS. O procedimento completo era realizado três vezes como é mostrado na Fig. 8 (DIXON; DE SMET; BERSTEN, 2009).

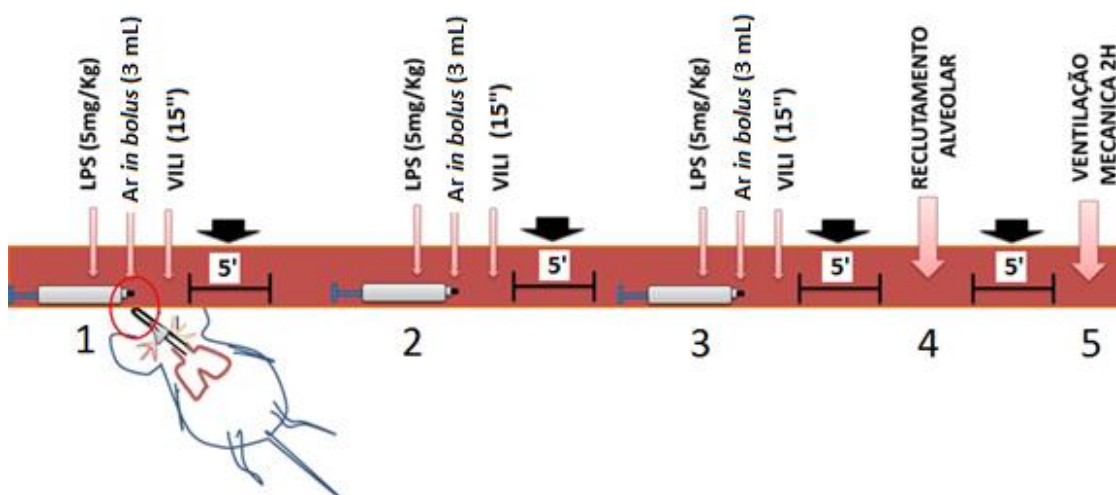


Figura 7. Desenho gráfico do modelo de lesão pulmonar. 1) Instilação do LPS no tubo endotraqueal do rato, seguido de ar *in bolus* e manobra de VILI, 2) e 3) Segunda e terceira dose de LPS, seguida cada uma de ar *in bolus* e VILI. Cinco minutos após a terceira instilação se realizava manobra de recrutamento alveolar e 5' depois começava o período de 2 horas de VM (LPS: Lipopolissacarídeo; VM: ventilação mecânica; VILI: lesão pulmonar induzida pela ventilação mecânica).

Após a última manobra de lesão pulmonar, os grupos III, IV e V receberam midazolam (DORMIRE®) e besilato de atracúrio (TRACUR®) *in bolus*, nas doses correspondentes para cada grupo, e começava a sua infusão contínua por via intravenosa.



Quadro 11. Parâmetros ventilatórios da VILI

PARAMETROS DA LESÃO PULMONAR INDUZIDA PELO VENTILADOR (VILI)	
Estratégia Ventilatória	Assisto-controlado
Modo	Volume
Volume	2,5 * V <sub>T</sub> dos parâmetros de base
FR	32 rpm
PEEP	10 cmH <sub>2</sub> O
FiO <sub>2</sub>	50%
I:E	1:2

Uma manobra de recrutamento alveolar (MRA) foi realizada cinco minutos após finalizada a lesão pulmonar levando a PEEP de 3 a 6, 7 e 8 cmH<sub>2</sub>O, durante 30 segundos. Posteriormente, a PEEP foi ajustada novamente em 3 cmH<sub>2</sub>O e começava o período de ventilação mecânica durante duas horas com parâmetros de base. Durante todo o período de ventilação mecânica a PEEP foi gerada por uma coluna d'água acoplada ao ventilador para pequenos animais.

#### 4.3.2 Gasometria e pressão arterial

Ao finalizar as duas horas de ventilação mecânica a artéria carótida interna foi dissecada e canulada com cateter arterial de 8 cm de comprimento e calibre 20 (REF SAC-00820, ARROW®), em seguida, uma amostra de sangue arterial foi tomada para análise gasométrica. O sangue foi coletado com uma seringa heparinizada e em seguida processada usando o *i-STAT Portable Clinical Analyzer* com cartuchos *i-STAT CG4+* e *CG8+ Cartridge*.

Após gasometria arterial, nos grupos I a IV, sinais de pressão arterial (PA) foram adquiridos e salvos durante 15 minutos para controle hemodinâmico no final do protocolo. Animais com PAM < 60 mmHg ao finalizar o protocolo foram eliminados do estudo. No grupo V a artéria carótida interna foi dissecada e canulada desde o começo do protocolo com o objetivo de monitorar continuamente a PA e avaliar a gasometria

arterial em diferentes momentos: 1) No começo do protocolo; 2) cinco minutos depois da manobra de recrutamento alveolar realizada após a lesão com LPS+VILI; 3) uma hora depois do início da VM; 4) duas horas depois do início da VM. Portanto, este grupo foi usado para avaliar o grau de SDRA obtido no estudo a partir da lesão induzida.

### **4.3.3 Citocinas**

No final do protocolo era injetado na veia cava 0,5 mL de heparina diluídos em 0,5 mL de solução salina normal para perfusão do tecido pulmonar. Posteriormente, os animais foram sacrificados mediante exanguinação associada a sobredose de isoflurano. A traqueia foi ocluída no final da expiração e o pulmão foi extraído, congelado em hidrogênio líquido e depois levado ao freezer a -70°C para análise bioquímica posterior.

#### **4.3.3.1 Análise bioquímica**

O pulmão coletado foi macerado, homogeneizado em uma solução tampão e centrifugado. O sobrenadante foi analisado com o teste de imuno-absorbância ligado a enzima (ELISA do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) usando placas Ref. 3590 (COSTAR®, USA) e kits para IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 e TNF $\alpha$  (DuoSet® ELISA, R&D Systems®, USA). As placas foram lidas com uma longitude de onda de 490 nm usando o leitor de absorbância Elx800 (Biotek®).

### **4.4 Coleta de dados:**

Durante todo o protocolo experimental e em todos os grupos, sinais de pressão de vias aéreas, fluxo e pressão esofágica foram medidos e salvos usando o software desenvolvido por Pino *et al.* (2004) "*Data Acquisition System*" (DAS).

Uma descrição da montagem usada para a coleta de dados é apresentada a seguir:

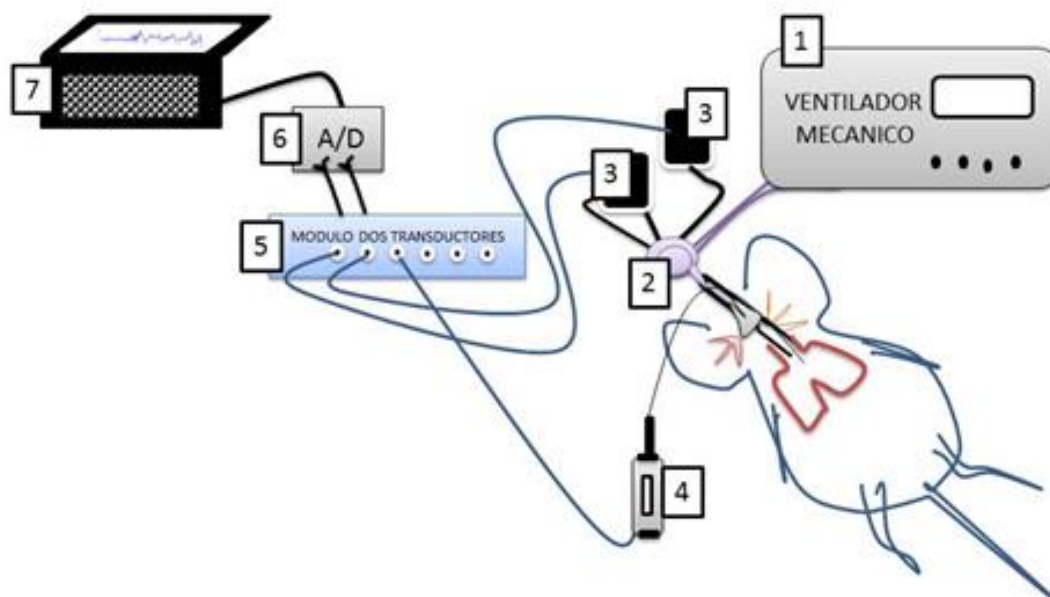


Figura 8. Representação simples da montagem para aquisição de sinais de mecânica ventilatória. 1 )Ventilador Mecânico, 2) Pneumotacógrafo, 3) Transdutores de Pressão de via aérea e fluxo, 4) Transdutor da pressão esofágica, 5) Módulo dos transdutores, 6) Placa analógica-digital, 7) Laptop.

O rato conectado ao ventilador mecânico respira através de um pneumotacógrafo (*Heater Control* - SN 843-372 - HANS RUDOLPH INC.) conectado a um transdutor de pressão diferencial (UT-PDP-02, SCIREQ®) para medição do fluxo e um transdutor de pressão (UT-PDP-75, SCIREQ®) para medição da P<sub>boca</sub>. Os sinais são então transmitidos para o módulo dos transdutores (UT-SCA-08, SCIREQ®, USA).

Ao mesmo tempo, o sinal de pressão esofágica é transmitido do cateter de polietileno (inserido no esôfago) através de um transdutor (UT-PL-100, SCIREQ®, USA). O sinal de pressão arterial é transmitido por um transdutor (UT-PL-400, SCIREQ®, USA) conectado ao cateter inserido na carótida do animal. Ambos os sinais, (PA e Pesof) são também enviados para o módulo dos transdutores.

Todos os sinais (P<sub>boca</sub>, fluxo, Pesof, PA) passam pelo módulo onde são amplificados, filtrados por um passa baixas de 30 Hz e enviados à placa de conversão

analógica-digital (16 bits) onde são amostrados com uma frequência de 200 Hz. Posteriormente os sinais são enviados para um laptop (modelo LGX11) para serem armazenados através do DAS que opera em LabVIEW versão 8.2 (National Instruments, USA).

#### **4.4.1 Calibração dos transdutores**

Todos os transdutores usados para a coleta de dados foram calibrados antes da aquisição dos dados. Os transdutores de Pboca, Pesof e PA, foram calibrados usando uma coluna d'água conectada ao respectivo transdutor, elaborando uma tabela de calibração no DAS (PINO *et al.*, 2004) através do aumento progressivo da pressão gerada pela coluna d'água (de 4 em 4 até 20 cmH<sub>2</sub>O). Finalmente o coeficiente da reta de regressão era obtido e usado como ganho. Para cada sensor um procedimento de calibração e ganho era obtido.

Para a calibração do sinal de Fluxo foi usado o aplicativo "Calibra\_fluxo" (LEP/UFRJ, Brasil) no software DAS (PINO *et al.*, 2004). Com este aplicativo, a partir de um trecho de um minuto do sinal salvo, era ajustado um polinômio de 3º grau. Os coeficientes obtidos do polinômio foram usados como ganho positivo (ou inspiratório) e negativo (ou expiratório) do sinal de fluxo.

#### **4.5 Processamento dos sinais**

Os sinais obtidos da medição da mecânica ventilatória (Pressão de via aérea, esofágica e fluxo), salvos pelo DAS, foram importados e processados pelo *software* MECÂNICA (PINO *et al.*, 2002), no programa MATLAB versão R2009a (Mathworks®, USA). Os ciclos respiratórios foram detectados a partir do sinal de fluxo, o volume corrente foi calculado pela integração numérica do fluxo e a PEEP foi obtida a partir da média das últimas 10 amostras de cada ciclo de Pboca. Para o cálculo da PAM, foi

feita uma média a cada quatro segundos do sinal da PA e a partir dos ciclos detectados no sinal de PA calculou-se a frequência cardíaca.

#### **4.5.1.1 Estimativa do trabalho ventilatório a partir do sinal de pressão esofágica**

Todo o processamento para o cálculo da energia do sinal de pressão esofágica foi realizado usando o software MATLAB versão R2009a (*Mathworks*<sup>®</sup>, USA). Inicialmente foram eliminadas as tendências do sinal e posteriormente foi calculada a densidade de potência espectral deste sinal através do espectrograma (*Hamming* 400, *overlap* 50%). Uma análise visual do espectrograma mostrou maior concentração de energia do sinal na banda de 0 – 8 Hz. Nesta banda, se calculou a integral da densidade de potência espectral e esta representou a potência do sinal de Pesof. Finalmente foi obtida a média da potência durante as duas horas ventilação mecânica e este valor foi considerado um estimativo do trabalho ventilatório de cada rato.

#### **4.6 Análise estatística**

As variáveis numéricas serão apresentadas como média  $\pm$  desvio padrão. O teste de Shapiro Wilk foi realizado para testar normalidade em todos os dados obtidos. ANOVA *One-Way* foi usado para comparar as médias por grupos das variáveis ventilatórias, variáveis gasométricas e da potência do sinal de pressão esofágica. Para a análise *post-hoc* foi usado o teste de *Tukey*. *Nested* ANOVA foi usado fixando a variável “Bloqueio neuromuscular” para comparar os efeitos do uso de relaxante muscular na resposta inflamatória no pulmão e na gasometria arterial. Os dados da gasometria arterial serão apresentados como boxplot.

## 5 RESULTADOS

Do total de ratos, quatro foram eliminados por apresentar PAM<60mmHg no final do protocolo: três do grupo HIGH e 1 do grupo HIGH ATRACURIO. Seis ratos morreram durante o protocolo: 2 do grupo HIGH; 2 do grupo HIGH ATRACURIO; e 2 do grupo CATETERIZADO. Os ratos que morreram e os eliminados por hipotensão foram substituídos para completar 6 ratos em cada grupo estudado.

### 5.1 Modelo de SDRA

A Fig. 9 mostra o modelo de SDRA obtido no estudo (moderado), avaliado a partir da  $PaO_2/FiO_2$  medida durante o protocolo experimental no grupo V.

Observa-se a queda significativa da oxigenação após a lesão com LPS+VILI ( $p= 0,02$ ) em comparação com os valores iniciais. Neste grupo avaliado, a oxigenação baixa persiste ao longo das duas horas de ventilação mecânica ( $p < 0,001$ ).

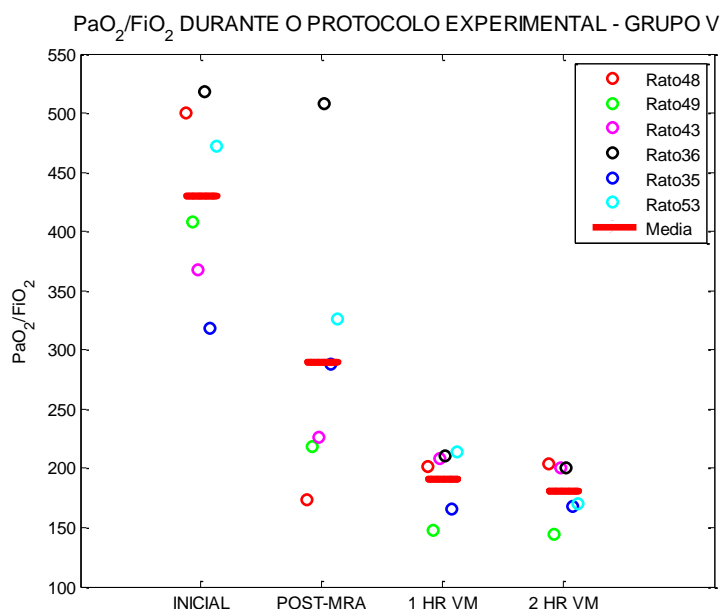


Figura 9. Modelo de SDRA obtido depois da lesão pulmonar induzida. \*A pesar de que o grau de severidade da SARA é definido pela Sociedade Europeia é a partir da  $PaO_2/FiO_2$  em pacientes com PEEP>5 e  $FiO_2$ >50%, em ratos a PEEP de mínima elastância é de 3 cmH<sub>2</sub>O. Por tanto, consideramos esta classificação graus de severidade da SDRA definidos pela Sociedade Europeia para a classificar nosso modelo obtido. MRA: manobra de recrutamento alveolar; HR: hora; VM: ventilação mecânica.

## 5.2 Variáveis ventilatórias

A Tab. 1 descreve a média durante as duas horas das principais variáveis ventilatórias apresentadas como média  $\pm$  desvio padrão.

Tabela 1. Média por grupos das variáveis ventilatórias durante as duas horas de VM.

GRUPO	Ppico (cmH <sub>2</sub> O)	Pmedia (cmH <sub>2</sub> O)	FR (rpm)	V <sub>T</sub> (ml/Kg)	PEEP (cmH <sub>2</sub> O)
LOW	12,55 $\pm$ (0,8) †	5,63 $\pm$ (0,4) †	68,94 $\pm$ (0,4)	9,0 $\pm$ (0,001)	3,49 $\pm$ (0,4) ††
HIGH	15,02 $\pm$ (0,4)	6,39 $\pm$ (0,3)	69,08 $\pm$ (0,4)	9,0 $\pm$ (0,002)	2,95 $\pm$ (0,2)
LOW ATR	15,76 $\pm$ (0,9)	6,36 $\pm$ (0,3)	69,07 $\pm$ (0,6)	8,2 $\pm$ (0,005)	2,71 $\pm$ (0,2)
HIGH ATR	15,43 $\pm$ (0,6)	6,32 $\pm$ (0,2)	69,34 $\pm$ (0,2)	8,1 $\pm$ (0,004)	2,75 $\pm$ (0,2)

†p<0,05 do grupo LOW em comparação com os outros grupos

††p<0,05 do grupo LOW em comparação com grupos HIGH ATR e LOW ATR

Os valores de Ppico e Pmedia foram menores no grupo LOW em comparação com os outros grupos com diferença estatística significativa (p=0,001 e p=0,01 respectivamente). A FR e o V<sub>T</sub> não tiveram diferença estatística entre os grupos (p=0,5 e p=0,2 respectivamente). A PEEP foi significativamente maior no grupo LOW em comparação com os grupos LOW ATRACÚRIO e HIGH ATRACÚRIO por um ajuste errado da coluna de d'água em 3 ratos do grupo (LOW) que não foi detectado durante o protocolo (p= 0,006 e p= 0,009 respectivamente).

## 5.3 Frequência cardíaca e pressão arterial

Os valores de FC e PA medidos no final das duas horas de VM são apresentados nas Fig. 10 e 11. Todos os ratos que entraram no estudo acabaram o protocolo experimental com PAM>60 mmHg, no entanto, quatro ratos do grupo LOW e um do grupo HIGH não têm registro do sinal da PA salvo no DAS. Nos grupos bloqueados, todos os ratos tem registro salvo da PA.

A frequência cardíaca e a pressão arterial não apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos ( $P=0,1$  e  $P=0,18$ , respectivamente).

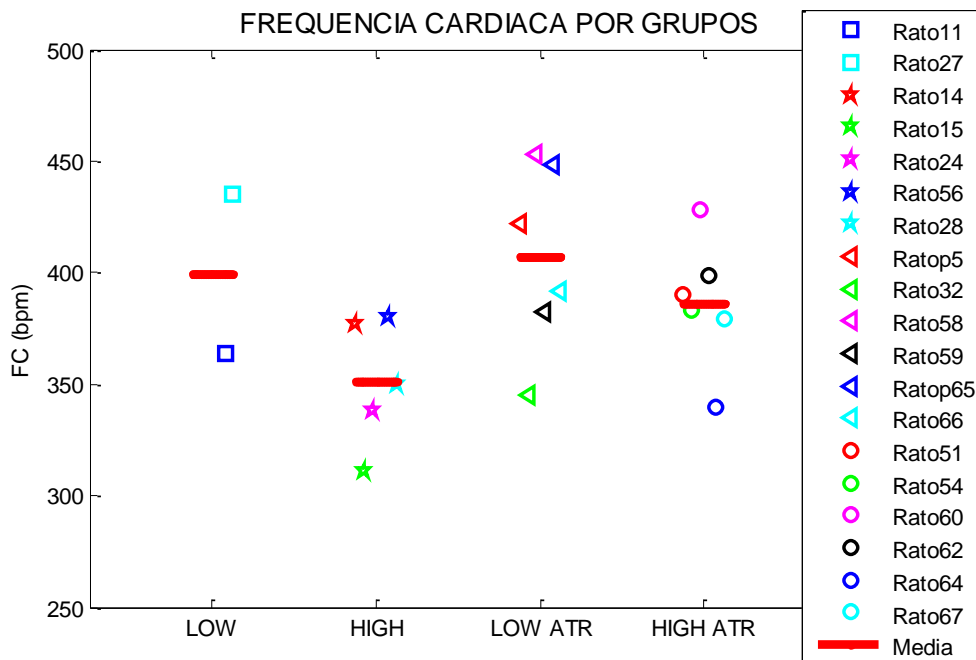


Figura 10. Frequência Cardíaca por grupos no final do protocolo

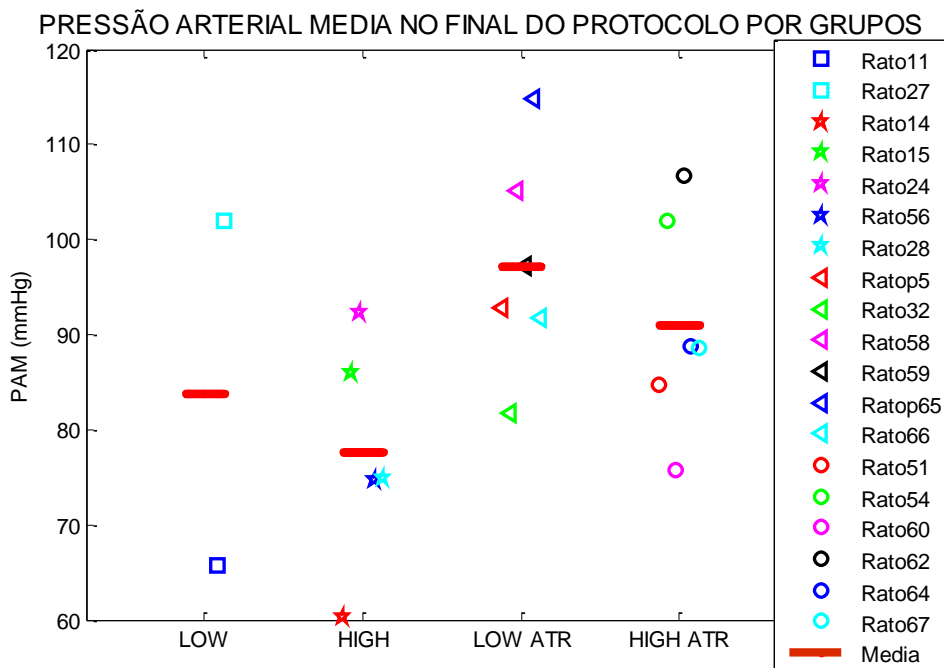


Figura 11. Pressão arterial dos ratos no final das duas horas de VM



## 5.4 Potência do sinal de Pesof

A Fig. 12 mostra um sinal característico, das curvas da pressão pico, fluxo e pressão esofágica, de um rato de cada grupo tratado. Observam-se as diferenças significativas na morfologia da curva da pressão esofágica no grupo LOW em comparação com os outros grupos.

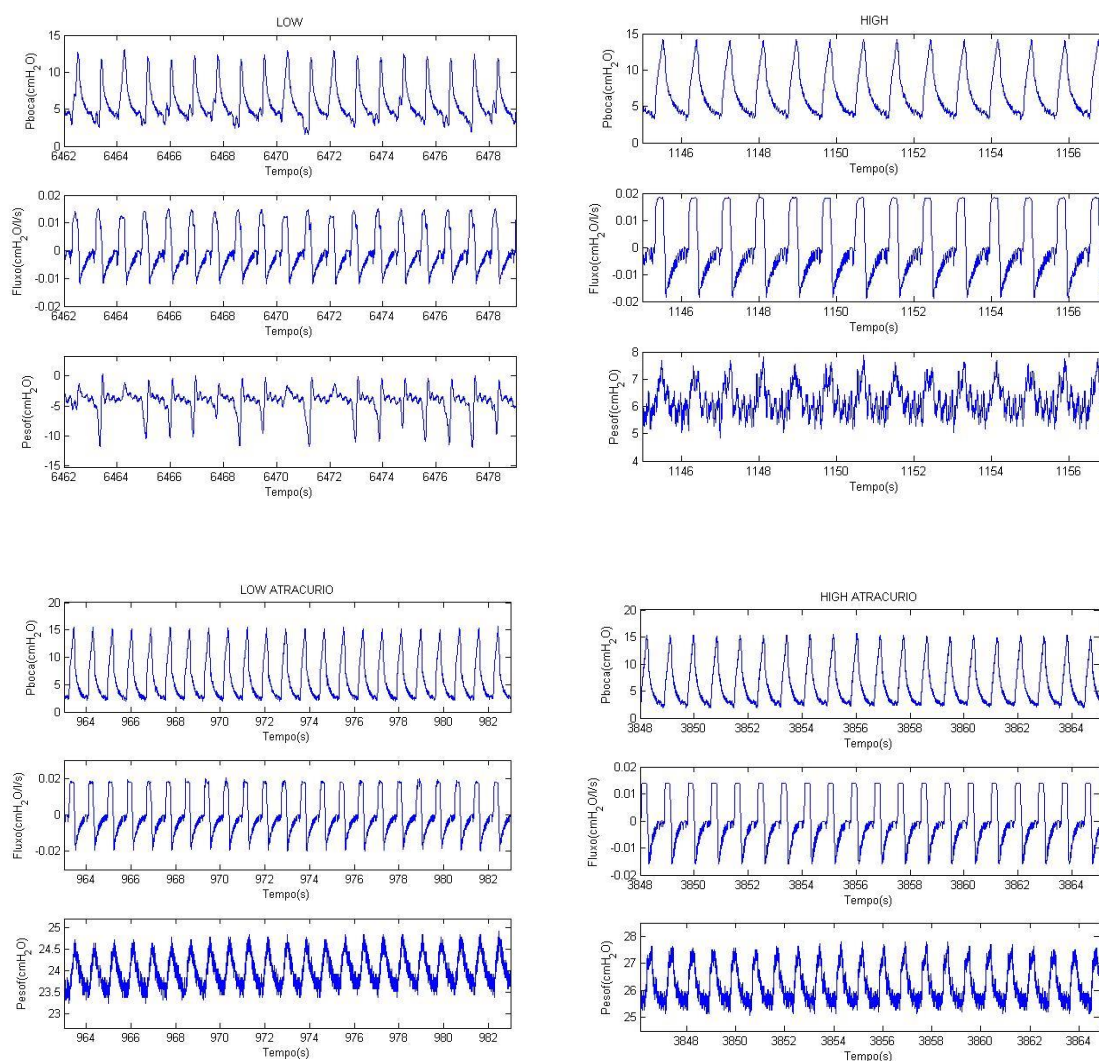


Figura 12. Curvas características dos sinais de mecânica ventilatória por grupos. De esquerda a direita e superior a inferior: Curvas de Pboca, Fluxo e Pesof em um rato do grupo LOW, HIGH, LOW ATRACÚRIO e HIGH ATRACÚRIO.

Os ratos com baixa sedação (grupo LOW) apresentaram esforço inspiratório ativo durante a ventilação mecânica, apresentando maiores valores de potência do sinal de pressão esofágica em comparação com os outros grupos ( $p=0,004$ ) (Fig. 13). O rato 28 do grupo HIGH foi eliminado da análise por ser considerado *outlier* (foram definidos como *outliers* valores com  $\text{media} \pm 2*DP$ ).

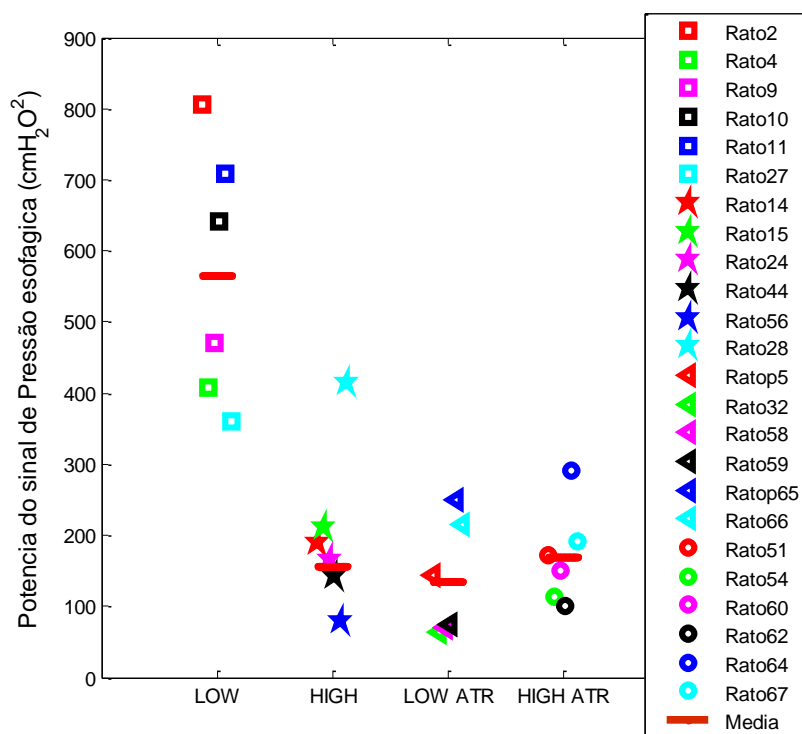


Figura 13. Média da potência do sinal da pressão esofágica em cada rato e media por grupos

A Fig. 14 mostra a potência do sinal em 3 ratos do grupo LOW, note-se o padrão morfológico da curva com características flutuantes durante as duas horas da ventilação. Observa-se também períodos em que a potência do sinal aumenta e períodos em que a potência diminui para depois aumentar de novo. Nos ratos com sedação alta e nos ratos com bloqueio neuromuscular (Fig. 15), a potência do sinal apresenta características mais estáveis no tempo.

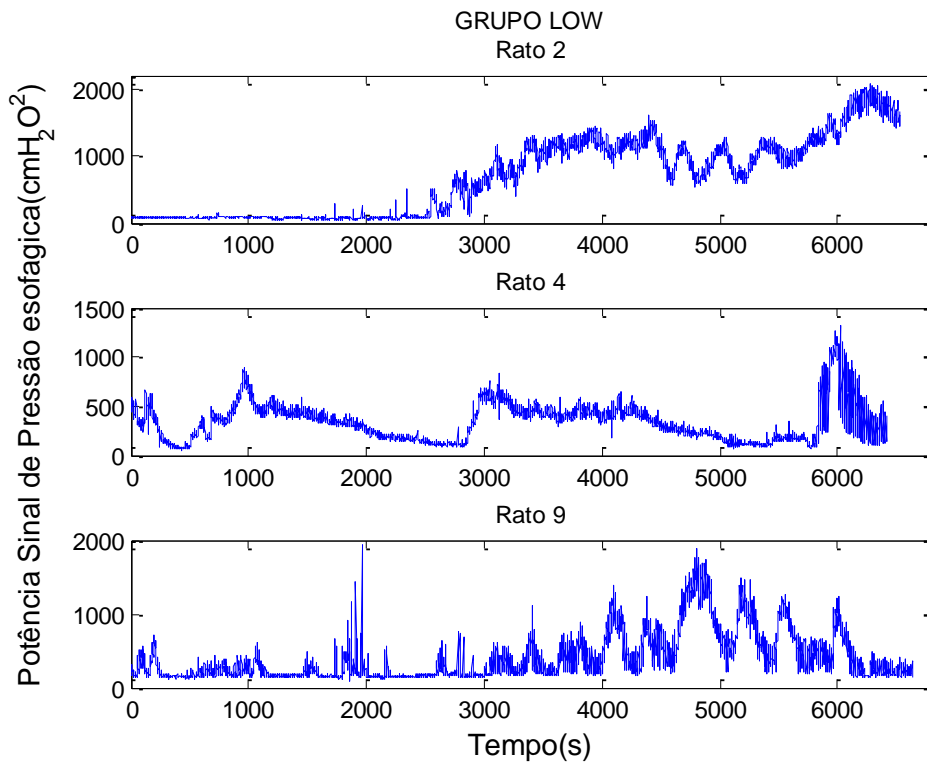


Figura 14. Potência do sinal de Pesof em três ratos do grupo LOW.

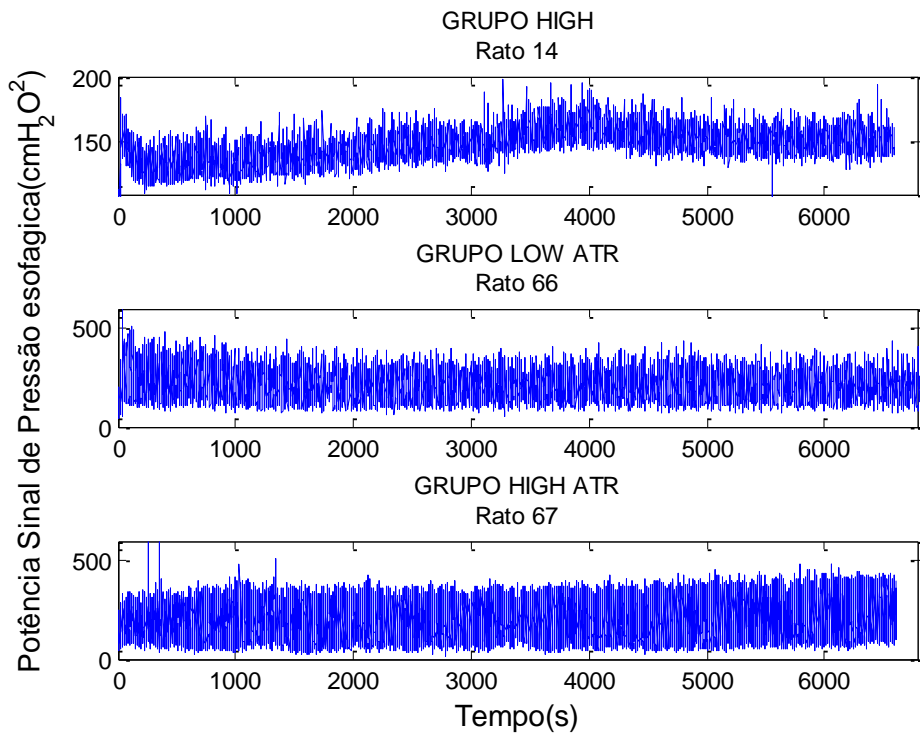


Figura 15. De acima para baixo: Gráficos característicos da potência do sinal de Pesof de um rato do grupo HIGH, um rato do grupo LOW ATRACÚRIO e um rato do grupo HIGH ATRACÚRIO

## 5.5 Resposta inflamatória no tecido pulmonar:

### 5.5.1.1 IL-6

Todos os grupos tratados apresentaram concentrações de IL-6 significativamente maiores em comparação com o grupo controle ( $p < 0,001$ ). No entanto, ao comparar os valores de IL-6 nos 4 grupos tratados se encontraram valores significativamente menores no grupo LOW em comparação com os outros grupos ( $p < 0,001$ )(Fig. 16).

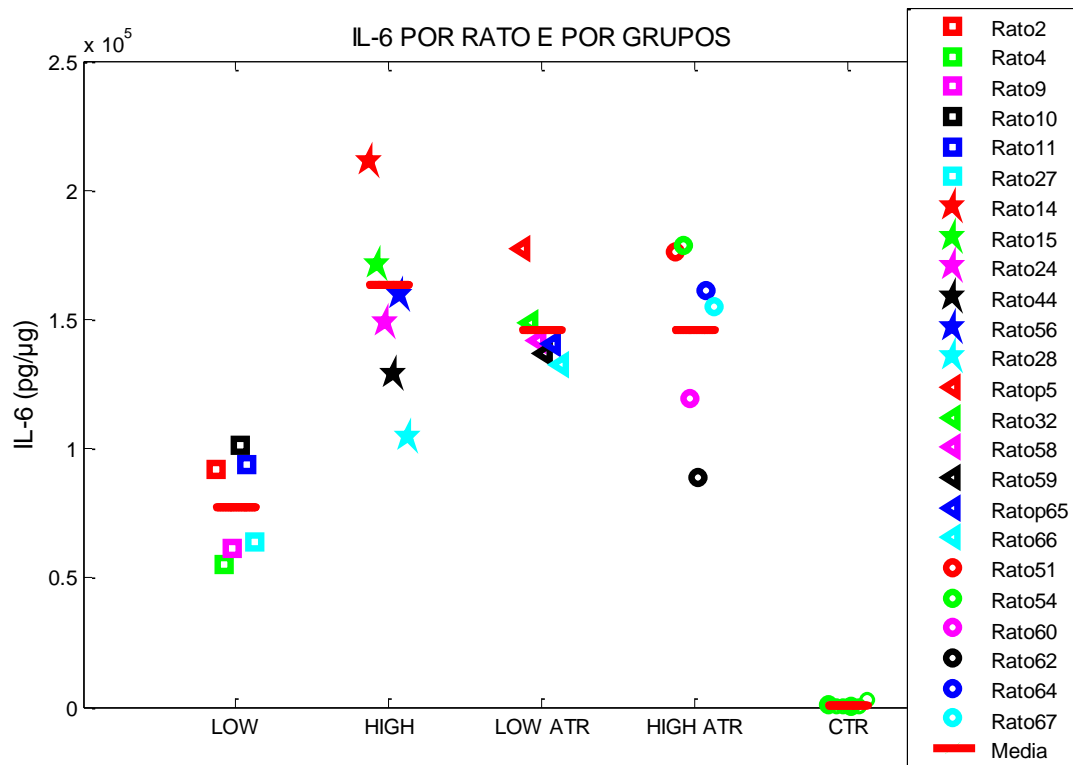


Figura 16. IL-6 no tecido pulmonar nos diferentes grupos no final do protocolo.

### 5.5.1.2 IL-10

A Fig. 17 mostra os valores de IL-10 no tecido pulmonar por grupos. O rato 2 e 27 do grupo LOW; o rato 28 do grupo HIGH; o rato 67 do grupo HIGH ATRACURIO; e o rato 41 do grupo CONTROLE foram eliminados por serem *outliers*.

As concentrações de IL-10 nos grupos HIGH, LOW ATRACÚRIO, HIGH ATRACÚRIO e Controle apresentam valores significativamente menores em comparação com o grupo LOW ( $p=0,002$ ). Os primeiros 4 grupos (HIGH, LOW ATRACÚRIO, HIGH ATRACÚRIO e Controle) não apresentaram diferença estatística entre eles ( $p=0,1$ ).

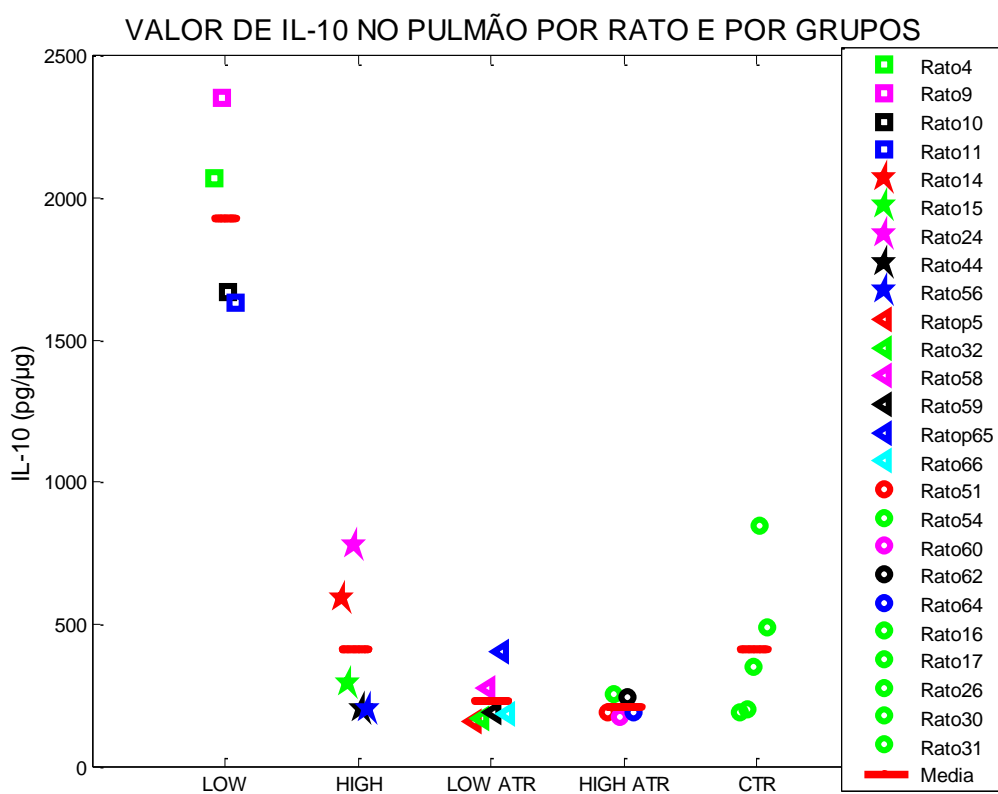


Figura 17. IL10 no tecido pulmonar por ratos e por grupos

### 5.5.1.3 IL-1 $\beta$

Os valores de IL-1 $\beta$  por grupos são apresentados na Fig. 18. O rato 44 do grupo HIGH foi eliminado da análise por ser considerado *outlier*. Os grupos LOW e HIGH apresentaram concentrações significativamente maiores em comparação com o grupo controle ( $p < 0,05$ ).

Uma análise agrupando os grupos tratados com e sem relaxante neuromuscular demonstrou diferença estatística entre eles ( $p = 4e-05$ ). O nível de sedação dentro de cada grupo (bloqueados *versus* não bloqueados) não afetou a resposta da IL-1 $\beta$  ( $p = 0,1$ ).

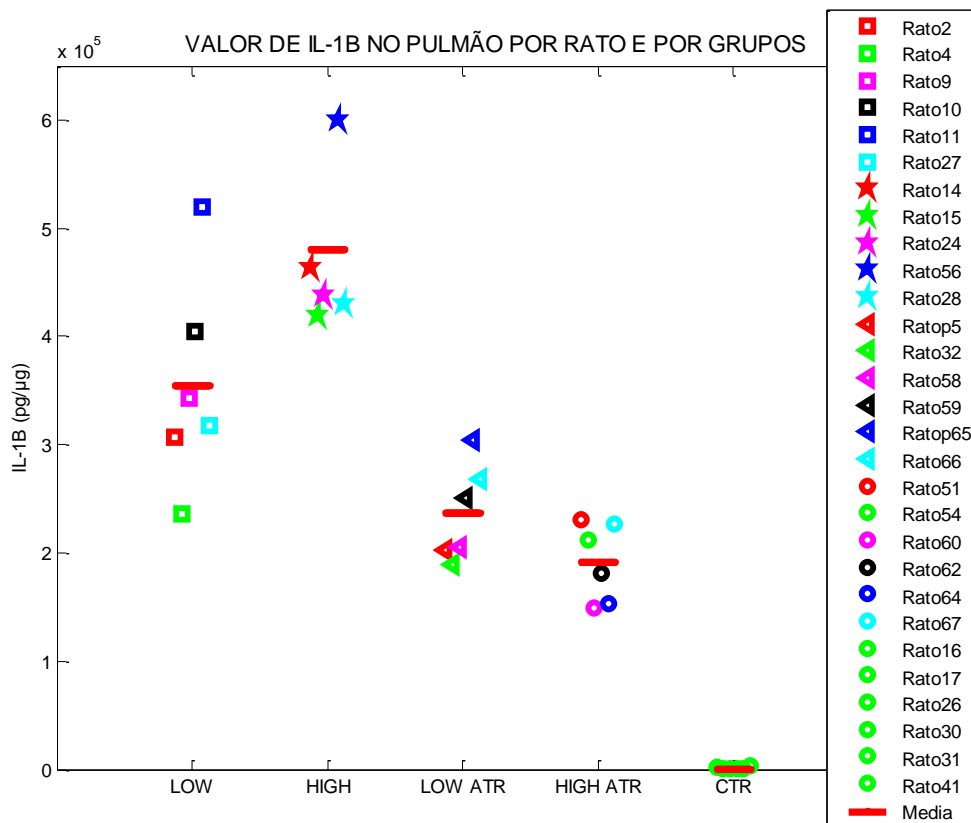


Figura 18. Valores de IL-1 $\beta$  no tecido pulmonar por grupos no final do protocolo

### 5.5.1.4 TNF $\alpha$

A Fig. 19 mostra os valores do TNF- $\alpha$  no final das duas horas de ventilação por grupos. O rato 27 do grupo LOW e 65 do grupo LOW ATRACURIO foram eliminados por serem *outliers*.

As concentrações de TNF- $\alpha$  no grupo LOW foram maiores estatisticamente em comparação com o grupo controle ( $p < 0,05$ ). Adicionalmente, foram observadas maiores concentrações de TNF- $\alpha$  nos grupos tratados sem bloqueador neuromuscular em comparação com os grupos bloqueados ( $p = 0,005$ ). O nível de sedação dentro de cada grupo (bloqueados *versus* não bloqueados) não influenciou no resultado ( $p = 0,22$ ).

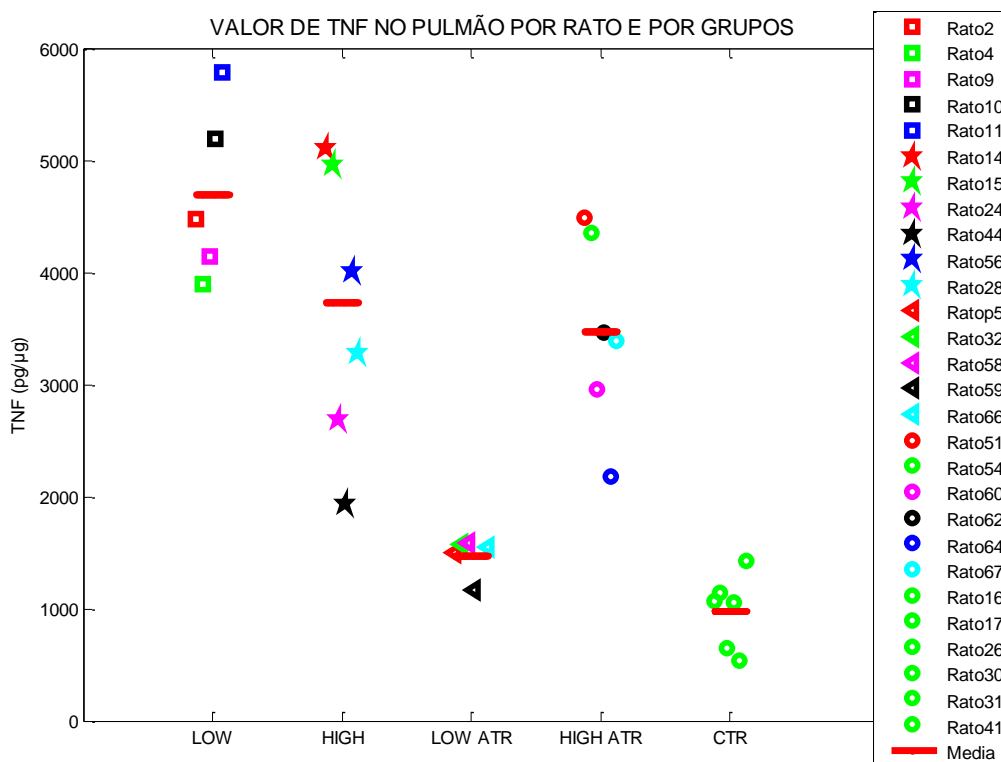


Figura 19. Valor TNF- $\alpha$  no tecido pulmonar por grupos no final do protocolo

## 5.6 Resposta inflamatória no plasma:

### 5.6.1 IL-6

As concentrações de IL-6 no plasma foram maiores nos grupos HIGH, LOW ATRACURIO e HIGH ATRACURIO em comparação com o grupo controle ( $p < 0,05$ ) (Fig. 20).

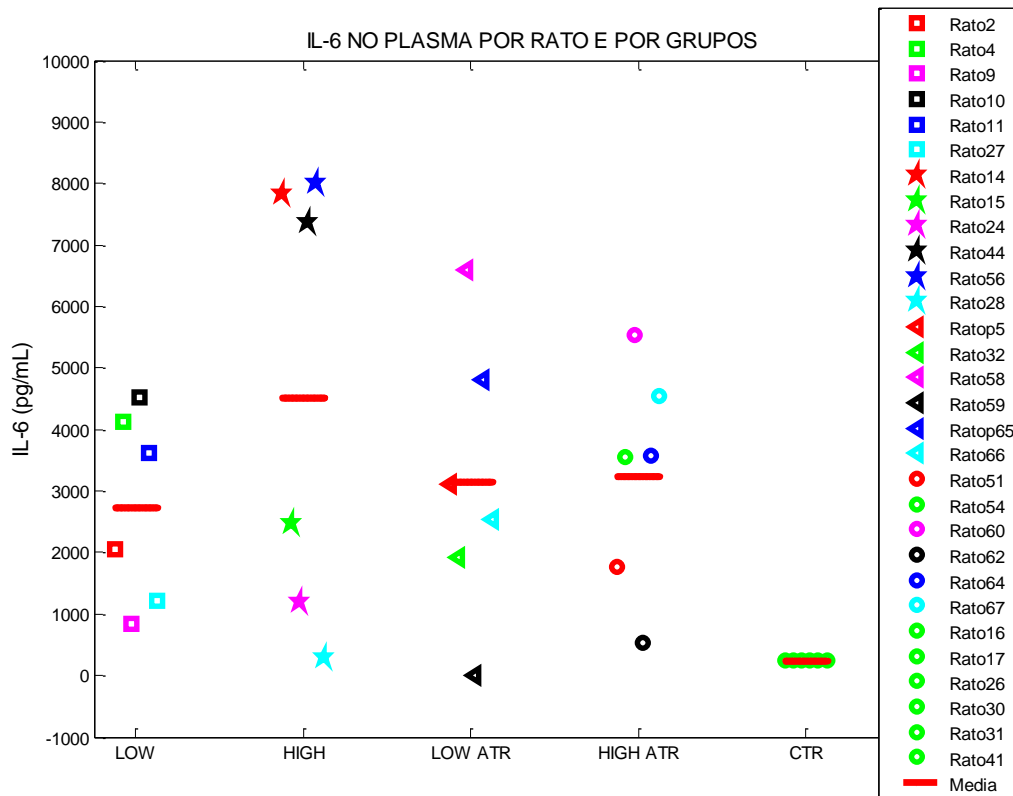


Figura 20. IL-6 no plasma por rato e por grupos no final do protocolo.

### 5.6.2 IL-10 e IL-1 $\beta$ :

As concentrações de IL-10 e IL-1 $\beta$  no plasma nos diferentes grupos apresentaram os mínimos valores detectados pelo leitor de ELISA, sem mostrar diferença com o grupo controle ( $p=1$ ).



### 5.6.3 TNF- $\alpha$

As concentrações de TNF- $\alpha$  no plasma são apresentadas na Fig. 21. O rato 27 do grupo LOW, 66 do grupo LOW ATRACURIO e 62 do grupo HIGH ATRACURIO foram eliminados por serem considerados *outliers*. Nenhum dos grupos tratados apresentou valores significativamente maiores em comparação com o grupo controle ( $p < 0,05$ ).

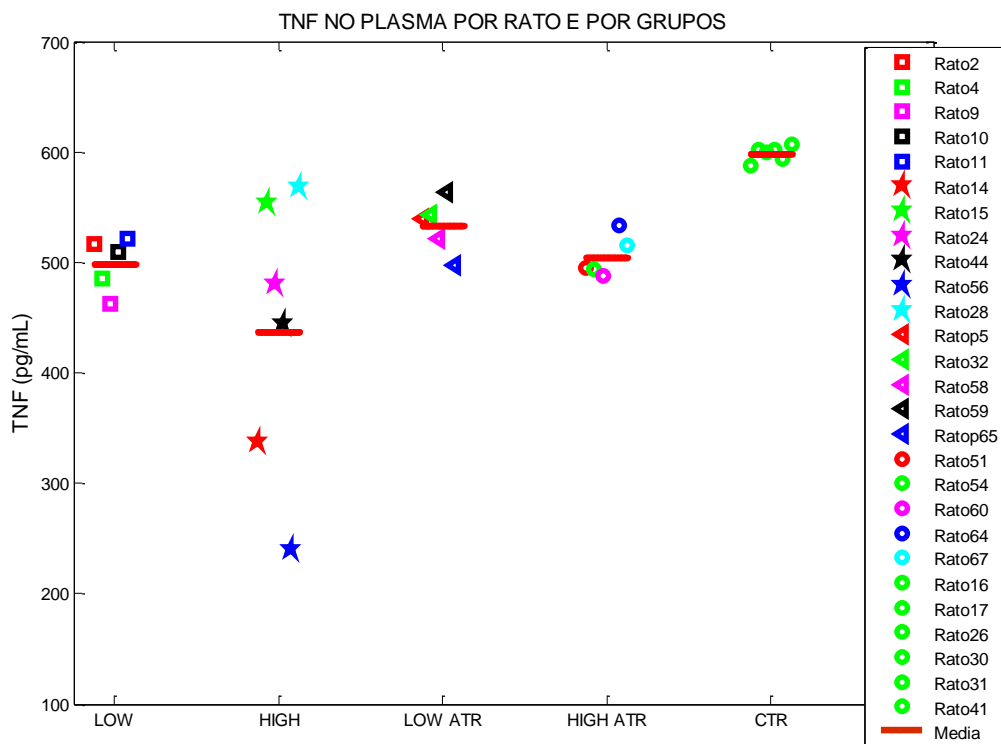


Figura 21. TNF- $\alpha$  no plasma por grupos no final do protocolo.

## 5.7 Gasometria arterial

### 5.7.1 Índice $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$

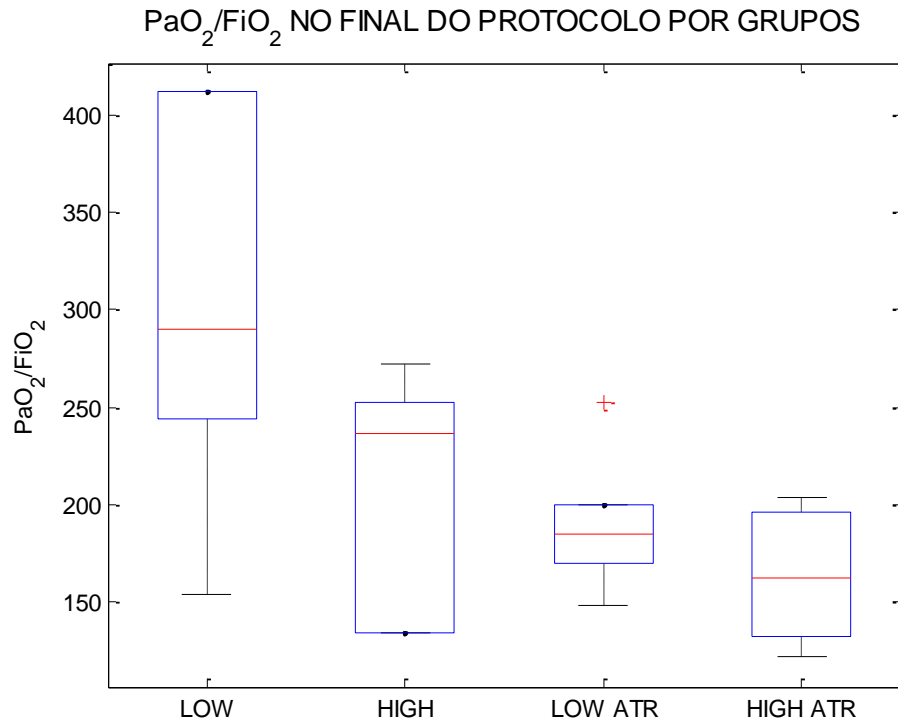


Figura 22.  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  por grupos no fim do protocolo (n=6)

A Fig. 22 mostra o índice  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  no final do protocolo por grupos. Os valores deste índice no grupo LOW foram significativamente maiores em comparação com os grupos bloqueados ( $p < 0,05$ ).

### 5.7.2 Pressão arterial de dióxido de carbono (PaCO<sub>2</sub>)

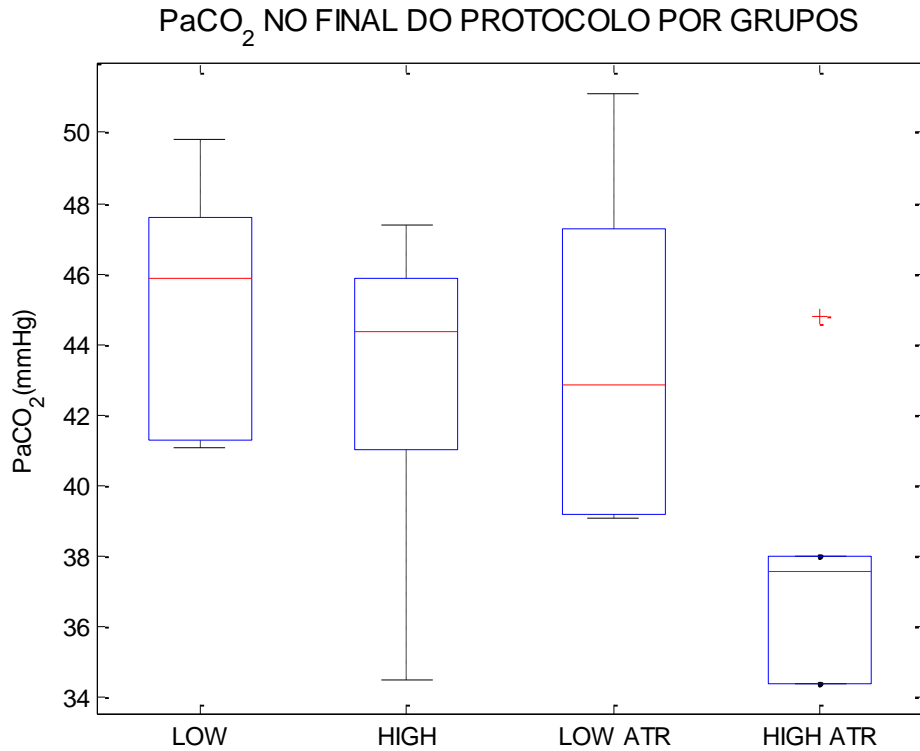


Figura 23. PaCO<sub>2</sub> no final do protocolo por grupos (n=6)

A PaCO<sub>2</sub> mostrou maiores valores no grupo LOW em comparação com o grupo HIGH ATRACURIO ( $p < 0,05$ ). Ao comparar os grupos entre “bloqueados” e “não bloqueados” se encontraram maiores valores nos grupos não bloqueados em comparação com os grupos bloqueados ( $p = 0,03$ ). A presença de sedação alta ou baixa influenciou o resultado de PaCO<sub>2</sub> dentro dos subgrupos ( $P = 0,01$ ). Ver Fig. 23.

### 5.7.3 Bicarbonato ( $\text{HCO}_3$ )

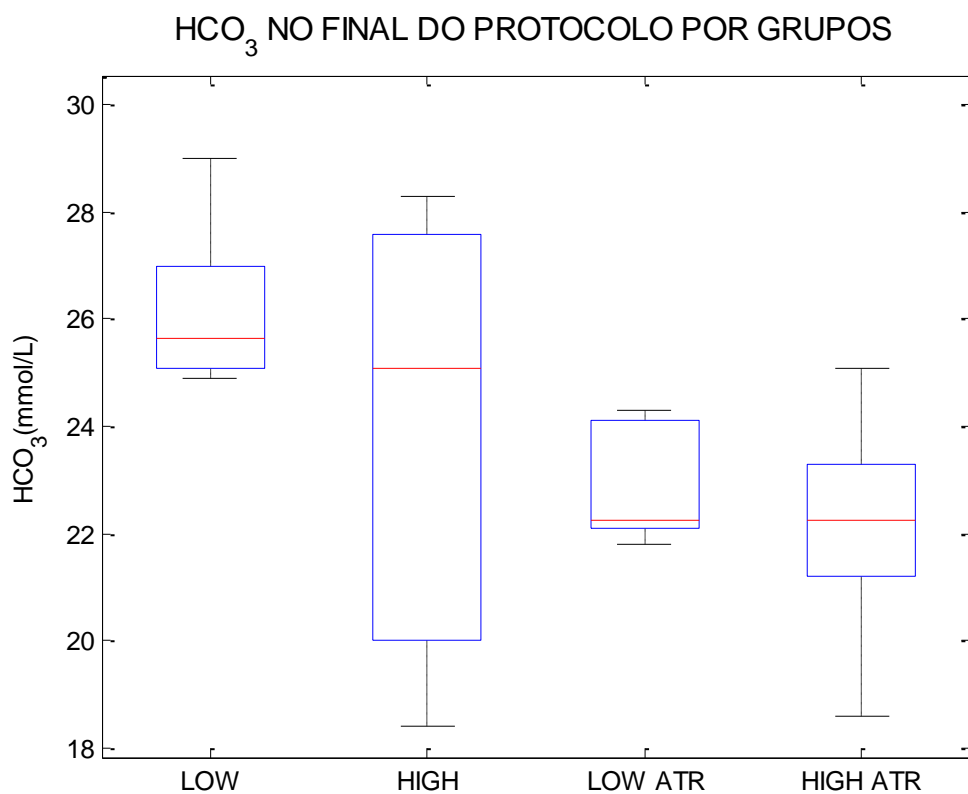


Figura 24.  $\text{HCO}_3$  por grupos no fim do protocolo (n=6)

Foram encontrados maiores valores de  $\text{HCO}_3$  no grupo LOW em comparação com os grupos LOW ATRACURIO e HIGH ATRACURIO ( $p < 0,05$ ). Uma análise agrupada (bloqueados *versus* não bloqueados) mostrou maiores valores nos grupos sem bloqueador neuromuscular ( $p = 0,01$ ), mas o nível de sedação dentro dos grupos não parece afetar o resultado ( $p = 0,1$ ). Ver figura 24.

#### 5.7.4 Potencial de Hidrogênio (pH)

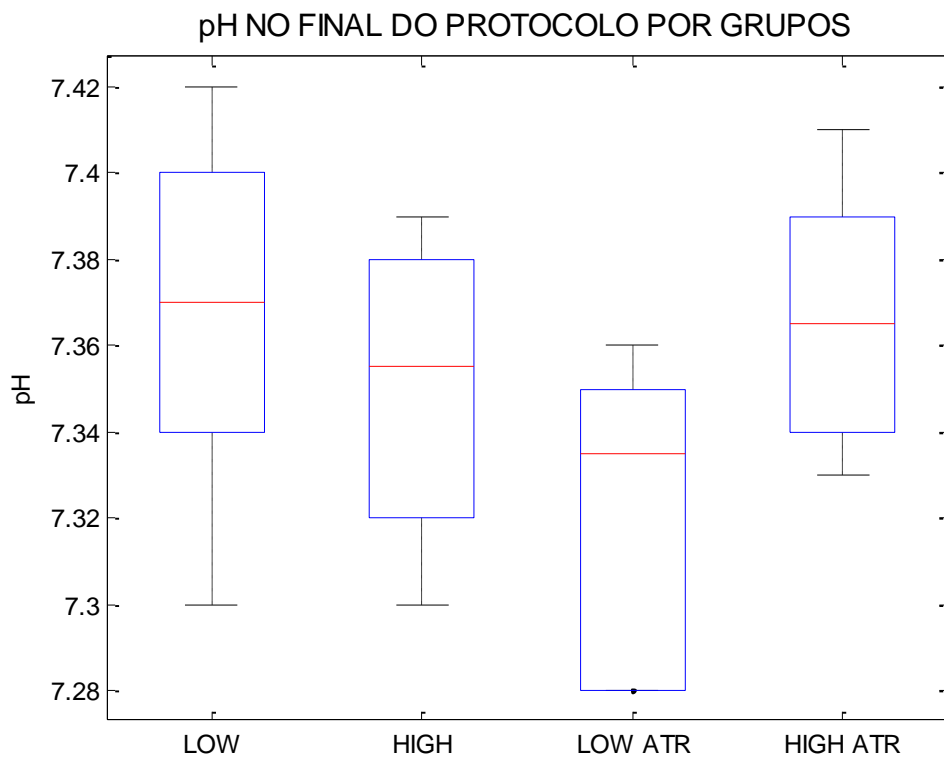


Figura 25. pH no final das duas horas de VM por grupos (n=6)

O pH no final do protocolo não apresentou diferença estatística significativa entre os grupos bloqueados e não bloqueados ( $p=0,4$ ) e a sedação também não afetou o resultado dentro dos grupos ( $p=0,3$ ). Ver Fig. 25.

## 6 DISCUSSÃO

Em este modelo experimental de SDRA, níveis baixos de sedação que permitem a respiração espontânea mostraram melhores índices de oxigenação, menor resposta inflamatória e maior resposta anti-inflamatória depois de duas horas de ventilação mecânica. Adicionalmente, este grupo de ratos com respiração espontânea apresentou menores pressões pico e media durante o período em ventilação, sugerindo maior recrutamento alveolar em comparação com os outros grupos.

Estes resultados concordam com estudos prévios realizados em animais com lesão pulmonar induzida, que encontraram melhor oxigenação arterial, ao manter respiração espontânea durante a ventilação mecânica. PUTENSEN *et al.* (1994) demonstraram melhor oxigenação e distribuição V/Q em cães com lesão pulmonar induzida por ácido oleico que foram ventilados com períodos de respiração espontânea. Resultados similares foram reportados por WRIGGE *et al.* (2003) que encontraram melhor aeração e oxigenação em porcos com lesão pulmonar induzida pelo mesmo ácido (oleico), ventilados em modos ventilatórios que permitiam períodos de assistência ventilatória. Posteriormente, outro estudo realizado em porcos com lesão pulmonar mostrou menor shunt no grupo de animais em ventilação mecânica tratados com períodos de respiração espontânea (NEUMANN *et al.*, 2005).

Os resultados anteriores podem ser explicados pelo fato de que esforços espontâneos durante a inspiração promovem um maior deslocamento do diafragma nas zonas posteriores (áreas dependentes) normalmente mal aeradas, aumentando a ventilação. A maior aeração das zonas dependentes, que são bem perfundidas, diminui o shunt existente, melhorando a relação ventilação/perfusão e conseqüentemente a oxigenação. Quarenta anos atrás, FROESE *et al.* (1974) demonstraram a vantagem mecânica da respiração espontânea devido ao maior deslocamento do diafragma às regiões dependentes do pulmão. Eles mostraram que

a paralisia muscular causa o deslocamento cefálico do diafragma e este, somado à menor pressão abdominal das regiões não dependentes, provocam maior distribuição de ar com detrimento das zonas dependentes. Esta alteração da relação V/Q compromete finalmente a oxigenação arterial.

Outro possível fator que poderia explicar a melhor oxigenação nos ratos com respiração espontânea é a redistribuição do fluxo sanguíneo pulmonar. CARVALHO *et al.* (2009) avaliaram a respiração espontânea em porcos com lesão pulmonar leve e encontraram que os melhores índices de oxigenação nos animais ventilados em modos espontâneos foram resultado da redistribuição do fluxo sanguíneo pulmonar das regiões dependentes às regiões não dependentes (melhor ventiladas), otimizando a relação V/Q destas últimas.

Estudos realizados em humanos com SDRA leve-moderado também confirmaram os efeitos positivos da respiração espontânea durante a VM. SYDOW *et al.* (1994) encontraram melhores índices de oxigenação e maior recrutamento alveolar em pacientes com SDRA leve mantidos com respiração espontânea durante a VM. Adicionalmente, PUTENSEN *et al.* (2001) mostraram melhor complacência do sistema respiratório, melhor PaO<sub>2</sub> e aumento do índice cardíaco em pacientes com SDRA leve-moderada ventilados com estratégias que permitiam esforços espontâneos durante a ventilação mecânica. Neste grupo de pacientes, o menor requerimento de sedação, esteve associado com menor tempo de requerimento ventilatório e de internação na UTI.

No entanto, o nível de severidade da SDRA pode ser determinante na hora de decidir a assistência ou não à ventilação mecânica. O modelo de lesão usado no presente estudo (DIXON; DE SMET; BERSTEN, 2009) conseguiu reproduzir uma SDRA moderada e os ratos foram mantidos durante duas horas em VM. Nesta fase aguda, manter baixa sedação, mostrou melhores resultados nas variáveis ventilatórias avaliadas e na oxigenação arterial. No entanto, estes resultados são válidos só para a fase aguda da SDRA moderada e não é possível concluir em um contexto geral que

ratos com SDRA apresentam melhores resultados ao serem mantidos com respiração espontânea. Casos de SDRA severa com grande dificuldade respiratória e alto consumo de oxigênio, provavelmente não poderão ser mantidos com esta estratégia, pelo risco de aumentar ainda mais a demanda de oxigênio e contribuir para a fadiga do diafragma. Outro possível efeito adverso de manter a respiração espontânea em casos de SDRA severa é o aumento da lesão pulmonar já instaurada. Isto foi demonstrado recentemente por YOSHIDA *et al.* (2013) que compararam a respiração espontânea e o bloqueio neuromuscular em coelhos com SDRA leve e severa. Eles encontraram que as vantagens da respiração espontânea na SDRA são observadas nos casos leves como resultado da redistribuição do volume de ar nas regiões dependentes do pulmão. Entretanto, no grupo de coelhos com SDRA severa o efeito da respiração espontânea foi negativo, provocando maior colapso alveolar. Nestes coelhos o uso de bloqueador neuromuscular resultou em melhor oxigenação e menor lesão pulmonar histológica. Os autores concluíram que em casos de SDRA severa, o maior esforço respiratório e a maior pressão transpulmonar como resultado da respiração espontânea pode causar maior lesão no pulmão, e por tanto, a paralisia muscular pode ser considerada protetiva.

Contudo, permanece a critério do clínico decidir a pertinência do uso de bloqueador neuromuscular em pacientes com SDRA severa, considerando as desvantagens conhecidas da paralise do diafragma (como atrofia muscular e maior tempo de ventilação mecânica) que podem contribuir para o desenvolvimento da disfunção diafragmática induzida pela ventilação mecânica (POWERS *et al.*, 2013). Esta demonstrado que manter na maior proporção possível a contração diafragmática durante a VM evita os efeitos adversos da inatividade muscular o que facilita finalmente o desmame do ventilador. SASSOON *et al.* (2004) mostraram em coelhos submetidos a ventilação mecânica, que manter a contração do diafragma durante a ventilação mecânica atenua a perda de força causada pela inatividade muscular completa.



Considerando o anterior, uma estratégia para o suporte de pacientes com SDRA severa é a administração de altas doses de sedação para diminuir o trabalho respiratório e facilitar o acople ventilatório. Levando em consideração os resultados deste estudo, os grupos de ratos mantidos só com sedação (mesmo sendo alta) e sem BNM apresentaram melhores resultados (em termos de oxigenação) em comparação com os grupos bloqueados. Por outro lado, nós estimamos o trabalho ventilatório a partir a media da potência do sinal de Pesof e encontramos que ratos com sedação alta sem BNM e ratos com BNM não apresentaram diferença estatística na media da potência do sinal, evidenciando um grau de trabalho similar entre eles. Por tanto, uma sedação suficientemente alta pode diminuir o trabalho inspiratório até um nível similar ao alcançado com o uso de bloqueio muscular. As vantagens de desta situação encontram-se na possibilidade de conseguir acoplar o paciente ao ventilador só com agentes sedantes (mesmo a doses altas), evitando o uso de BNM desde fases iniciais e minimizando os efeitos adversos do seu uso por períodos prolongados (TRIPATHI; HUNTER, 2006).

Outros resultados interessantes deste estudo são as menores quantidades de IL-6 (no tecido pulmonar e plasma), com aumento da citocina anti-inflamatória IL-10 (no tecido pulmonar) encontradas nos ratos do grupo LOW. Estes resultados podem ser causados pelo efeito protetor do recrutamento alveolar nos ratos mantidos com respiração espontânea, que pode ter reduzido a abertura e fechamento cíclico de unidades alveolares colapsadas (que é um conhecido fator desencadeante de lesão pulmonar) (SLUTSKY, 1999). Por outro lado, é sabido que a hiperinflação regional é um fator importante na geração de lesão pulmonar (SLUTSKY; RANIERI, 2013). Nos grupos sem assistência a VM, a menor ventilação nas regiões dependentes, pode ter feito com que o volume corrente programado na VM fosse distribuído nas áreas não dependentes produzindo hiperinflação. Esta tensão excessiva gerada nos alvéolos pode ter contribuído com a maior resposta inflamatória observada nos grupos HIGH, LOW ATRACÚRIO e HIGH ATRACÚRIO.

Outros resultados interessantes na resposta inflamatória foram as maiores concentrações de IL-1 $\beta$  nos grupos tratados sem bloqueador neuromuscular. Estudos recentes tem demonstrado que os inflamasomas (complexos de macromoléculas intracelulares) tem um papel importante na propagação da resposta inflamatória e na ativação de citocinas pertencentes à família da IL-1 (entre elas a IL-1 $\beta$ ) na lesão pulmonar aguda (DOLINAY *et al.*, 2012). Um estudo recente realizado por WU *et al.*, (2013) com macrófagos alveolares isolados *in vitro*, mostrou que o stress mecânico ativa o receptor NLRP3 (do inglês *Nucleotide-binding-domain, leucine rich repeat domain containing protein*) responsável pela ativação da caspasa-1 que finalmente facilita a produção da IL-1 $\beta$  produzindo inflamação e lesão pulmonar. O maior stress mecânico no alvéolo dos ratos com assistência ao ventilador pode ter contribuído com a ativação de inflamasomas específicos e com a maior produção de IL-1 $\beta$ . No entanto, o grupo HIGH, com menor esforço inspiratório que o grupo LOW, apresentou maiores concentrações da citocina. Por outro lado, é possível que o bloqueador neuromuscular tenha tido um efeito atenuador na ativação de inflamasomas no pulmão devido à maior complacência da parede torácica dos ratos bloqueados, que causaria uma menor tensão e stress dos alvéolos durante a ventilação resultando na menor produção da IL-1 $\beta$ .

Outro fator a considerar é o tipo de kit usado para nossa leitura do ELISA, que pode ler tanto Pro IL-1 $\beta$  quanto IL-1 $\beta$  produzida, por tanto, pode ter existido uma leitura errônea da placa detectando concentrações de Pro IL-1 $\beta$  no tecido pulmonar e não IL-1 $\beta$  em estado ativo. Sabe-se que a IL-1 $\beta$  induz a liberação de outras citocinas pro-inflamatórias (entre elas a IL-6) e nossos resultados indicam que essa maior concentração de IL-1 $\beta$ , detectada nos grupos sem BNM, não esta induzindo a produção de IL-6. O anterior sugere que não existe realmente uma maior produção de IL-1 $\beta$  nestes grupos que leve a ativar outras citocinas pro-inflamatórias. Pelo contrario, este grupo de ratos apresentou menor produção de IL-6 com maiores concentrações da citocina anti-inflamatória (IL-10). Considerando o anterior, e

avaliando a lesão pulmonar como uma resposta inflamatória massiva, os melhores resultados em termos inflamação pulmonar foram encontrados nos ratos com maior assistência ventilatória, que adicionalmente mostraram melhores resultados na mecânica ventilatória e na oxigenação.

Resultados similares aos nossos foram encontrados por SADDY *et al.* (2010) em ratos com lesão pulmonar leve a moderada. Seus dados mostraram menores citocinas inflamatórias no pulmão (TNF $\alpha$ , IL-6 e IFN $\gamma$ ) nos ratos ventilados em três diferentes modos ventilatórios que permitiam assistência ao ventilador (SADDY *et al.*, 2010). No entanto, estes dados devem ser analisados com precaução, visto que tanto no estudo publicado por SADDY *et al.*, quanto em nosso estudo, as análises foram feitas na fase aguda, é dizer, logo depois de finalizado o período de ventilação mecânica. Estudos adicionais devem ser realizados avaliando a resposta crônica (24-48) após o período em respiração espontânea. Adicionalmente, a respiração espontânea durante ventilação mecânica controlada poderia ocasionar ou incrementar a assincronia paciente-ventilador e esta documentado que a falta de acoplamento ventilatório, leva a um padrão respiratório rápido e superficial que pode causar atelectasias e desrecrutamento alveolar (THILLE *et al.*, 2006).

## **6.1 Limitações**

Uma limitação encontrada neste estudo foi a maior PEEP calculada no grupo LOW durante as duas horas de ventilação mecânica, que resultou ser 16% superior ao valor considerado como programado. Esta diferença na PEEP poderia fazer pensar que não foi o recrutamento alveolar produto da contração do diafragma o responsável pelos melhores resultados e sim o recrutamento produto da maior PEEP. No entanto, os dados reportados na literatura mostram que os valores de PEEP necessários para produzir aumentos significativos na oxigenação (em ratos com lesão pulmonar), são bastante superiores aos valores programados na VM convencional (pelo menos 50%

superiores). O estudo realizado por KO *et al.*, (2008) comparou dois níveis de PEEP somado ou não a uma manobra de recrutamento alveolar em ratos com SDRA. A PEEP considerada como baixa e alta no estudo foi de 2 e 6 cm de H<sub>2</sub>O, respectivamente. Adicionalmente, utilizaram uma PEEP de 3 cm de H<sub>2</sub>O para o período de estabilização antes da VM. Durante as 4 horas em que foi mantida a ventilação mecânica destes ratos a PaO<sub>2</sub> foi significativamente mais alta no grupo com PEEP alta em comparação com o grupo de PEEP baixa. Adicionalmente, adicionar manobras de recrutamento alveolar durante as 4 horas de VM melhorou a oxigenação só no grupo tratado com PEEP alta. Isto demonstra que são valores de PEEP superiores ao usados na VM convencional, os que conseguem melhores significativas na oxigenação. Outro estudo realizado em ratos por ALLEN *et al.* (2002) comparou os efeitos benéficos da inflação profunda sobre a elastância do sistema respiratório a 3 níveis diferentes de PEEP. Neste estudo também foi considerada como alta uma PEEP de 6 cm H<sub>2</sub>O, as outras duas PEEP usadas foram 1 cm H<sub>2</sub>O (PEEP baixa) e 3 cm H<sub>2</sub>O (PEEP convencional). Embora este estudo não avaliou oxigenação, os melhores resultados (menor elastância) foram encontrados nos ratos tratados com inflação profunda durante a VM com PEEP alta em comparação com os outros dois níveis de PEEP. Por tanto, são níveis elevados de PEEP bastante superiores aos convencionais os que conseguem mudar a mecânica do pulmão e recrutá-lo.

Por outro lado, estudos realizados em humanos evidenciam condições similares: PEEP elevadas, que superam pelo menos em 50% os valores considerados convencionais, são requeridos para produzir um aumento significativo da oxigenação arterial. BROWER *et al.* (2004) compararam as PEEP consideradas altas e baixas em pacientes com SDRA, observando melhores índices de oxigenação em aqueles pacientes ventilados com PEEP altas. A média da PEEP considerada alta e baixa foi de  $13,2 \pm 3,5$  cmH<sub>2</sub>O versus  $8,3 \pm 3,2$  cmH<sub>2</sub>O, respectivamente. Mais tarde, o meta-análise realizado por BRIEL *et al.* (2010) considerou PEEP alta aquela que tivesse

pelo menos 3 cm H<sub>2</sub>O acima dos valores convencionais. Considerando este critério, PEEP acima de 9 cm H<sub>2</sub>O seriam denominadas altas ao serem comparadas com a uma PEEP de 6 cm H<sub>2</sub>O (considerada convencional) e representaria 50% a mais deste valor. Outros estudos em humanos, demonstram que são valores de PEEP marcadamente superiores aos convencionais os que conseguem aumentos significativos nos índices de oxigenação em pacientes com SDRA (MEADE MO *et al.*, 2008; MERCAT A *et al.*, 2008).

Com o anterior, deduzimos que um aumento de 16% no valor da PEEP não deve produzir aumentos significativos na oxigenação e seriam necessários valores mais elevados (da PEEP) para manter o pulmão aberto e recrutá-lo. Consequentemente, considerados que a maior PEEP no grupo LOW contribuiu em uma proporção muito baixa com o maior recrutamento obtido neste grupo. É de esperar, que os resultados (com significância estatística) obtidos neste estudo foram resultado da contração ativa do diafragma durante as respirações espontâneas que promoveram redistribuição do ar e do fluxo sanguíneo no pulmão, obtendo os melhores resultados.

## 7 RESULTADOS POSTERIORES

Após finalizada a fase experimental e de análise e processamento de dados, foram repetidos os 3 ratos do grupo LOW em que se encontraram valores de PEEP >3cmH<sub>2</sub>O. Os resultados da mecânica ventilatória e da oxigenação não mostraram diferenças significativas em comparação com os resultados prévios e os dados são apresentados a continuação:

### 7.1 Variáveis ventilatórias

A tabela 2 apresenta a média das variáveis ventilatórias durante as duas horas de VM depois de substituir os dados dos 3 ratos:

Tabela 2. Média por grupos das variáveis ventilatórias durante as duas horas de VM.

GRUPO	Ppico (cmH <sub>2</sub> O)	Pmedia (cmH <sub>2</sub> O)	FR (rpm)	V <sub>T</sub> (ml/Kg)	PEEP (cmH <sub>2</sub> O)
LOW	13,60 ± (1,1) <sup>††</sup>	5,31 ± (0,3) <sup>†</sup>	68,94 ± (0,4)	9,0 ± (0,001)	2,96 ± (0,2)
HIGH	15,02 ± (0,4)	6,39 ± (0,3)	69,08 ± (0,4)	9,0 ± (0,002)	2,95 ± (0,2)
LOW ATR	15,76 ± (0,9)	6,36 ± (0,3)	69,07 ± (0,6)	8,2 ± (0,005)	2,71 ± (0,2)
HIGH ATR	15,43 ± (0,6)	6,32 ± (0,2)	69,34 ± (0,2)	8,1 ± (0,004)	2,75 ± (0,2)

<sup>†</sup>p<0,05 do grupo LOW em comparação com os outros grupos

<sup>††</sup>p<0,05 do grupo LOW em comparação com grupos HIGH ATR e LOW ATR

Os valores da pressão pico da via aérea continuaram sendo estatisticamente menores no grupo LOW em comparação com os grupos LOW ATRACURIO e HIGH ATRACURIO (p<0,05). Por sua parte, os valores da pressão media foram menores no grupo LOW em comparação com todos os outros grupos (p<0,05). A FR, V<sub>T</sub> e PEEP não tiveram diferença estatística entre os grupos (p=0,5, p=0,2 e p=0,9, respectivamente).

## 7.2 Frequência cardíaca e pressão arterial

A FC e PA continuaram sem apresentar diferença estatística entre os grupos ( $p=0,1$  e  $p=0,7$ , respectivamente), os dados são mostrados nas Fig. 26 e Fig. 27.

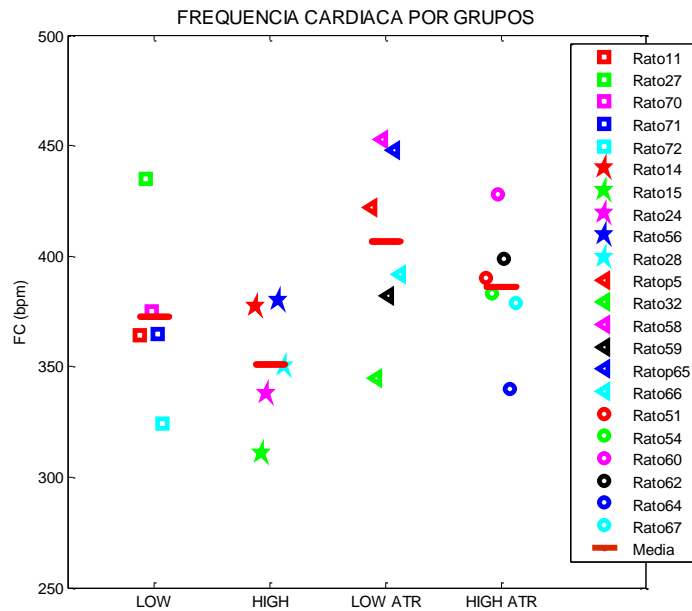


Figura 26. Frequência cardíaca no final do protocolo

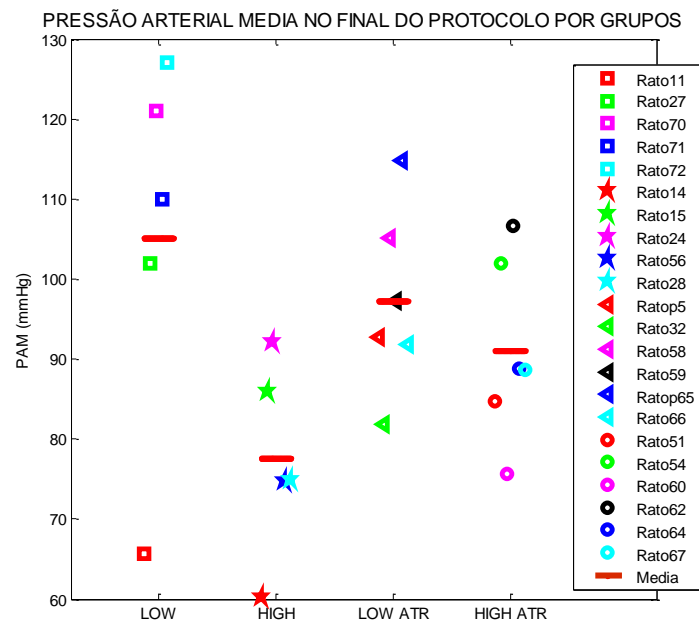


Figura 27. Pressão arterial media no final do protocolo

### 7.3 Potência do sinal de Pressão esofágica

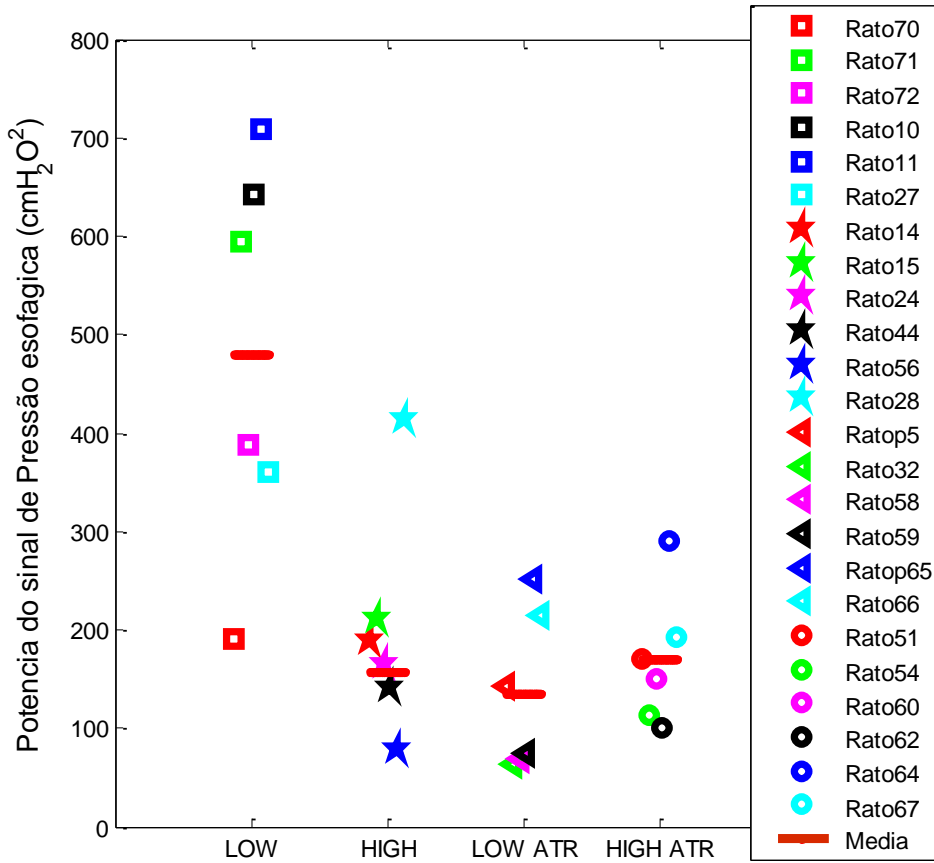


Figura 28. Média da potência do sinal de pressão esofágica durante as 2 horas de VM

A média da potência do sinal de Pesof durante as duas horas de VM por grupos foi maior no grupo LOW em comparação com os outros grupos como se observa na Fig. 28 ( $p < 0,05$ ).



## 7.4 Gasometria arterial

### 7.4.1 Índice $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$

A média dos valores do índice  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  permaneceram similares depois de substituir os ratos com a PEEP mais alta no grupo LOW. Observou-se valores significativamente maiores nos grupos sem BNM em comparação com os grupos bloqueados ( $p < 0,05$ ). Comparando cada grupo independentemente os valores do índice  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  do grupo LOW foram estatisticamente maiores em comparação com os grupos LOW ATRACURIO e HIGH ATRACURIO ( $p < 0,05$ ) como se observa na Fig. 29.

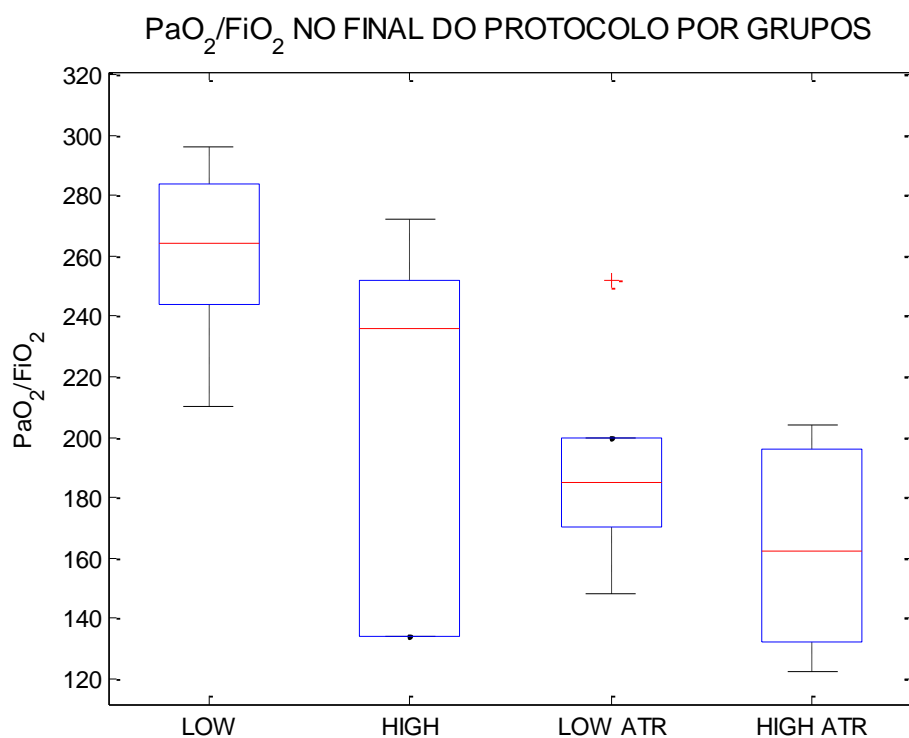


Figura 29.  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  por grupos no fim do protocolo (n=6)

#### 7.4.2 Pressão arterial de dióxido de carbono (PaCO<sub>2</sub>)

Os valores da PaCO<sub>2</sub> apresentaram valores maiores no grupo LOW em comparação com o grupo HIGH ATRACURIO (p<0,05). A análise agrupando os ratos bloqueados e não bloqueados não mostrou diferença estatística entre os grupos (p=0,09). Ver Fig. 30.

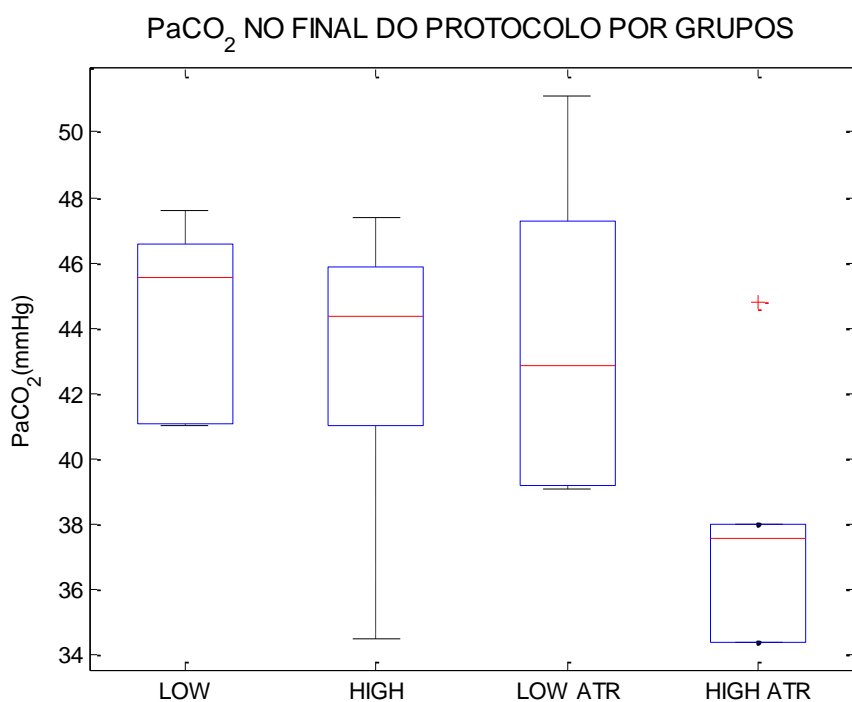


Figura 30. PaCO<sub>2</sub> no final do protocolo por grupos (n=6)

#### 7.4.3 Bicarbonato (HCO<sub>3</sub>)

Os valores do HCO<sub>3</sub> foram significativamente maiores no grupo LOW em comparação com os grupos LOW ATRACURIO e HIGH ATRACURIO (p<0,05) como se observa na Fig. 31. Ao agrupar entre bloqueados e não bloqueados encontramos diferença estatística, com maiores valores de HCO<sub>3</sub> nos grupos sem bloqueador neuromuscular (p=0,01).

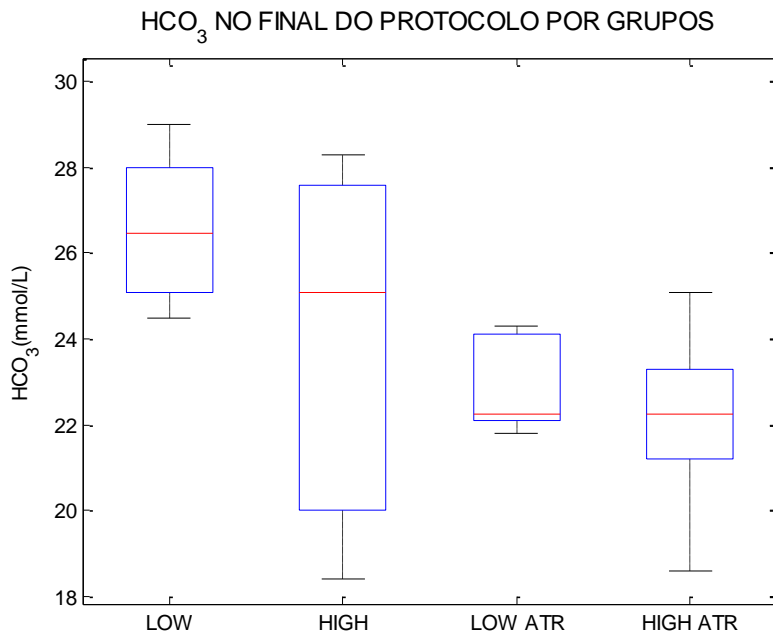


Figura 31.  $\text{HCO}_3$  por grupos no fim do protocolo (n=6)

#### 7.4.4 Potencial de Hidrogênio (pH)

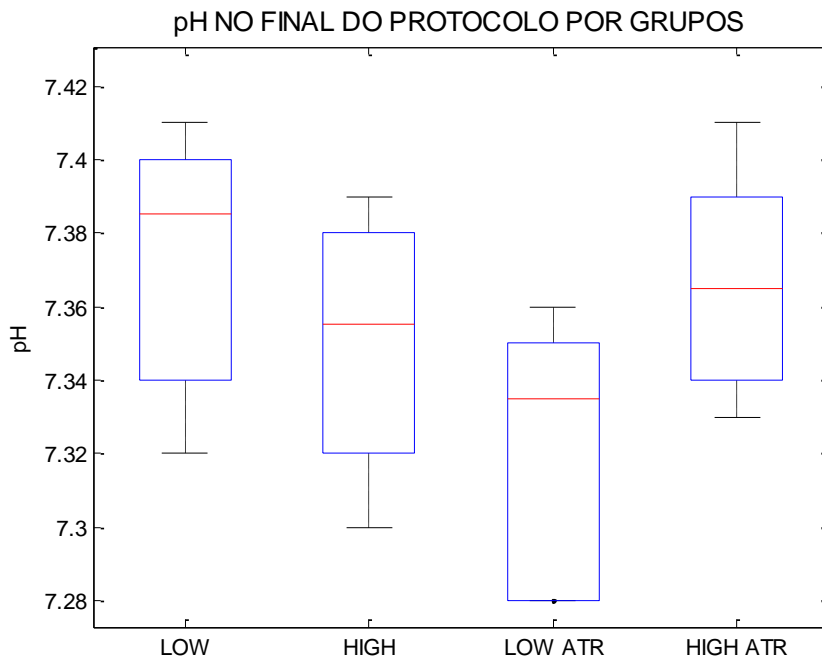


Figura 32. pH no final das duas horas de VM por grupos (n=6)

Os valores do pH no final do protocolo não apresentaram diferença estatística entre os grupos como se observa na Fig. 32 ( $p=0,1$ ).

Os dados aqui apresentados como resultados posteriores confirmam nossos resultados iniciais, demonstrando que o maior recrutamento alveolar encontrado no grupo LOW foi efeito da respiração espontânea e não da maior PEEP ajustada na coluna d'água (como foi discutido previamente).

## 8 CONCLUSÕES

Os dados em conjunto obtidos neste trabalho permitem concluir que :

- Manter baixa sedação/anestesia durante a ventilação mecânica de ratos com SDRA moderada permite a ativação da musculatura inspiratória com consequente maior trabalho ventilatório, mesmo em modo ventilatório A/C.
- O maior trabalho ventilatório observado nos ratos com SDRA moderado tratados com baixa sedação/anestesia e sem BNM levou a um maior recrutamento alveolar, resultando em melhores índices de oxigenação e menor resposta inflamatória depois de duas horas de ventilação mecânica.
- Nenhum dos grupos tratados apresentou alteração do equilíbrio ácido-base.
- Estudos posteriores devem avaliar estes resultados depois de 24 – 48 horas para determinar os efeitos a longo prazo deste modelo experimental de sedação/anestesia e bloqueio neuromuscular em casos de SDRA moderada.

## 9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALHAZZANI, W. *et al.* Neuromuscular blocking agents in acute respiratory distress syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Critical Care**, v. 17, n. 2, p. R43, 11 mar. 2013.

ALLEN, G. *et al.* Transient mechanical benefits of a deep inflation in the injured mouse lung. **Journal of Applied Physiology**, v. 93, n. 5, p. 1709–1715, 1 nov. 2002.

ALTEMEIER, W. A. *et al.* Mechanical ventilation with moderate tidal volumes synergistically increases lung cytokine response to systemic endotoxin. **American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology**, v. 287, n. 3, p. L533–542, set. 2004.

APPIAH-ANKAM, J.; HUNTER, J. M. Pharmacology of neuromuscular blocking drugs. **Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain**, v. 4, n. 1, p. 2–7, 2 jan. 2004.

ARDS DEFINITION TASK FORCE *et al.* Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. **JAMA: the journal of the American Medical Association**, v. 307, n. 23, p. 2526–2533, 20 jun. 2012.

ARROLIGA, A. *et al.* Use of sedatives and neuromuscular blockers in a cohort of patients receiving mechanical ventilation+. **CHEST Journal**, v. 128, n. 2, p. 496–506, 1 ago. 2005.

ASHBAUGH, D. *et al.* ACUTE RESPIRATORY DISTRESS IN ADULTS. **The Lancet**, v. 290, n. 7511, p. 319–323, ago. 1967.

BAUER, T. T. *et al.* Comparison of systemic cytokine levels in patients with acute respiratory distress syndrome, severe pneumonia, and controls. **Thorax**, v. 55, n. 1, p. 46–52, jan. 2000.

BAYDUR, A. *et al.* A simple method for assessing the validity of the esophageal balloon technique. **The American review of respiratory disease**, v. 126, n. 5, p. 788–791, nov. 1982.

BENDITT, J. O. Esophageal and gastric pressure measurements. **Respiratory care**, v. 50, n. 1, p. 68–75; discussion 75–77, jan. 2005.

BERNARD, G. R. *et al.* The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 149, n. 3 Pt 1, p. 818–824, mar. 1994.

BLACKWELL, T. S.; CHRISTMAN, J. W. Sepsis and cytokines: current status. **British journal of anaesthesia**, v. 77, n. 1, p. 110–117, jul. 1996.

BOUROS, D. *et al.* The clinical significance of serum and bronchoalveolar lavage inflammatory cytokines in patients at risk for Acute Respiratory Distress Syndrome. **BMC Pulmonary Medicine**, v. 4, n. 1, p. 1–9, 1 dez. 2004.

BRESOLIN, N. L., FERNANDES, V.R. Sedação, Analgesia e Bloqueio neuromuscular. **AMIB-Associação de Medicina Intensiva Brasileira**. 2002. Disponível em: <<http://www.sbp.com.br/pdfs/sedacao-e-analgesia-em-vent-mec.pdf>>. Acesso em: 6 mar. 2014.

BRIEL M *et al.* Higher vs lower positive end-expiratory pressure in patients with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: Systematic review and meta-analysis. **JAMA**, v. 303, n. 9, p. 865–873, 3 mar. 2010.

BROWER, RG., *et al.* National Heart, Lung, and Blood Institute ARDS Clinical Trials Network. Higher versus Lower Positive End-Expiratory Pressures in Patients with the Acute Respiratory Distress Syndrome. **New England Journal of Medicine**, v. 351, n. 4, p. 327–336, 22 jul. 2004.

BRUN-PASCAUD, M. *et al.* Arterial blood gases and acid-base status in awake rats. **Respiration physiology**, v. 48, n. 1, p. 45–57, abr. 1982.

CARVALHO, A. R. *et al.* Pressure support ventilation and biphasic positive airway pressure improve oxygenation by redistribution of pulmonary blood flow. **Anesthesia and Analgesia**, v. 109, n. 3, p. 856–865, set. 2009.

CARVALHO, G. D. *et al.* Clinical evaluation of laboratory rats (*Rattus norvegicus* Wistar Strain): sanitary, biological and physiological parameters. **Revista Ceres**, v. v. 56(1) p. 51-57, fev. 2009.

CHIUMELLO, D.; PRISTINE, G.; SLUTSKY, A. S. Mechanical Ventilation Affects Local and Systemic Cytokines in an Animal Model of Acute Respiratory Distress Syndrome. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 160, n. 1, p. 109–116, jul. 1999.

COOK, C. D. *et al.* Studies of Respiratory Physiology in the Newborn Infant. III. Measurements of Mechanics of Respiration1. **Journal of Clinical Investigation**, v. 36, n. 3, p. 440–448, mar. 1957.

CORREA, C. M. N.; SUDO, G. Z.; SUDO, R. T. Hemodynamic effects of atracurium and cisatracurium and the use of diphenhydramine and cimetidine. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 60, n. 1, p. 52–63, fev. 2010.

DAVIS, N. A. *et al.* Prolonged weakness after cisatracurium infusion: A case report. **Critical Care Medicine July 1998**, v. 26, n. 7, p. 1290–1292, 1998.

DE LETTER, M. A. *et al.* Risk factors for the development of polyneuropathy and myopathy in critically ill patients. **Critical care medicine**, v. 29, n. 12, p. 2281–2286, dez. 2001.

DE PABLO SÁNCHEZ, R. *et al.* Balance entre citocinas pro y antiinflamatorias en estados sépticos. **Medicina Intensiva**, v. 29, n. 3, p. 151–158, abr. 2005.

DIROCCO, J. D. *et al.* Dynamic alveolar mechanics in four models of lung injury. **Intensive Care Medicine**, v. 32, n. 1, p. 140–148, 1 jan. 2006.

DIXON, D.-L.; DE SMET, H. R.; BERSTEN, A. D. Lung mechanics are both dose and tidal volume dependant in LPS-induced lung injury. **Respiration physiology & neurobiology**, v. 167, n. 3, p. 333–340, 31 jul. 2009.

DOLINAY, T. et al. Inflammasome-regulated cytokines are critical mediators of acute lung injury. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 185, n. 11, p. 1225–1234, 1 jun. 2012.

FOREL, J.M. et al. Neuromuscular blocking agents decrease inflammatory response in patients presenting with acute respiratory distress syndrome. **Critical Care medicine**, v. 34, n. 11, p. 2749-2757. 2006.

FRENCH, C. J. Work of breathing measurement in the critically ill patient. **Anaesthesia and intensive care**, v. 27, n. 6, p. 561–573, dez. 1999.

FROESE, A. B.; BRYAN, A. C. Effects of anesthesia and paralysis on diaphragmatic mechanics in man. **Anesthesiology**, v. 41, n. 3, p. 242–255, set. 1974.

GAINNIER, M. et al. Effect of neuromuscular blocking agents on gas exchange in patients presenting with acute respiratory distress syndrome. **Critical care medicine**, v. 32, n. 1, p. 113–119, jan. 2004.

GARDINER, S. M.; KEMP, P. A.; MARCH, J. E.; WOOLLEY, J; BENNETT, T. The influence of antibodies to TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  on haemodynamic responses to the cytokines, and to lipopolysaccharide, in conscious rats. **British Journal of Pharmacology**, v. 125, p. 1543–1550. 1998.

HASSAN, S. N.; HACKNEY, R. L. A Brief Review of the Adult Respiratory Distress Syndrome. **Journal of the National Medical Association**, v. 74, n. 2, p. 165–169, fev. 1982.

HOGART, D.K.; HALL, J. Management of sedation in mechanically ventilated patients. **Current Opinion in Critical Care**, v. 10. p. 40-46. 2004.

HRAIECH, S.; FOREL, J.-M.; PAPAIZIAN, L. The role of neuromuscular blockers in ARDS: benefits and risks. **Current opinion in critical care**, v. 18, n. 5, p. 495–502, out. 2012.

IRVIN, C. G.; BATES, J. H. Measuring the lung function in the mouse: the challenge of size. **Respiratory Research**, v. 4, n. 1, p. 4, 2003.

KO, S.-C. et al. Effects of PEEP levels following repeated recruitment maneuvers on ventilator-induced lung injury. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**, v. 52, n. 4, p. 514–521, 1 abr. 2008.

KOLLEF, M. H. et al. The use of continuous i.v. sedation is associated with prolongation of mechanical ventilation. **Chest**, v. 114, n. 2, p. 541–548, ago. 1998.

LATHI, B.P., **Introducción a la teoría y sistemas de computación**. 1 ed. México, Limusa, 1976.

LEATHERMAN, J. W. et al. Muscle weakness in mechanically ventilated patients with severe asthma. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 153, n. 5, p. 1686–1690, maio 1996.

MARINI, J. J. **Terapia intensiva: o essencial**. [s.l.] Editora Manole Ltda, 1999.

MEADE MO *et al.* Ventilation strategy using low tidal volumes, recruitment maneuvers, and high positive end-expiratory pressure for acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: A randomized controlled trial. **JAMA**, v. 299, n. 6, p. 637–645, 13 fev. 2008.

MEDURI, G. U. *et al.* Inflammatory cytokines in the BAL of patients with ARDS. Persistent elevation over time predicts poor outcome. **Chest**, v. 108, n. 5, p. 1303–1314, nov. 1995.

MEDURI, G. U. *et al.* Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS. Plasma IL-1 beta and IL-6 levels are consistent and efficient predictors of outcome over time. **Chest**, v. 107, n. 4, p. 1062–1073, abr. 1995.

MERCAT A *et al.* Positive end-expiratory pressure setting in adults with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: A randomized controlled trial. **JAMA**, v. 299, n. 6, p. 646–655, 13 fev. 2008.

MERKEL, G.; EGER, E. I., 2nd. A comparative study of halothane and halopropane anesthesia including method for determining equipotency. **Anesthesiology**, v. 24, p. 346–357, jun. 1963.

MICHIE, H. R. *et al.* Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. **The New England journal of medicine**, v. 318, n. 23, p. 1481–1486, 9 jun. 1988.

MILIC-EMILI, J.; MEAD, J.; TURNER, J. M. Topography of esophageal pressure as a function of posture in man. **Journal of Applied Physiology**, v. 19, n. 2, p. 212–216, 3 jan. 1964.

MURRAY, M. *et al.* Clinical practice guidelines for sustained neuromuscular blockade in the adult critically ill patient. **Critical Care Medicine**, v. 30, n.1, p.142-156. 2002.

NEUMANN, P. *et al.* Spontaneous breathing affects the spatial ventilation and perfusion distribution during mechanical ventilator support. **Critical Care Medicine**, v. 33, p.1090-1095. 2005.

OLIVEIRA, C. M. B. DE *et al.* Cytokines and pain. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 61, n. 2, p. 260–265, abr. 2011.

PAPAZIAN, L. *et al.* Neuromuscular Blockers in Early Acute Respiratory Distress Syndrome. **New England Journal of Medicine**, v. 363, n. 12, p. 1107–1116, 2010.

PINO, A. V., COSTA, J. C. G. D., JANDRE, F. C., *et al.* “Mecânica – Um programa para análise do Sistema Respiratório”. **XVIII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica**. CD-ROM. São José dos Campos, São Paulo, Brasil, 2002.

PINO, A.V., KAGAMI, L.T., JANDRE, F.C., GIANNELLA-NETO, A. “Um programa de aquisição e processamento de sinais para engenharia pulmonar”. **IFMBE Proceedings**. vol. 5, n. 1, pp: 765-768, 2004.

POWERS, S. K. *et al.* Ventilator-induced diaphragm dysfunction: cause and effect. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 305, n. 5, p. R464–477, set. 2013.



PRIELIPP, R. *et al.* **Comparison of the Infusion Requirements and Recovery Profile... : Anesthesia & Analgesia**, v. 81, p. 3-12. 1995.

PUTENSEN, C. *et al.* Effect of interfacing between spontaneous breathing and mechanical cycles on the ventilation-perfusion distribution in canine lung injury. **Anesthesiology**, v. 81, n. 4, p. 921–930, out. 1994.

PUTENSEN, C. *et al.* Long-Term Effects of Spontaneous Breathing During Ventilatory Support in Patients with Acute Lung Injury. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 164, n. 1, p. 43–49, 1 jul. 2001.

REVES, J. G. *et al.* **Midazolam: Pharmacology and Uses : Anesthesiology**, v.62, p.310-324, 1985.

RICARD, J. D.; DREYFUSS, D.; SAUMON, G. Production of inflammatory cytokines in ventilator-induced lung injury: a reappraisal. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 163, n. 5, p. 1176–1180, abr. 2001.

ROWE, K.; FLETCHER, S. Sedation in the intensive care unit. **Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain**, v. 8, n. 2, p. 50–55, 4 jan. 2008.

RUBIO, E. R.; SEELIG, C. B. Persistent paralysis after prolonged use of atracurium in the absence of corticosteroids. **Southern medical journal**, v. 89, n. 6, p. 624–626, jun. 1996.

SADDY, F. *et al.* Assisted ventilation modes reduce the expression of lung inflammatory and fibrogenic mediators in a model of mild acute lung injury. **Intensive Care Medicine**, v. 36, n. 8, p. 1417–1426, ago. 2010.

SAIDMAN, L. J.; EGER, E. I., 2nd. EFFECT OF NITROUS OXIDE AND OF NARCOTIC PREMEDICATION ON THE ALVEOLAR CONCENTRATION OF HALOTHANE REQUIRED FOR ANESTHESIA. **Anesthesiology**, v. 25, p. 302–306, jun. 1964.

SANTOS, M. R. V. *et al.* Parâmetros bioquímicos, fisiológicos e morfológicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) produzidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe. **Scientia Plena**, v. 6, n. 10, 30 nov. 2010.

SASSOON, C. S. H.; ZHU, E.; CAIOZZO, V. J. Assist–Control Mechanical Ventilation Attenuates Ventilator-induced Diaphragmatic Dysfunction. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 170, n. 6, p. 626–632, 15 set. 2004.

SCHÜTTE, H. *et al.* Bronchoalveolar and systemic cytokine profiles in patients with ARDS, severe pneumonia and cardiogenic pulmonary oedema. **The European respiratory journal**, v. 9, n. 9, p. 1858–1867, set. 1996.

SLUTSKY, A. S. Lung injury caused by mechanical ventilation. **Chest**, v. 116, n. 1 Suppl, p. 9S–15S, jul. 1999.

SLUTSKY, A. S.; RANIERI, V. M. Ventilator-Induced Lung Injury. **New England Journal of Medicine**, v. 369, n. 22, p. 2126–2136, 2013.

SOUZA, F., **Análise de Sinais – Notas em Sinais e Sistemas**. 4 ed. Portugal, 2010.

SYDOW, M. *et al.* Long-term effects of two different ventilatory modes on oxygenation in acute lung injury. Comparison of airway pressure release ventilation and volume-controlled inverse ratio ventilation. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 149, n. 6, p. 1550–1556, jun. 1994.

TESTELMANS, D. *et al.* Infusions of rocuronium and cisatracurium exert different effects on rat diaphragm function. **Intensive care medicine**, v. 33, n. 5, p. 872–879, maio 2007.

THILLE, A. W. *et al.* Patient-ventilator asynchrony during assisted mechanical ventilation. **Intensive Care Medicine**, v. 32, n. 10, p. 1515–1522, out. 2006.  
OUSIGNANT, C. P. *et al.* Acute quadriplegia in an asthmatic treated with atracurium. **Canadian Journal of Anaesthesia**, v. 42, n. 3, p. 224–227, 1 mar. 1995.

TRIPATHI, S. S.; HUNTER, J. M. Neuromuscular blocking drugs in the critically ill. **Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain**, v. 6, n. 3, p. 119–123, 6 jan. 2006.

WEINACKER, A. B.; VASZAR, L. T. Acute respiratory distress syndrome: physiology and new management strategies. **Annual review of medicine**, v. 52, p. 221–237, 2001.

WELBOURN, C. R. B.; YOUNG, Y. Endotoxin, septic shock and acute lung injury: Neutrophils, macrophages and inflammatory mediators. **British Journal of Surgery**, v. 79, n. 10, p. 998–1003, 1 out. 1992.

WHEELDON, E. B. *et al.* Intratracheal aerosolization of endotoxin in the rat: a model of the adult respiratory distress syndrome (ARDS). **Laboratory Animals**, v. 26, n. 1, p. 29–37, 1 jan. 1992.

WRIGGE, H. *et al.* Spontaneous breathing improves lung aeration in oleic acid-induced lung injury. **Anesthesiology**, v. 99, n. 2, p. 376–384, ago. 2003.

YOSHIDA, T. *et al.* The comparison of spontaneous breathing and muscle paralysis in two different severities of experimental lung injury. **Critical Care Medicine**, v. 41, n. 2, p. 536–545, fev. 2013.

WU, J. *et al.* Activation of NLRP3 Inflammasome in Alveolar Macrophages Contributes to Mechanical Stretch-Induced Lung Inflammation and Injury. **The Journal of Immunology**, v. 190, p.3590-3599.

ZIN, W.A., MILIC-EMILI, J., “Esophageal Pressure Measurement”. In: Hamid, Q., Shannon, J., Martin, J. (eds), **Physiologic Basis of Respiratory Disease Clinical Respiratory Physiology**, 1 ed, chapter 55, Montreal, BC Decker Inc, 2005.