

Felipe Saddy

Modos de ventilação assistida reduzem a expressão de mediadores inflamatórios e fibrogênicos no pulmão em modelo de lesão pulmonar aguda

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Medicina, Area de Concentração: Clínica Médica (Pneumologia).

Orientadora:
Prof^a. Dr^a. Patricia Rieken Macedo Rocco

Rio de Janeiro

Março 2010.

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FICHA CATALOGRÁFICA

Saddy, Felipe

Modos de ventilação assistida reduzem a expressão de mediadores inflamatórios e fibrogênicos no pulmão em modelo de lesão pulmonar aguda / Felipe Saddy. - - Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Medicina, 2010.

xiv, 76 f. : il. ; 31 cm.

Orientadora: Patrícia Rieken Macedo Rocco

Dissertação (mestrado) – UFRJ / Faculdade de Medicina / Pneumologia, 2010.

Referências bibliográficas: f. 58-65.

1. Lesão pulmonar aguda. 2. Ventilação mecânica. 3. Ventilação pulmonar. 4. Citocinas. 5. Pneumologia - Tese. I. Rocco, Patrícia Rieken Macedo. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Pneumologia. III. Título.

Modos de ventilação assistida reduzem a expressão de mediadores inflamatórios e fibrogênicos no pulmão em modelo de lesão pulmonar aguda

Felipe Saddy

Orientadora: Patricia Rieken Macedo Rocco

Dissertação submetida à Universidade Federal do Rio de Janeiro visando à obtenção do grau de Mestre em Medicina

Aprovada em:

Prof. PhD. Patricia Rieken Macedo Rocco (Orientadora) - UFRJ

Prof. PhD. José Rodolfo Rocco - UFRJ

Prof. PhD. Cristiane Baez Garcia – IBCCF/UFRJ

Prof. PhD. Carmen Silvia Valente Barbas - USP

Rio de Janeiro
Março de 2010

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Investigação Pulmonar do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro na vigência de auxílios concedidos pela Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq) e pelo Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX-FAPERJ).

A Deus,
início, meio e fim.

A minha avó Maria Victória Cobalea Benevides (*in memorium*),
que sempre esteve e está ao meu lado.

Ao meu avô Deoclécio Benevides (*in memorium*),
por todos os ensinamentos.

A minha mãe Neli Cobalea Benevides,
pelo amor, pela exigência e apoio incondicional.

Ao meu padrasto Leopoldo de Almeida Quintal (*in memorium*),
pelo exemplo, apoio e amizade.

A minha esposa Cássia Borges Gomes,
pelo amor e parceria de todos os momentos.

Ao meu filho Guilherme Gomes Saddy,
minha luz, minha força motriz e meu melhor amigo.

AGRADECIMENTOS

Existem algumas pessoas que contribuíram diretamente para a elaboração desta dissertação. A estas pessoas eu devo os meus agradecimentos:

- Professora Patrícia Rieken Macedo Rocco, orientadora, amiga e parceira por ter aberto as portas do seu laboratório, fornecido apoio irrestrito às minhas idéias, ter sido uma referência pessoal e profissional, além de ter permitido fazer parte de um time absolutamente seletivo de pessoas do mais alto nível intelectual;

- Professor José Rodolfo Rocco por ter me convencido a cursar a pós graduação na UFRJ;

- Professor Paolo Pelosi pelos valorosos conselhos na condução dos experimentos assim como pela dedicação na publicação do artigo desse estudo;

- Gisele Pena de Oliveira, que foi a parceira de todas as dificuldades durante esse longo caminho;

- Andréia Ferreira Rzezinski e Liliane Nardelli pelas longas horas de experimentos e reavaliações;

- Cristiane Baez Garcia, sempre pronta para ajudar e fazer o extraordinário;

- Professora Vera Capellozi pela realização da microscopia eletrônica desse estudo;

- Professor Marcelo Morales e Débora Ornelas pela realização da análise da biologia molecular;

- André, técnico dos Laboratórios de Investigação Pulmonar e de Fisiologia Celular e Molecular, pela sua prestatividade e auxílio na infraestrutura necessária para a realização desse estudo;

- Daniel Merlo, gerente da Maquet, pelo reconhecimento da importância desse estudo e pela prestatividade em disponibilizar o respirador para a realização dos experimentos.

Existem algumas pessoas que não estiveram diretamente envolvidas nesse estudo, mas possibilitaram a sua realização, são elas:

- Dr. Juan Carlos Rosso Verdeal e Dra. Maria Luisa Azevedo Toscano pelos ensinamentos iniciais em terapia intensiva;

- Dr. João Gonçalves Pantoja pela sua amizade, confiança e apoio irrestrito, além de ter aberto as portas da ventilação mecânica desde o ano de 2000;

- Dr. Rubens Carmo Costa Filho, pelo exemplo, amizade, confiança, apoio e perspectiva de que o “novo” deve ser estudado e entendido;

- Dr^a. Alessandra Thompson, Dr. Rodrigo Serafim, Dr^a. Maria de Fátima do Gago e Dr^a. Renata Carnevale, pela amizade, respeito, fidelidade e alto nível de profissionalismo prestado na Unidade Ventilatória do Hospital Copa D`Or durante os períodos de minha ausência por estar no Laboratório de Investigação Pulmonar ou nas disciplinas da Pós-Graduação na UFRJ;

- Dr. João Luis Ferreira Costa, Dr. José Roberto Berthoux Martins, Dr. Francisco Nascimento e Dr. Plínio Nascimento Gomes pela amizade e entendimento da ausência da rotina do CTI do Hospital Pró Cardíaco enquanto estive no Laboratório de Investigação Pulmonar e nas disciplinas da Pós-Graduação na UFRJ.

Resumo

MODOS DE VENTILAÇÃO ASSISTIDA REDUZEM A EXPRESSÃO PULMONAR DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS E FIBROGÊNICOS EM MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA. Felipe Saddy. Orientadora: Patricia Rieken Macedo Rocco. Resumo da dissertação de mestrado submetida ao programa de pós-graduação da Faculdade de Medicina, Departamento de Clínica Médica, Setor Clínica Médica, Área de Concentração: Ciências Pneumológicas – Rio de Janeiro, 2010.

O presente estudo objetivou comparar os efeitos de diferentes modos de ventilação assistida com o modo ventilatório pressão controlada (PCV) em relação à histologia pulmonar, gasometria arterial, mediadores inflamatórios e fibrogênicos em modelo de lesão pulmonar aguda (LPA). Para tal, foram estudados ratos com LPA induzida por paraquat. Após 24h, os animais foram anestesiados e subsequentemente randomizados da seguinte forma (n=6/grupo): 1) modo PCV com volume corrente (V_T)=6 ml/kg e relação tempo inspiratório:expiratório (I:E)=1:2; e 2) três modos de ventilação assistida: a) pressão assisto-controlada (A-PCV1:2) com I:E: 1:2, b) A-PCV1:1 com I:E: 1:1; e c) pressão positiva bifásica da via aérea associada a ventilação com suporte pressórico (Bivent+PSV). PCV, A-PCV1:1 e A-PCV1:2 foram ajustadas com os seguintes parâmetros: pressão inspiratória (P_{insp})=10cmH₂O e PEEP=5cmH₂O. Bivent+PSV foi ajustado com os seguintes parâmetros: dois níveis de CPAP (P_{insp} =P.alta=10cmH₂O e pressão positiva ao final da expiração (PEEP)=P.baixa=5cmH₂O) e tempo de P.alta=T.alta=0.3s e tempo de P.baixa=T.baixa=0.3s. PSV foi ajustado com os seguintes parâmetros: 2 cmH₂O acima da P_{High} e 7 cmH₂O acima da P.baixa. Todos os ratos foram ventilados com fração inspirada de oxigênio (FiO_2)=0,21 por uma hora. Resultados: Os modos de ventilação assistida apresentaram melhora morfofuncional pulmonar quando comparados ao PCV. A-PCV1:1 e Bivent+PSV apresentaram níveis de oxigenação semelhantes, porém maiores que A-PCV1:2. Bivent+PSV apresentou menor lesão do epitélio pulmonar e menor expressão de fator de necrose tumoral- α , interleucina-6, e procolágeno tipo III. Em conclusão, no presente modelo experimental de LPA, os modos de ventilação assistida apresentaram maiores efeitos benéficos na função pulmonar e redução da injúria pulmonar quando comparados ao PCV. Entre os modos de ventilação assistida, Bivent+PSV demonstrou melhores resultados funcionais com menor lesão pulmonar e expressão de mediadores inflamatórios.

Palavras-chave: Lesão pulmonar aguda, lesão pulmonar induzida pelo ventilador, citocinas, procolágeno tipo III.

Rio de Janeiro

Março de 2010

Abstract**ASSISTED VENTILATION MODES REDUCE THE EXPRESSION OF LUNG INFLAMMATORY AND FIBROGENIC MEDIATORS IN A MODEL OF MILD ACUTE LUNG INJURY.**

Felipe Saddy. Orientadora: Patricia Rieken Macedo Rocco. Resumo da dissertação de mestrado submetida ao programa de pós-graduação da Faculdade de Medicina, Departamento de Clínica Médica, Setor Clínica Médica, Área de Concentração: Ciências Pneumológicas – Rio de Janeiro, 2010

The present study compared the effects of different assisted ventilation modes with pressure-controlled ventilation (PCV) on lung histology, arterial blood gases, inflammatory and fibrogenic mediators in experimental acute lung injury (ALI). Methods: Paraquat-induced ALI rats were studied. At 24-h, animals were anaesthetised, and further randomized as follows (n=6/group): 1) pressure controlled ventilation mode (PCV) with tidal volume (V_T)=6 ml/kg and inspiratory to expiratory ratio (I:E)=1:2, and 2) three assisted ventilation modes: a) assist-pressure controlled ventilation (A-PCV1:2) with I:E=1:2, b) A-PCV1:1 with I:E=1:1; and c) Biphasic positive airway pressure and pressure support ventilation (Bivent+PSV). PCV, A-PCV1:1, and A-PCV1:2 were set with P_{insp} =10cmH₂O and PEEP=5cmH₂O. Bivent+PSV was set with two levels of CPAP [inspiratory pressure (P_{High} =10 cmH₂O) and positive end-expiratory pressure (P_{Low} =5cmH₂O)] and inspiratory/expiratory times: T_{High} =0.3s and T_{Low} =0.3s. PSV was set as follows: 2 cmH₂O above P_{High} and 7 cmH₂O above P_{Low} . All rats were mechanically ventilated in air and PEEP=5cmH₂O for 1-h. Results: Assisted ventilation modes led to better functional improvement and less lung injury compared to PCV. A-PCV1:1 and Bivent+PSV presented similar oxygenation levels, which were higher than in A-PCV1:2. Bivent+PSV led to less alveolar epithelium injury and lower expression of tumour necrosis factor- α , interleukin-6, and type III procollagen. Conclusions: In this experimental ALI model, assisted ventilation modes presented greater beneficial effects on respiratory function and a reduction in lung injury compared to PCV. Among assisted ventilation modes, Bivent+PSV demonstrated better functional results with less lung damage and expression of inflammatory mediators.

Keywords: acute lung injury, ventilator-induced lung injury, cytokines, type III procollagen.

Rio de Janeiro

Março de 2010

SUMÁRIO

Folha de Rosto	i
Ficha Catalográfica	verso
Folha de Aprovação	ii
Agências Financiadoras	iii
Dedicatórias	iv
Agradecimentos	v
Resumo	vii
<i>Abstract</i>	viii
Sumário	ix
Índice de Figuras	xi
Índice de Tabelas	xii
Abreviaturas	xiii
1. Introdução	01
1.1 Ventilação mecânica	02
1.2 Síndrome do desconforto respiratório agudo	03
1.3 Mecanismos de lesão pulmonar relacionados à ventilação mecânica	05
1.4 Ventilação protetora	08
1.5 <i>Airway pressure release ventilation</i> (APRV – ventilação por liberação de pressão na via aérea) e Bivent	09
2. Justificativa	15
3. Objetivos	17
3.1 Objetivos gerais	18
3.2 Objetivos específicos	18

4. Materiais e Métodos	19
4.1 Animais utilizados	20
4.2 Caracterização dos grupos estudados	20
4.3 Protocolo do estudo	23
4.3.1 Descrição esquemática do protocolo de estudo através do tempo	23
4.3.2 Descrição do protocolo	24
4.4 Aquisição dos dados	29
4.5 Variáveis ventilatórias	30
4.6 Histologia	30
4.6.1 Microscopia óptica: fixação e preparo das lâminas	30
4.6.2 Microscopia óptica: análise histológica e morfométrica	31
4.6.3 Microscopia eletrônica de transmissão	32
4.7 Quantificação da expressão de RNAm para procolágeno tipo III	33
4.7.1 Extração de RNA total de tecido pulmonar	33
4.7.2 RT-PCR em tempo real (<i>real time reverse transcription polymerase chain reaction</i>)	34
4.8 Ensaio de proteção contra RNASE	35
4.9 Análise estatística	35
5. Resultados	36
6. Discussão	47
7. Limitações	53
8. Conclusões	55
REFERÊNCIAS	58
APÊNDICE	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática dos mecanismos de lesão pulmonar relacionados à ventilação mecânica	07
Figura 2: Representação esquemática do modo <i>APRV</i> original	10
Figura 3: Representação esquemática da repercussão da ventilação mecânica controlada e da ventilação espontânea sobre a relação ventilação alveolar-perfusão pulmonar	11
Figura 4: Representação esquemática do modo Bivent+PSV	12
Figura 5: Representação esquemática dos grupos estudados	21
Figura 6: Representação esquemática dos modos A-PCV1:2 e PCV	22
Figura 7: Representação esquemática dos modos A-PCV1:1 e PCV	22
Figura 8: Representação esquemática do modo Bivent+PSV	23
Figura 9: Descrição esquemática do protocolo do estudo através do tempo	24
Figura 10: Representação esquemática da montagem experimental	26
Figura 11: Posicionamento anatômico do cateter esofágico	27
Figura 12: Posicionamento funcional do cateter esofágico	28
Figura 13: Representação esquemática do retículo com 100 pontos e 50 linhas utilizado para quantificação dos parâmetros morfométricos	31
Figura 14. Fotomicrografia óptica do parênquima pulmonar	41
Figura 15. Fotomicrografia eletrônica do parênquima pulmonar	43
Figura 16. Expressão de citocinas no tecido pulmonar	45
Figura 17. Expressão de procolágeno tipo III por <i>Real time polymerase chain reaction</i> nos grupos controle e lesão pulmonar aguda	46

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros ventilatórios	38
Tabela 2. Pressão parcial arterial de oxigênio, pressão parcial arterial de dióxido de carbono e pH imediatamente antes e uma hora após ventilação mecânica no grupo controle e Lesão pulmonar aguda	39
Tabela 3. Morfometria pulmonar	40
Tabela 4. Análise semiquantitativa da microscopia eletrônica	42

ABREVIATURAS

APRV = Ventilação por liberação de pressão na via aérea
 C = controle
 CPAP = pressão positiva contínua na via aérea
 CV de V_T = coeficiente de variação do volume corrente
 DDSA = anidrido de ácido doxecenil succínico
 DEPC = dietilpirocarbonato
 DI = diâmetro interno
 DMOS = disfunção de múltiplos órgãos e sistemas
 DNAc = ácido desoxirribonucléico complementar
 DNase = desoxirribonuclease
 dNTP = desoxinucleotídeo trifosfatado
 ΔP = variação de pressão
 ΔP_{es} = variação de pressão esofagiana
 ΔP_{tr} = variação de pressão traqueal
 DTT = dithiothereitol
 EI = edema intersticial
 FiO_2 = fração inspirada de oxigênio
 FR = frequência respiratória
 GAPDH = gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase
 HE = hematoxilina e eosina
 I:E = relação tempo inspiratório:tempo expiratório
 $IFN-\gamma$ = interferon- γ
 IL = interleucina
 LPA = lesão pulmonar aguda
 LPAVM = lesão pulmonar associada a ventilação mecânica
 LPIVM = lesão pulmonar induzida pelo ventilador
 MIF = fator inibidor de migração de macrófago
 NaCl = cloreto de sódio
 NV = não ventilado; ventilação espontânea
 $P_{0,1}$ = pressão inspiratória nos primeiros 100 milisegundos
 PII = pneumócito tipo II
 P.alta = pressão alta
 P.baixa = pressão baixa
 $PaCO_2$ = pressão parcial arterial de dióxido de carbono
 PaO_2 = pressão parcial arterial de oxigênio
 PCIII = procolágeno tipo III
 PCR = reação de cadeia da polimerase
 PCV = ventilação por pressão controlada
 PEEP = pressão positiva ao final da expiração
 Pes = pressão esofagiana
 P_{insp} = pressão de pico inspiratória
 PL = pressão transpulmonar
 $P_{média, va}$ = pressão média de via aérea
 Ppl = pressão intrapleural
 Pplat = pressão de platô
 PSV = ventilação por suporte pressórico
 Ptr = pressão traqueal

Pw = pressão da parede torácica
RNA = ácido ribonucléico
RNAm = ácido ribonucléico mensageiro
Req = resistência do equipamento
rs = sistema respiratório
RT (-) = controle negativo com ausência de enzima transcriptase reversa
RT-PCR = transcrição reversa da reação em cadeia da polimerase
RPA = ensaio de proteção contra RNase
SDRA = síndrome do desconforto respiratório agudo
SIMV = ventilação mandatória intermitente sincronizada
TGF- β = fator de crescimento transformador- β
TNF- α = fator de necrose tumoral- α
UI = unidades internacionais
UTI = unidade de terapia intensiva
V = volume
V' = fluxo aéreo
V'_E = volume minuto
V'/Q' = relação ventilação-perfusão
VCV = ventilação controlada a volume
VM = ventilação mecânica
V_T = volume corrente
w = parede torácica

INTRODUÇÃO

1 Introdução

1.1 Ventilação Mecânica

“Mas aquela vida pode... ser restaurada ao animal, uma abertura no tronco da traquéia deve ser tentada, na qual um tubo de bambú ou cana deve ser colocado; você então deve soprar nele, assim o pulmão se levanta de novo e o animal recebe o ar... E fazendo isso, tomando cuidado para que o pulmão seja inflado em intervalos, o movimento do coração e das artérias não param...”

Andréas Wesele Vesalius, 1545.

Apesar do conceito de respiração artificial ter sido reconhecido desde o século 16 (VESALIUS, 1545), apenas a partir do século vinte, a ventilação mecânica começou a ser mais amplamente utilizada como modalidade terapêutica (SLUTSKY, 1993).

O suporte ventilatório tem como objetivo a manutenção da troca gasosa e consequente oferta de oxigênio aos tecidos garantindo aporte adequado para a mitocôndria e manutenção da aerobiose celular. Ademais, também propicia redução do trabalho e consumo de oxigênio pela musculatura respiratória (SLUTSKY, 1993).

A ventilação mecânica é o principal alicerce de suporte avançado de vida em terapia intensiva. Nesse contexto, recentemente, um estudo multicêntrico internacional incluiu mais de treze mil pacientes, sendo evidenciado que 53% dos pacientes admitidos nas unidades de terapia intensiva encontravam-se dependentes de ventilação mecânica (METNITZ *et al.*, 2009).

Nos últimos quarenta anos, houve uma intensa busca por novas técnicas ventilatórias resultando em um grande número de alternativas para o tratamento da insuficiência respiratória (ESTEBÁN *et al.*, 2000). Apesar do número de opções disponíveis aparentemente ter aumentado de forma exponencial, poucos estudos bem controlados, definindo claramente o papel de cada modo ventilatório bem

como comparando-os entre si, ainda são pouco frequentes na literatura. Além disso, ao longo dos últimos anos, houve significativa evolução no entendimento dos efeitos benéficos e deletérios da ventilação mecânica e de seus modos ventilatórios.

1.2 Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo

Em agosto de 1967, Ashbaugh e cols. descreveram características clínicas, radiológicas, bioquímicas e patológicas da síndrome do desconforto respiratório em doze pacientes adultos, onde se observou: dispnéia, taquipnéia, cianose refratária a oxigenioterapia, queda da complacência pulmonar e infiltrado alveolar difuso na teleradiografia do tórax (ASHBAUGH *et al.*, 1967).

Quarenta e três anos depois de sua descrição e com mais de dez mil estudos publicados sobre esse tema, o entendimento fisiopatológico assim como a melhor forma de tratamento através do suporte ventilatório ainda continuam sendo motivo de debate em todo o mundo.

A Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA) e a Lesão Pulmonar Aguda (LPA), essa última sendo a apresentação menos grave da primeira, foram definidas através de critérios clínicos pelo Consenso Americano e Europeu publicado em 1994 (BERNARD *et al.*, 1994) conforme quadro 1, e afetam aproximadamente duzentos mil pacientes por ano nos Estados Unidos da América, além de serem causa de 10% a 15% das admissões em unidades de terapia intensiva (UTI's) nesse país (FRUTOS-VIVAR *et al.*, 2004; RUBENFELD *et al.*, 2005).

	Início	Oxigenação	Rx tórax	Pressão Capilar Pulmonar
LPA	Agudo	$PaO_2/FiO_2 \leq 300$	Infiltrado bilateral	≤ 18 mmHg
SDRA	Agudo	$PaO_2/FiO_2 \leq 200$	Infiltrado bilateral	≤ 18 mmHg

Quadro 1- Critérios Clínicos para Definição LPA e SDRA. PaO_2/FiO_2 : relação entre pressão parcial de oxigênio e fração inspirada de oxigênio.

Em um estudo de coorte prospectivo realizado na Argentina durante quinze meses em quatro UTI's em hospitais universitários, a incidência da SDRA foi de 7,7% considerando-se todos os pacientes admitidos nas UTI's (3050 pacientes no total) e 19,7% considerando-se apenas os pacientes dependentes de ventilação mecânica (1193 no total de pacientes sob ventilação mecânica) (ESTENSSORO *et al.*, 2002).

A SDRA/LPA é caracterizada por edema pulmonar não cardiogênico, resultando em aumento do espaço-morto fisiológico, *shunt* progressivo e hipoxemia grave, além da piora da mecânica pulmonar caracterizada por redução da complacência estática. Na análise histológica, observa-se inicialmente uma fase exsudativa onde há aumento da permeabilidade alvéolo-capilar assim como extravasamento de leucócitos. Paralelamente, ocorre fibroproliferação, onde há formação de membrana hialina e proliferação de epitélio alveolar e células mesenquimais (WARE *et al.*, 2000). Radiologicamente observa-se infiltrado alveolar bilateral e presença de consolidação e colapso alveolar, que podem ser evidenciados na tomografia computadorizada do tórax. Durante a ventilação sob pressão positiva, constata-se hiperinsuflação alveolar nas regiões não dependentes e colapso alveolar nas áreas dependentes do pulmão, o que caracteriza o gradiente gravitacional dependente dessa síndrome. Destarte, surge

o conceito do pulmão de bebê (ou *baby lung*), onde a área pulmonar ventilável representa somente 20 a 30% do total de unidades alveolares ventiladas (GATTINONI *et al.*, 1987; GATTINONI *et al.*, 1993; GATTINONI *et al.*, 1995; GATTINONI *et al.*, 2001).

1.3 Mecanismos de lesão pulmonar relacionados à ventilação mecânica

Pacientes que apresentam LPA e dependem de suporte ventilatório não têm pulmão normal. Os pulmões estão estrategicamente posicionados para ser o receptor/condutor primário dos efeitos das forças mecânicas. A superfície alveolar é coberta por células epiteliais que estão em contato com o ar inspirado, e alterações na estrutura dos alvéolos têm um impacto direto e imediato na homeostasia inflamatória pulmonar (DOS SANTOS & SLUTSKY, 2006).

Por anos, barotrauma (lesão pulmonar secundária a pressões inspiratórias elevadas) era sinônimo de presença de ar extra-alveolar. O gradiente de pressão entre o alvéolo e sua bainha broncovascular adjacente pode permitir que o ar extravase para o interstício e migre através dessa mesma bainha broncovascular para o mediastino, retroperitônio, tecido subcutâneo, ou mesmo se rompa para os espaços pleural, pericárdico e peritoneal (SOSIN, 1959; DENNEY & GLASS, 1964). Já se demonstrou que elevadas pressões transpulmonares também têm se relacionado a lesões muito mais extensas, que são os acometimentos ultra estruturais, como desacoplamento de células endoteliais, bolhas intracapilares, e rupturas ou lesões em pneumócitos tipo I e tipo II, além de áreas de denudação da membrana basal, que têm sido descritas como evidências de volutrauma secundário a superdistensão alveolar (DREYFUSS & SAUMON, 1998; SEM AUTOR, 1999).

Conforme demonstrado em estudos morfológicos, os pulmões que apresentam LPA/SDRA não são uniformemente insuflados quando sob ventilação mecânica por pressão positiva e, por isso, são submetidos a um grande estresse mecânico. No pulmão normal, a insuflação está simplesmente relacionada à interdependência alveolar, isto é, alvéolos abertos suportam a abertura de outros

alvéolos porque os mesmos compartilham das mesmas paredes. Entretanto, a distribuição heterogênea pulmonar na LPA/SDRA com áreas consolidadas, hiperinsufladas e atelectasiadas altera as forças normais de distensão alveolar (MEAD *et al.*, 1970; WYSZOGRODSKI *et al.*, 1975; PARKER *et al.*, 1997; MARTYNOWICZ *et al.*, 1999; BREEN *et al.*, 2000; WEST *et al.*, 2000; BACHOFEN *et al.*, 2001; MARTYNOWICZ *et al.*, 2001; TAKEUCHI *et al.*, 2002; BARBAS *et al.*, 2005;), e conseqüentemente, eleva a pressão transpulmonar induzindo liberação de mediadores inflamatórios no pulmão e sistemicamente, propagando a lesão pulmonar e induzindo apoptose celular em órgãos à distância como rins e intestinos, o que caracteriza a descompartmentalização da inflamação pulmonar (IMAI *et al.*, 2003) e pode resultar na disfunção de múltiplos órgãos e sistemas (DMOS). Por isso, a principal causa de morte na maior parte dos pacientes que apresentam LPA/SDRA não se relaciona a doença pulmonar subjacente ou hipoxemia, mas com o desenvolvimento da DMOS (DOS SANTOS & SLUTSKY, 2006).

Portanto, a mesma terapia de suporte que sustenta a vida garantindo a troca gasosa pulmonar, pode piorar uma doença pré-existente, induzindo a chamada “lesão pulmonar associada à ventilação mecânica (LPAVM)”, ou ainda transformar um pulmão normal em doente, acarretando a chamada “lesão pulmonar induzida pela ventilação mecânica (LPIVM)” (DREYFUSS *et al.*, 1988; SLUTSKY, 1999; RANIERI *et al.*, 1999; DOS SANTOS & SLUTSKY, 2000; SUH *et al.*, 2002; PUGIN, 2002; PUGIN, 2003; VLAHAKIS & HUBMAYR, 2005;). A LPAVM ou LPIVM resulta de uma complexa interação entre várias forças mecânicas que atuam sobre as estruturas pulmonares durante a ventilação mecânica. O aumento da sobrecarga mecânica sob as células parenquimatosas e do tecido conjuntivo pode iniciar um processo adaptativo até um alto nível de estresse com deposição de fibras colágenas e proliferação de células vasculares (BREEN *et al.*, 2000). Os fatores mecânicos responsáveis pela LPAVM/LPIVM estão relacionados ao recrutamento e ou desrecrutamento de alvéolos previamente colapsados assim como na hiperinsuflação pulmonar, especialmente no contexto da LPA/SDRA

(MARTYNOWICZ *et al.*, 2001; SUH *et al.*, 2002). Tanto a LPAVM quanto a LPIVM induz a liberação de mediadores inflamatórios e acarreta lesões histológicas pulmonares que são indistinguíveis da SDRA/LPA (DREYFUSS *et al.*, 1988; SLUTSKY, 1999; RANIERI *et al.*, 1999; SUH *et al.*, 2002) e dependem de mecanismos que são descritos na figura 1.

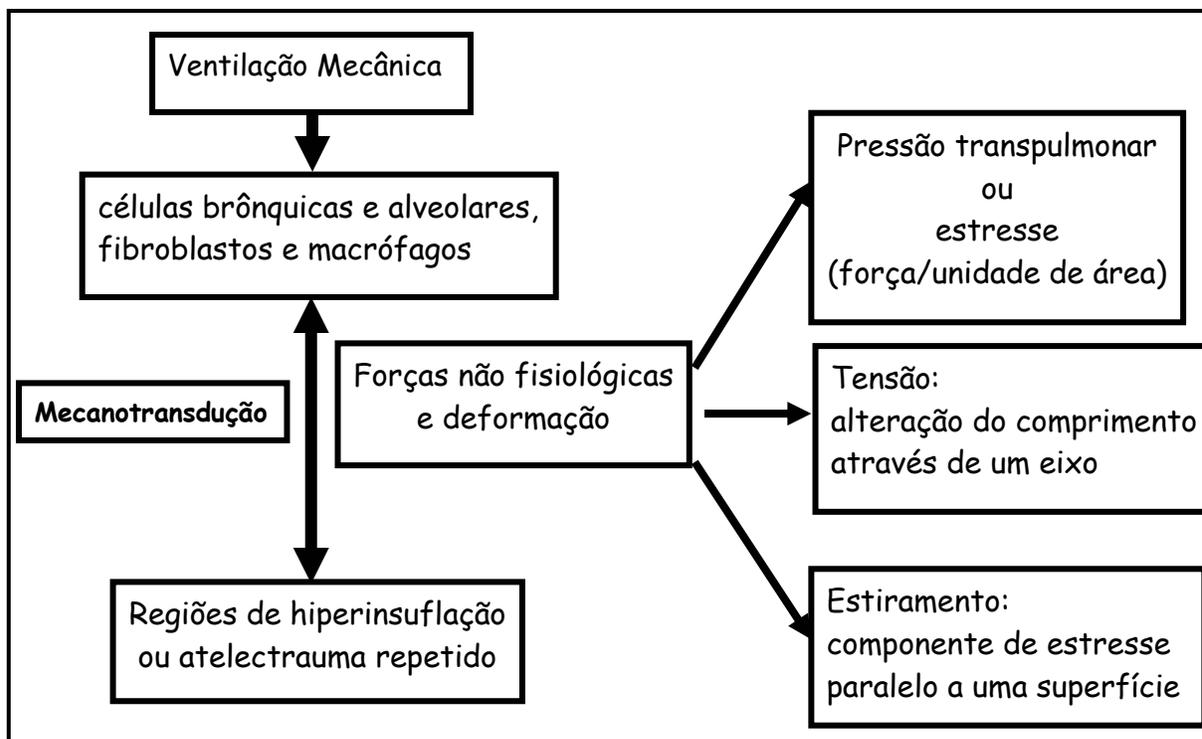


Figura 1. Representação esquemática dos mecanismos de lesão pulmonar relacionados à ventilação mecânica. Durante a ventilação mecânica, células brônquicas, alveolares e outras células parenquimatosas, assim como fibroblastos e macrófagos podem estar sujeitos a forças não fisiológicas e de deformação. Essas forças incluem alterações na pressão transpulmonar ou estresse (força por unidade de área), tensão (alteração do comprimento através de um eixo) ou estiramento (componente de estresse paralelo a uma superfície). A tensão e estiramento celulares ocorrem primariamente em regiões pulmonares onde ocorrem hiperdistensão e atelectrauma (abertura e fechamento repetidos) (PUGIN, 2002; PUGIN, 2003; VLAHAKIS & HUBMAYR, 2005). A mecanotransdução é a conversão do estímulo mecânico como a deformação celular, gerando alterações bioquímicas e biomoleculares, podendo estar relacionada aos seguintes mecanismos: 1) presença de canais sensíveis a tensão; 2) alterações na integridade da membrana plasmática; 3) alterações conformacionais diretas em moléculas associadas à membrana (DOS SANTOS & SLUTSKY, 2000; VLAHAKIS & HUBMAYR, 2005).

1.4 Ventilação protetora

O conhecimento da morfologia pulmonar é fundamental para implementar a estratégia ventilatória protetora, já que tal conceito relaciona-se diretamente com a prevenção de LPAVM/LPIVM, e para tal, deve-se evitar tanto o colapso como a hiperinsuflação alveolar. Porém, o pulmão deve ser aberto e permanecer dessa forma (LACHMANN, 1992; BERNARD *et al.*, 1994; ARTIGAS *et al.*, 1998; AMATO *et al.*, 1998; SEM AUTOR, 2000; VILLAR *et al.*, 2006; TERRAGNI *et al.*, 2007) obedecendo as seguintes recomendações: não ultrapassar os limites da pressão de platô (Pplat) entre 28 e 30 cmH₂O [ou pressão transpulmonar (PL) menor ou igual a 25 cmH₂O], utilizando-se volume corrente (V_T) entre 4 e 6 ml/kg, pressão positiva ao final da expiração (PEEP) de forma que se consiga manter o pulmão aberto com FiO₂ inferior a 60%, manter a *driving pressure* (diferença entre Pplat e PEEP) inferior ou igual a 15 cmH₂O, utilizar padrão de fluxo inspiratório desacelerado, e manutenção de níveis seguros de pressão vascular transpulmonar.

Muitos avanços foram alcançados nos últimos anos em relação ao entendimento fisiopatológico e ao tratamento de suporte através da ventilação mecânica para a insuficiência respiratória. Esse progresso resulta de estudos fisiológicos que foram desenhados para responder questões clínicas relevantes, como a repercussão de determinados modos ventilatórios ou mesmo fármacos e suas interferências no prognóstico da LPA/SDRA. Tais estudos, usualmente têm sido realizados primeiramente em animais, dentro de laboratórios especializados, inseridos no contexto experimental, ou em pequenas séries de pacientes selecionados, sob controle estrito no ambiente de terapia intensiva. Estudos clínicos multicêntricos randomizados com significativo número de pacientes também foram organizados para avaliar o impacto de estratégias ventilatórias que resultaram em mudanças de conduta na prática clínica diária (TOBIN *et al.*, 1986; BROCHARD *et al.*, 1990; BERNARD *et al.*, 1994; ARTIGAS *et al.*, 1998; AMATO *et al.*, 1998; SEM AUTOR, 2000; VILLAR *et al.*, 2006; TERRAGNI *et al.*, 2007;) e,

a partir desses estudos, pode-se basear as condutas atuais em relação ao suporte ventilatório na LPA/ SDRA.

1.5 Airway Pressure Release Ventilation (APRV – Ventilação por liberação de pressão na via aérea) e Bivent

Desde a década de 90, foram desenvolvidos ventiladores mecânicos que apresentam novos modos ventilatórios. Nesse contexto, o modo Bivent, disponível inicialmente nos aparelhos Servo 300 (Siemens, Solna, Suécia), e mais recentemente nos aparelhos Servo-i (Maquet, Solna, Suécia), foi criado a partir do modo APRV, onde se implementam dois níveis de pressão: pressão alta (ou P. alta) e pressão baixa (ou P. baixa), que funcionam como dois níveis de CPAP (*continuous positive airway pressure* - pressão positiva contínua em via aérea) permitindo a ventilação espontânea em ambos os níveis de pressão em função da presença de duas válvulas expiratórias, sendo uma delas de demanda (STOCK *et al.*, 1987; FRAWLEY *et al.*, 2001; ROSE *et al.*, 2008).

Quando foi inicialmente descrito, o modo APRV era utilizado mantendo-se relação entre períodos de P. alta e P. baixa maior ou igual a 1:1, além da utilização de níveis de P. baixa entre 0 a 5 cmH₂O (STOCK *et al.*, 1987; FRAWLEY *et al.*, 2001; ROSE *et al.*, 2008), conforme pode ser observado na Figura 2.

Esse modo ventilatório pode ser caracterizado da seguinte forma: o disparo (*trigger*) pode acontecer à pressão ou fluxo, sendo limitado à pressão e ciclado à tempo, desde que não haja respiração espontânea – semelhança com o modo PCV (ventilação por pressão controlada, limitado a pressão e ciclado a tempo). Caso ocorra respiração espontânea, graças a presença de uma válvula expiratória de demanda, poderá haver oscilação do nível de pressão conforme a força muscular do paciente e o disparo, resultando em redução da pressão média das vias aéreas e, conseqüentemente da pressão transpulmonar dependendo do grau de oscilação da pressão pleural, que relaciona-se diretamente com o nível de

esforço realizado pela musculatura respiratória (FRAWLEY *et al.*, 2001; HABASHI, 2005) (Figura 2).

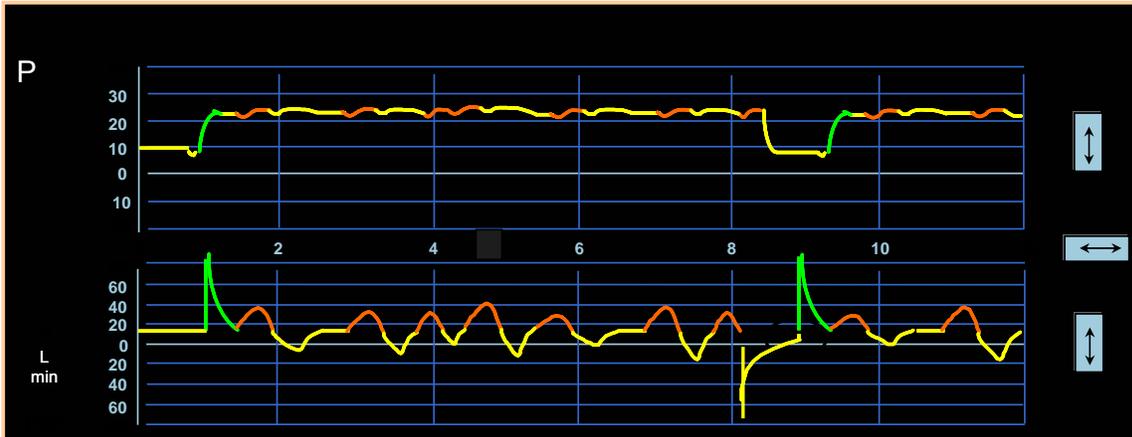


Figura 2: Representação esquemática do modo *APRV* original. O traçado superior representa a curva pressão x tempo e o inferior fluxo x tempo. Pode-se observar que a relação entre tempo de P. alta (pressão alta) e P. baixa (pressão baixa) encontra-se em torno de 4:1, e em laranja, observam-se períodos de ventilação espontânea durante o período de P. alta.

O modo *APRV* apresenta as seguintes vantagens: 1) utilização de pressão média em vias aéreas mais baixas quando comparada aos modos convencionais (VCV – ventilação por volume controlado; PCV – ventilação por pressão controlada; SIMV – ventilação mandatória intermitente sincronizada) resultado da utilização de pressões inspiratórias menores por tempo mais prolongado (STOCK *et al.*, 1987; FRAWLEY *et al.*, 2001; HABASHI, 2005), 2) maior volume minuto dependendo do grau de interação de ventilação espontânea do paciente (FRAWLEY *et al.*, 2001; HABASHI, 2005), 3) menor ventilação de espaço-morto (48,50,51), 4) menos efeitos colaterais na função cardiovascular (KIRBY *et al.*, 1975; RÄSÄNEN *et al.*, 1998; FRAWLEY *et al.*, 2001; HABASHI, 2005), 5) permite a respiração espontânea de forma irrestrita em qualquer fase do ciclo mecânico garantindo melhor distribuição da ventilação em áreas pulmonares dependentes (conforme gradiente gravitacional) e, por conseguinte, ajuste da relação ventilação-perfusão (V'/Q'), possivelmente pela contração diafragmática opondo-se a compressão alveolar (Figura 3). (FROESE *et al.*, 1974; HEDENSTIERNA *et*

al., 1994; PUTENSEN *et al.*, 1999; PUTENSEN & WRIGGE, 2004; PUTENSEN & WRIGGE, 2006), e 6) redução da necessidade de sedação e de bloqueadores neuromusculares (FROESE *et al.*, 1974; KIRBY *et al.*, 1975; STOCK *et al.*, 1987; HEDENSTIERNA *et al.*, 1994; RÄSÄNEN *et al.*, 1998; PUTENSEN *et al.*, 1999; FRAWLEY *et al.*, 2001; ROSE *et al.*, 2008; PUTENSEN & WRIGGE, 2004; HABASHI, 2005; PUTENSEN & WRIGGE, 2006).

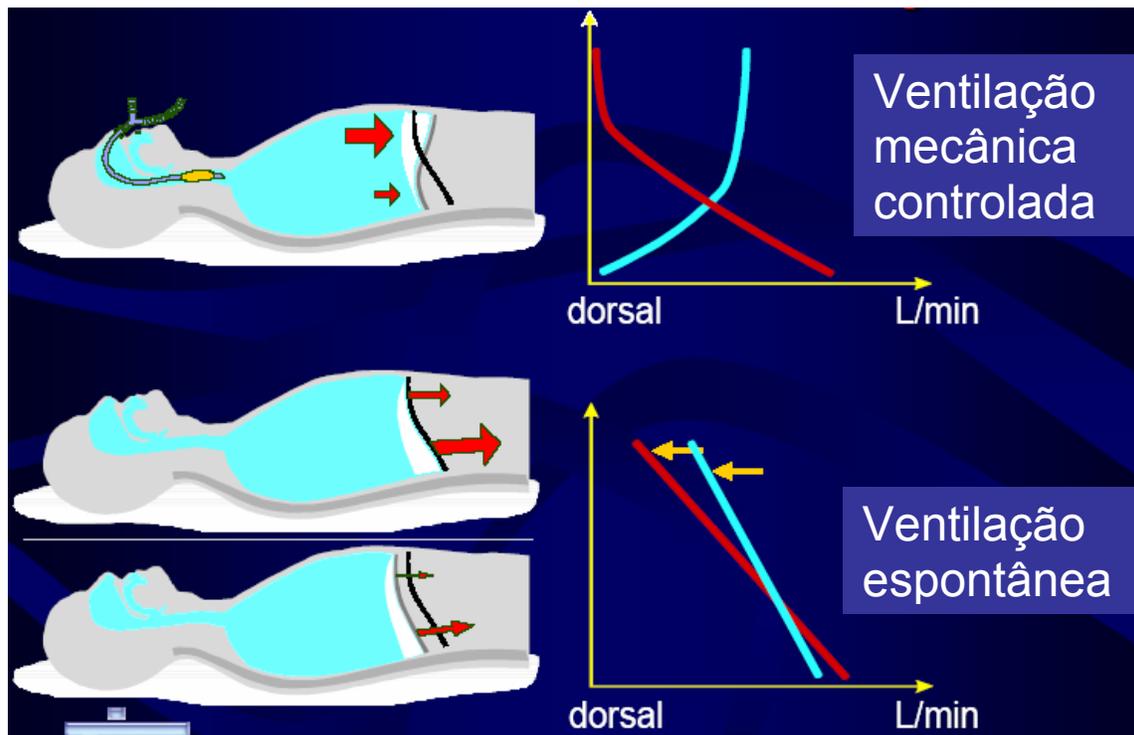


Figura 3: Representação esquemática da repercussão da ventilação mecânica controlada e da ventilação espontânea sobre a relação ventilação-perfusão pulmonar (modificado de PUTENSEN & WRIGGE, 2006). A perfusão está representada em vermelho e a ventilação em azul. Durante a respiração espontânea, as fibras posteriores do diafragma se movem mais do que as anteriores. Consequentemente, na posição supina, a ventilação espontânea é preferencialmente direcionada para áreas bem perfundidas, ou seja, nas regiões gravidade dependente. Contrariamente, o volume corrente gerado pela ventilação mecânica é direcionado para áreas não-dependentes. Portanto, constata-se que a ventilação espontânea retifica o distúrbio V/Q em função da contração diafragmática, resultando em abertura de áreas previamente colapsadas nas regiões póstero-inferiores (FROESE *et al.*, 1974; HEDENSTIERNA *et al.*, 1994; PUTENSEN *et al.*, 1999; PUTENSEN & WRIGGE, 2004; PUTENSEN & WRIGGE, 2006).

A ventilação por suporte pressórico (PSV) é um modo ventilatório espontâneo ciclado a fluxo, em que o paciente deve ativar o disparo para ciclagem

a partir do esforço inspiratório, enquanto que o trabalho para superar as forças resistivas e elásticas do sistema respiratório durante a inspiração é minimizado pelo nível de pressão de suporte (BROCHARD *et al.*, 1991).

O modo *Bivent* agrega ao *APRV* o valor do *PSV*, que mantém suas características: disparo (*trigger*) à fluxo ou pressão, ciclagem a fluxo e limite à pressão, o que resulta quando associado ao *Bivent*, em elevação da pressão média em vias aéreas ($P_{média, va}$) e conseqüentemente, da *PL*, e através desse fato, facilita a abertura de vias aéreas previamente colapsadas pelo gradiente de pressão instalado associado à sincronização durante as transições entre *P. alta* e *P. baixa*, além de que pode acarretar em melhor sincronização entre paciente-ventilador (Figura 4).

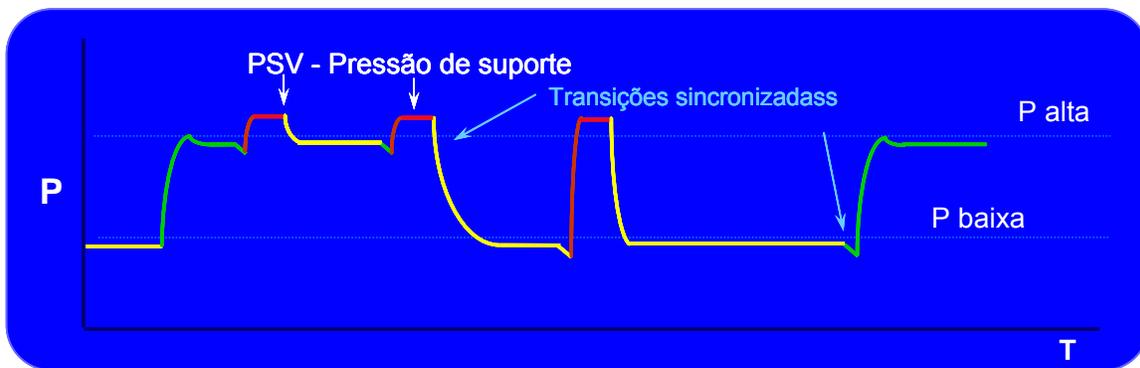


Figura 4: Representação esquemática do modo *Bivent+PSV*. Observam-se as transições sincronizadas durante início da ciclagem e seu término em *PSV*. As curvas em vermelho e amarelo representam o ciclo em *PSV*.

O modo *Bivent* pode atingir as metas das atuais diretrizes acerca do suporte ventilatório de pacientes com LPA/SDRA (GATTINONI *et al.*, 1987; LACHMANN, 1992; BERNARD *et al.*, 1994; ARTIGAS *et al.*, 1998; KOLLEF *et al.*, 1998; AMATO *et al.*, 1998; SEM AUTOR, 2000; ESTEBÁN *et al.*, 2000; KRESS *et al.*, 2000; SASSOON *et al.*, 2004; SHANELY *et al.*, 2004; VILLAR *et al.*, 2006; TERRAGNI *et al.*, 2007; POWERS *et al.*, 2008; FUTIER *et al.*, 2008; LEVINE *et al.*, 2008) da seguinte forma: 1) prevenindo a extensão da lesão pulmonar (desde

que se obedeça aos princípios da estratégia ventilatória protetora descritos anteriormente); 2) minimizando toxicidade por oxigênio (FiO_2 inferior a 60%); 3) ajustando a $P_{média}$, va tal que a PL não ultrapasse 25 cmH_2O ; 4) gerando abertura alveolar através do recrutamento alveolar paulatino a partir do ajuste dos níveis de P.alta e P.baixa, bem como do prolongamento do tempo da pressão alta; 5) através do auxílio da ventilação espontânea com a contração diafragmática aumentando a aeração das áreas póstero-inferiores dos pulmões e minimizando a pressão das vias aéreas; e 6) reduzindo a utilização de sedação e agentes bloqueadores neuromusculares (FROESE *et al.*, 1974; STOCK *et al.*, 1987; HEDENSTIERNA *et al.*, 1994; PUTENSEN *et al.*, 1999; FRAWLEY *et al.*, 2001; PUTENSEN & WRIGGE, 2004; HABASHI, 2005; PUTENSEN & WRIGGE, 2006).

É reconhecida a importância da preservação da musculatura respiratória durante o tratamento da doença crítica, e já se demonstrou que a ventilação mecânica de forma assistida, ou seja, permitindo a ativação da musculatura respiratória e fundamentalmente a diafragmática, atenua a perda de força muscular assim como a atrofia muscular (ESTEBÁN *et al.*, 2000; SHANELY *et al.*, 2004; SASSOON *et al.*, 2004; FUTIER *et al.*, 2008; LEVINE *et al.*, 2008). Para isso, recomenda-se a menor utilização de agentes sedativos e bloqueadores neuromusculares em pacientes em estado grave, já que essa prática não apenas permite maior atividade muscular como também se relaciona com menor tempo de permanência em ventilação mecânica e suas complicações, com conseqüente redução de custos (KOLLEF *et al.*, 1998; KRESS *et al.*, 2000).

Apesar de todo o benefício da ventilação espontânea, sua maior limitação quando associada à ventilação com pressão positiva é o assincronismo, ou seja, a interação paciente-ventilador mecânico inadequada, o que pode resultar em auto-PEEP, alterações cardiovasculares associadas a queda do débito cardíaco, piora da troca gasosa (hipoxemia e hipercapnia), aumento do trabalho respiratório e fadiga muscular (VIALE *et al.*, 1988; THILLE *et al.*, 2008), além de liberação de mediadores inflamatórios provenientes da musculatura esquelética respiratória podendo inclusive gerar atrofia muscular a distância (VASSILAKOPOULOS *et al.*,

2005). Durante a ventilação com o modo Bivent, o assincronismo e suas repercussões negativas podem ser resolvidas ou atenuadas associando-se o PSV a esse modo ventilatório (STAUDINGER *et al.*, 1998).

JUSTIFICATIVA

2 Justificativa

O reconhecimento de que as vias aéreas e o parênquima pulmonar podem ser afetados por estresse físico tem redirecionado os estudos referentes a LPA/SDRA para a análise da mecânica pulmonar e dos fatores determinantes da lesão tecidual, remodelamento e reparo pulmonar (HUBMAYR *et al.*, 2002). Os modos ventilatórios podem influenciar o grau de lesão pulmonar e suas repercussões sistêmicas conforme suas características e o ajuste de seus parâmetros (AMATO *et al.*, 1998; RANIERI *et al.*, 1999; SEM AUTOR, 2000; FUJITA *et al.*, 2006; VILLAR *et al.*, 2006; TERRAGNI *et al.*, 2007; POWERS *et al.*, 2008;).

O modo Bivent, conforme descrito anteriormente, pode ser ajustado tal que possa prolongar o tempo inspiratório e reduzir o tempo expiratório resultando em recrutamento alveolar e redução da lesão pulmonar (BROCCARD *et al.*, 1999; MARINI & RAVENSCRAFT, 1992a, 1992b; D'ANGELO *et al.*, 2004). Por outro lado, o aumento do tempo inspiratório pode promover maior grau de lesão pulmonar devido ao aumento do estiramento ou *strain* (MARINI & RAVENSCRAFT, 1992a, 1992b; BROCCARD *et al.*, 1999). Além disso, como esse modo ventilatório permite respiração espontânea durante qualquer momento do ciclo ventilatório e sabendo-se que a ventilação espontânea excessiva está associada ao aumento do esforço respiratório, a combinação de PSV ao Bivent pode ser benéfica auxiliando o sincronismo e reduzindo o trabalho respiratório.

Até o momento, não há estudo experimental em LPA avaliando o impacto dos modos de ventilação assistida na LPAVM. Logo, esse estudo tenciona testar as seguintes hipóteses: 1) em comparação ao modo pressão controlada, a ventilação assistida por si só acarreta menos atelectasia resultando em melhora da função pulmonar, menor *stress* e *strain* e consequente LPAVM, e 2) entre os modos ventilatórios assistidos, o modo Bivent+PSV é o mais benéfico.

OBJETIVOS

3 Objetivos

3.1 Gerais

Comparar morfo-funcionalmente e molecularmente as repercussões entre o modo ventilatório controlado (PCV) e os assistidos (A-PCV1:1, A-PCV1:2, Bivent+PSV) em modelo experimental de LPA.

3.2 Específicos

- Quantificar parâmetros ventilatórios e gasométricos;
- Estudar a histologia pulmonar (microscopias óptica e eletrônica);
- Quantificar a expressão de RNAm para pró-colágeno tipo III no tecido pulmonar;
- Quantificar a expressão de RNAm para citocinas pró- e anti-inflamatórias, pró e anti-fibrogênicas no tecido pulmonar.

MATERIAIS E MÉTODOS

4 Materiais e Métodos

4.1 Animais Utilizados

Foram estudados trinta e seis ratos Wistar machos (250-300 g) provenientes do biotério do Laboratório de Investigação Pulmonar do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Os animais receberam cuidados conforme as normas internacionalmente adotadas e divulgadas pelos seguintes órgãos: *International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals (CIOMS)*, *International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS)*, *American Association of Laboratory Animal Science (AALAS)*, *Canadian Association of Laboratory Animal Science (CALAS)*, *Centre d'Information sur les Animaux de Laboratoire (CIAL)* e Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Esse estudo foi aprovado pela Comissão de Ética, com uso de animais do Centro de Ciências da Saúde, UFRJ (CEUA-CCS, IBCCF 019).

4.2 Caracterização dos grupos estudados

Os animais foram divididos nos grupos experimentais conforme mostrado na Figura 5.

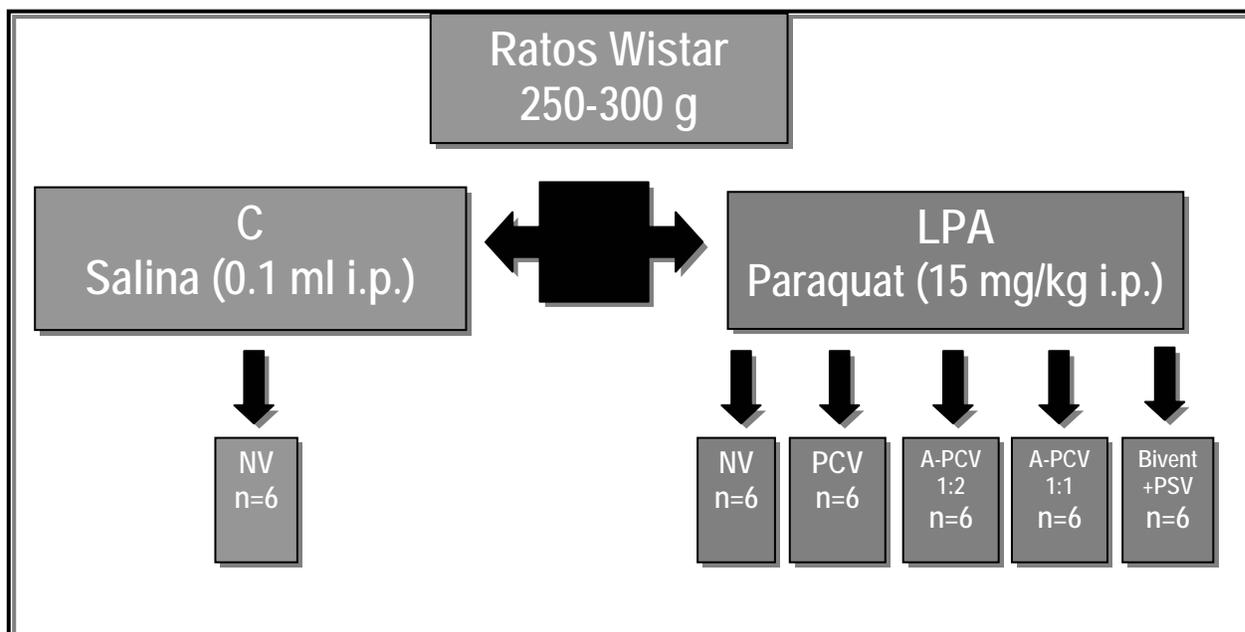


Figura 5- Representação esquemática dos grupos estudados.

-Grupo C-NV = Controle com pulmão normal não ventilado (n=6). Animal ventilando espontaneamente em ar ambiente por 1 hora.

-Grupo LPA-NV = Modelo experimental de LPA induzido por paraquat (15 mg/kg i.p.), sendo que, 24 horas após a indução da lesão, os animais foram mantidos sob ventilação espontânea em ar ambiente por 1 hora (n=6).

Grupo LPA-PCV = Modelo experimental de LPA induzido por paraquat (15 mg/kg i.p.), sendo que, 24 horas após a indução da lesão, foi ventilado no respirador Servo i (Maquet, Solna, Suécia) com estratégia ventilatória protetora (*ARDS network*) (43) em modo PCV e os seguintes parâmetros: fluxo desacelerado, frequência respiratória (FR) = 100 irpm, relação tempo inspiratório: tempo expiratório (I:E) = 1:2, com fração inspirada de oxigênio (FiO_2) = 0,21, PEEP = 5 cmH₂O e pressão inspiratória necessária para manter o V_T em 6 ml/Kg por 1 hora (n=6).

-Grupo LPA-APCV1:2 = Modelo experimental de LPA induzido por paraquat (15 mg/kg i.p.) ventilado no modo pressão assisto-controlada (A-PCV1:2) no respirador Servo i (Maquet, Solna, Suécia) com os seguintes parâmetros: fluxo

desacelerado; $P_{plat} = 10 \text{ cmH}_2\text{O}$ (resultando em $V_T \leq 6 \text{ ml/Kg}$); $PEEP = 5 \text{ cmH}_2\text{O}$; I:E:1:2; FR = 100 ipm; $FiO_2 = 0,21$ por uma hora (Figura 6), (n=6).

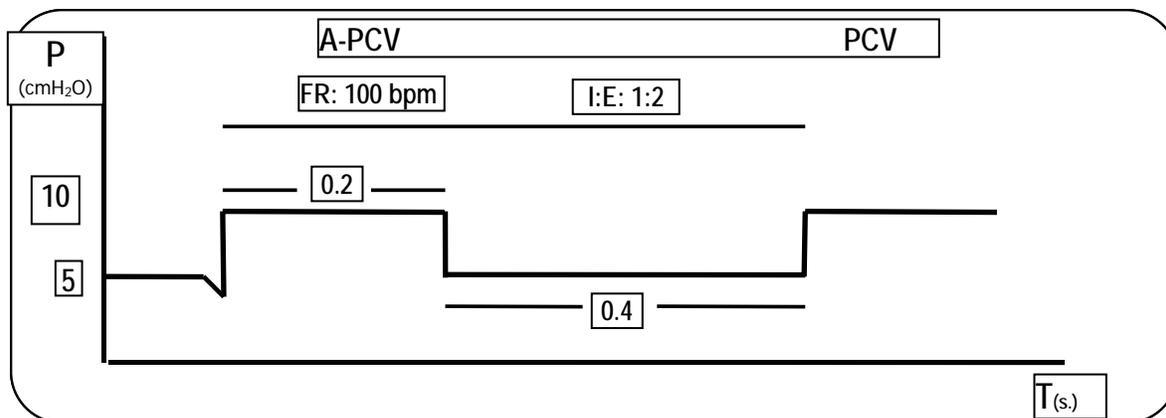


Figura 6- Representação esquemática dos modos A-PCV1:2 e PCV. A-PCV: modo de pressão assisto-controlada; PCV: modo pressão controlada; P: pressão em via aérea; FR: frequência respiratória; I:E: relação tempos inspiratório:expiratório; T: tempo.

-Grupo LPA-APCV1:1 = Modelo experimental de LPA induzido por paraquat (15 mg/kg i.p.) ventilado em modo pressão assisto-controlada (A-PCV1:1) no respirador Servo i (Maquet, Solna, Suécia) com os seguintes parâmetros: fluxo desacelerado; $P_{plat} = 10 \text{ cmH}_2\text{O}$ (resultando em $V_T \leq 6 \text{ ml/Kg}$); $PEEP = 5 \text{ cmH}_2\text{O}$; I:E = 1:1; FR = 100 ipm; $FiO_2 = 0,21$ por uma hora (Figura 7), (n=6).

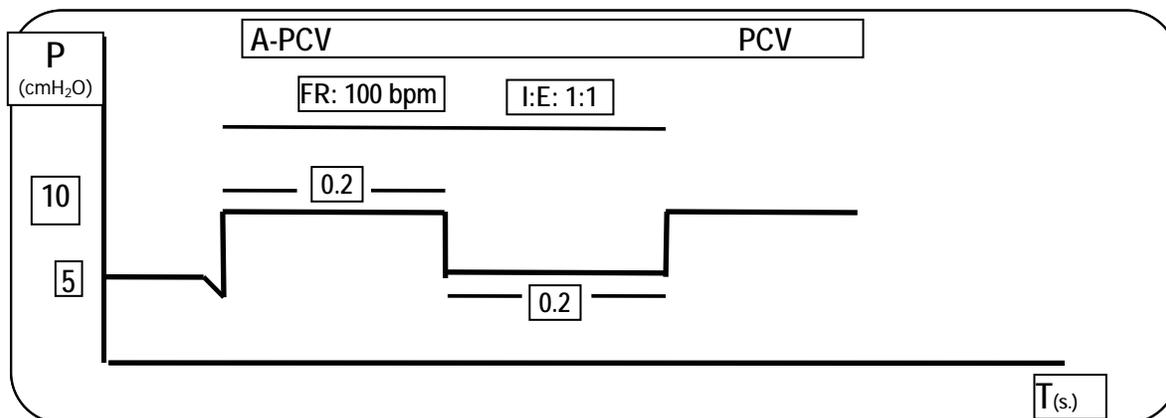


Figura 7- Representação esquemática dos modos A-PCV1:1 e PCV. A-PCV: modo de pressão assisto-controlada; PCV: modo pressão controlada; P: pressão em via aérea; FR: frequência respiratória; I:E: relação tempos inspiratório:expiratório; T: tempo.

-Grupo LPA-Bivent+PSV = Modelo experimental de LPA induzido por paraquat (15 mg/kg i.p.) ventilado no modo Bivent + PSV no respirador Servo i (Maquet, Solna, Suécia) com os seguintes parâmetros: fluxo desacelerado; tempo de pressão alta ou tempo “*high*”: 0,3 s, tempo de pressão baixa ou tempo “*low*”: 0,3 s; relação entre P.alta e P.baixa 1:1 (essa relação será convencionalmente chamada a partir de agora relação de I:E:1:1); FR = 100 ipm; P.baixa = 5 cmH₂O; P.alta = 10 cmH₂O; PSV = 2 cmH₂O acima P.alta e 7 cmH₂O acima P.baixa ; final do ciclo inspiratório: 30%; FiO₂ = 0,21 por uma hora (Figura 8), (n=6).

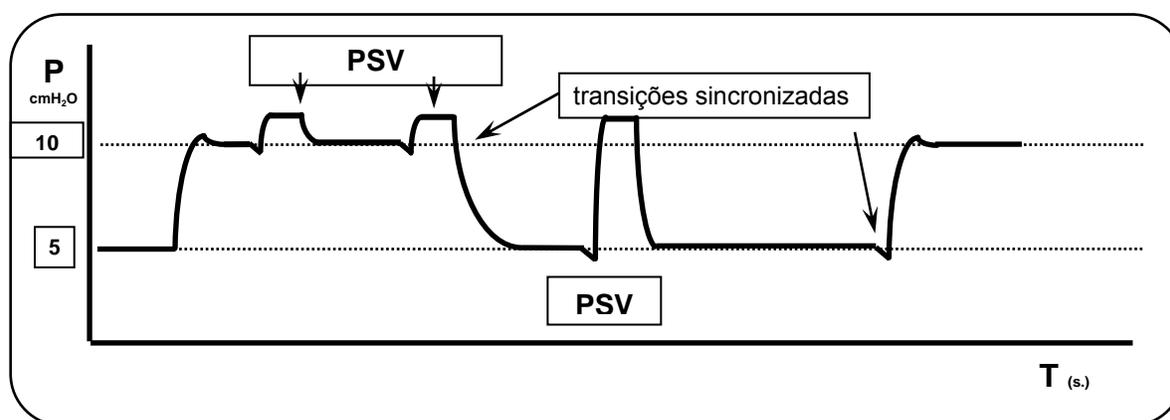


Figura 8. Representação esquemática do modo Bivent+PSV. P: pressão em via aérea; T: tempo; PSV: ventilação por pressão de suporte.

4.3 Protocolo do estudo

4.3.1 Descrição esquemática do protocolo do estudo através do tempo (Figura 9).

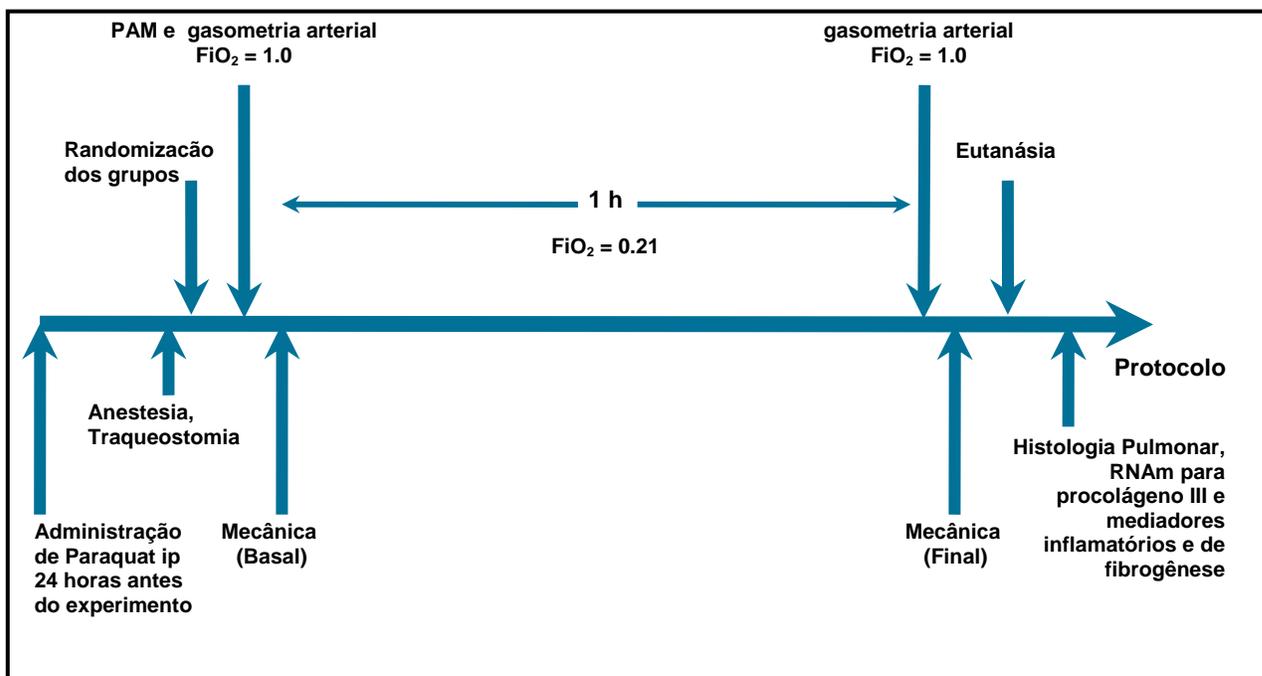


Figura 9. Descrição esquemática do protocolo do estudo através do tempo.

4.3.2 Descrição do protocolo

Os ratos foram sedados com diazepam administrado de forma intraperitoneal (*ip*) na dose de 1 mg e anestesiados com tiopental sódico (20 mg/kg, *ip*). Depois de anestesiados, os animais foram colocados em uma pequena mesa cirúrgica, em decúbito dorsal, sendo seus membros fixados com esparadrapo. Os membros superiores foram mantidos estendidos a 90 graus em relação ao corpo e os membros inferiores abduzidos em diagonal. Após o posicionamento cirúrgico, foi realizada uma pequena incisão longitudinal medial de aproximadamente 2 cm de extensão na face ventral da região cervical dos animais seguida de divulsão dos planos dos tecidos até a exposição completa do terço inicial da traquéia. A seguir, pela traqueostomia, uma cânula de polietileno (PE 240, Intramedic®, Clay-Adams Inc. Nova York, EUA) com 1,5 mm diâmetro interno (DI) e 7,5 cm de comprimento foi introduzida na traquéia, sendo esta fixada na porção proximal por meio de fios de algodão.

A cânula traqueal do animal foi conectada a um pneumotacógrafo para pequenos animais, como descrito por (MORTOLA & NOWORAJ, 1983), para medida de fluxo aéreo (V'). O pneumotacógrafo utilizado consiste de uma cânula metálica com duas saídas laterais com as seguintes características: diâmetro interno = 1,5 mm, comprimento = 4,2 cm e distância entre as saídas laterais = 2,1 cm. O gradiente de pressão através do pneumotacógrafo foi determinado utilizando-se um transdutor diferencial de pressão Scireq (SC-24, Montreal, PQ, Canadá). Essa forma de medir fluxo aéreo, além de bem simples, é adequada, visto que, em animais de pequeno porte, os fluxos baixos e as dimensões traqueais reduzidas são responsáveis pela existência de fluxo laminar e, portanto, o fluxo aéreo pode ser medido de acordo com a lei de Poiseuille, onde a diferença de pressão entre as saídas laterais do pneumotacógrafo é proporcional ao V' . Através de outra saída lateral, a via aérea foi conectada a um transdutor diferencial de pressão Scireq (SC-24, Montreal, PQ, Canadá) para medida da pressão traqueal (P_{tr}). A inexistência de mudanças abruptas no diâmetro do circuito (da traquéia até a extremidade da tubulação) evita erros de medida de resistência ao fluxo (LORING *et al.*, 1979). O V_T mobilizado foi obtido por integração digital do sinal de fluxo.

A aspiração foi cuidadosamente realizada apenas em presença de excesso de secreção e sempre antes da medida da mecânica respiratória. A resistência total do equipamento (R_{eq}), incluindo a cânula traqueal, foi aferida previamente através da aplicação de diferentes fluxos de ar ao sistema (até fluxos de 26 mL/s; bem acima da faixa de fluxo utilizada no presente experimento), com concomitante registro das variações de pressão (ΔP). Uma vez que $R_{eq} = \Delta P/V'$, a resistência do equipamento corresponde ao coeficiente angular da curva $\Delta P \times V'$. A R_{eq} foi subtraída da resistência do pulmão de tal forma que os resultados representam as propriedades mecânicas intrínsecas. A R_{eq} encontrada nos experimentos, constante na faixa de fluxos usados, foi de $0,12 \text{ cmH}_2\text{O} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{s}$. A inexistência de mudanças abruptas no diâmetro do circuito (da traquéia até a extremidade do

pneumotacógrafo) evita erros de medida de resistência ao fluxo (MORTOLA & NOWORAJ, 1983; LORING *et al.*, 1979).

A montagem experimental está demonstrada esquematicamente na Figura 10.

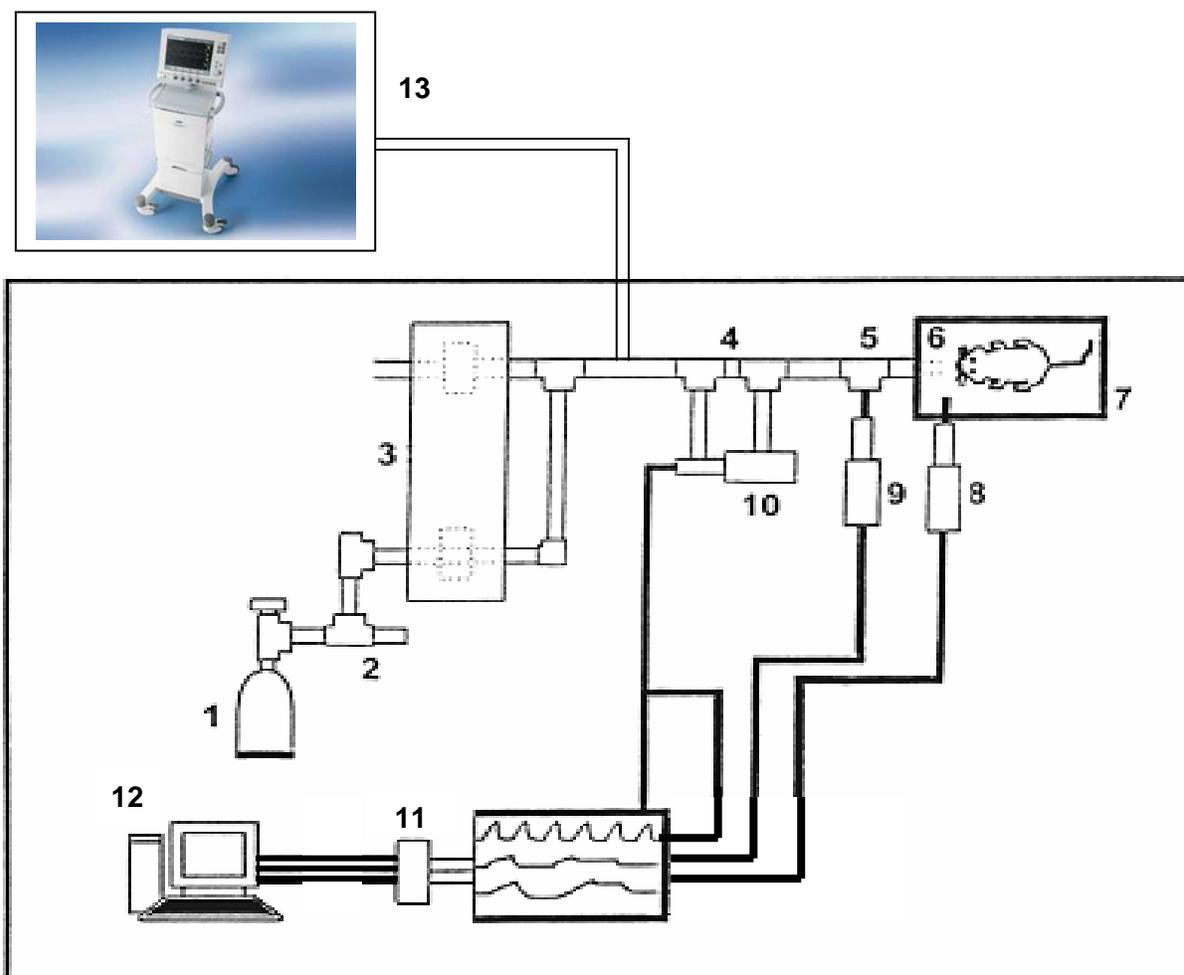


Figura 10. Representação esquemática da montagem experimental, onde:

- 1 – Cilindro de ar comprimido e oxigênio;
- 2 – Rotâmetro de agulha;
- 3 – Ventilador controlado a volume com fluxo inspiratório constante com duas válvulas solenóides (que não foi utilizado no estudo);
- 4 – Pneumotacógrafo;
- 5 – Peça T para medida de pressão nas vias aéreas;
- 6 – Cânula traqueal;
- 7 – Mesa Cirúrgica;
- 8 – Transdutor de pressão esofágica;
- 9 – Transdutor de pressão traqueal;
- 10 – Transdutor diferencial de pressão para medida de fluxo;
- 11 – Placa analógico-digital de 12 bits;
- 12 – Microcomputador; 13 – Ventilador Mecânico Servo i.

No esôfago dos animais, foi introduzido um cateter de polietileno (PE 200) de 20 cm de comprimento e 1,7 mm de diâmetro interno, com pequenos orifícios em sua extremidade distal, preenchido com água deionizada (Figura 11).

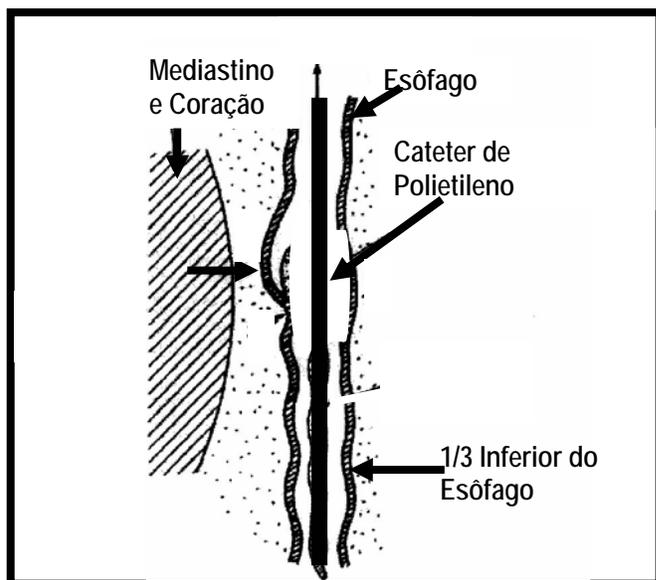


Figura 11 – Posicionamento anatômico do cateter esofagiano.

O cateter foi introduzido até o estômago e retrocedido lentamente até atingir o terço inferior do esôfago (Figura 10), já que as variações da pressão no terço inferior do esôfago refletem as variações da pressão intrapleural (P_{pl}) e, portanto, da pressão da parede torácica (P_w) (MILLIC-EMILI *et al.*, 1964a e 1964b). A extremidade proximal do cateter foi conectada a um transdutor diferencial de pressão Scireq (SC-24, Montreal, PQ, Canadá) para medida da pressão esofagiana (P_{es}). A medida da pressão esofagiana foi realizada para correto reconhecimento de ciclos respiratórios espontâneos, além de poder decompor o sistema respiratório em pulmão e parede torácica. O correto posicionamento do cateter esofagiano foi determinado pelo “teste de oclusão” (BAYDUR *et al.*, 1982). O “teste de oclusão” consiste na oclusão das vias aéreas ao término de uma expiração espontânea, as quais são mantidas fechadas por um ciclo respiratório,

registrando-se e comparando-se as variações das pressões traqueal e esofagiana durante o esforço inspiratório subsequente. Nessas condições, a diferença entre as variações da pressão traqueal (ΔP_{tr}) e da pressão esofagiana (ΔP_{es}) não deve exceder 5% (Figura 12). O cateter esofagiano foi lavado periodicamente com água deionizada, para evitar que a presença de secreções na luz do cateter pudesse obstruí-lo.

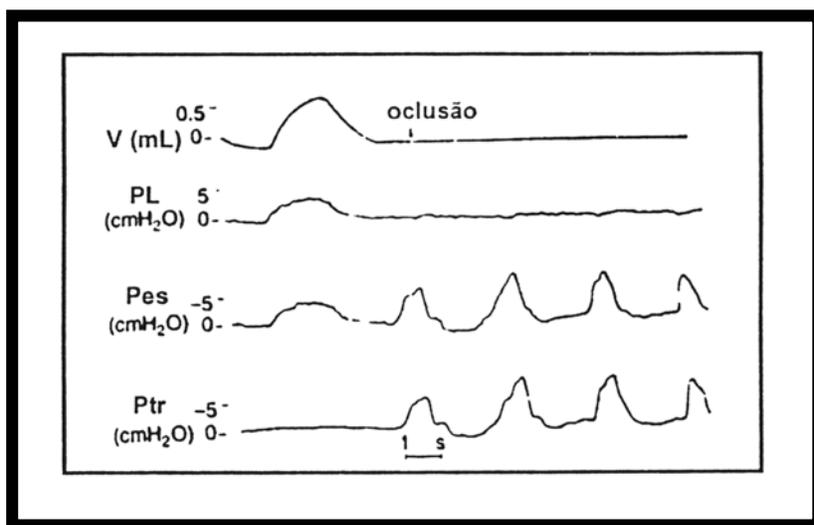


Figura 12. Posicionamento funcional do cateter esofagiano. Traçados de volume (V), pressão transpulmonar (PL), pressão esofagiana (Pes) e pressão traqueal (Ptr) durante o “teste de oclusão”. A variação de Pes não deve ser superior a 5% da Ptr.

A calibração dos transdutores de pressão foi realizada com o auxílio de um tubo em “U” contendo água destilada. A aferição foi realizada antes de cada experimento para assegurar a confiabilidade do registro. O espaço morto da montagem é de 0,2 mL. Para computá-lo, pesa-se o conjunto de equipamentos utilizados entre a via aérea do animal e o ventilador (cânula traqueal, tubo em “T”, pneumotacógrafo e conexões de borracha) vazio e cheio de água. A diferença de peso permitiu saber o volume de água e, portanto, o volume do espaço morto do sistema. Para fechar as saídas do conjunto e enchê-lo de água foi usada massa de modelar, que foi também pesada, junto com os demais equipamentos.

Um cateter de polietileno (PE-10) foi introduzido na artéria femoral para monitorização da pressão arterial média (SCIREQ, Montreal, Canadá) e coleta de sangue. A FiO_2 foi inicialmente ajustada em 1.0, e após cinco minutos, coletava-se o sangue (300 μ l), extraído utilizando-se uma seringa heparinizada para análise da pressão parcial de oxigênio (PaO_2), pressão parcial de dióxido de carbono ($PaCO_2$) e pH (i-STAT, Abbott Laboratories, Illinois, EUA). A FiO_2 foi então reduzida para 0,21 como objetivo de evitar atelectasia por absorção.

Após uma hora de ventilação, a FiO_2 foi reajustada em 1.0 e após cinco minutos, nova gasometria arterial foi coletada. Após essa última coleta, a FiO_2 foi então novamente reduzida para 0,21, e após cinco minutos, os parâmetros ventilatórios e de mecânica do sistema respiratório foram mensurados.

Após o término da determinação da mecânica respiratória, realizou-se laparotomia e injeção de heparina na dose de mil unidades internacionais (UI) por via intravenosa. A traquéia era ocluída ao final da expiração com PEEP=5 cmH_2O em todos os grupos, a fim de homogeneizar a pressurização nas vias aéreas. A aorta abdominal e a veia cava inferior foram seccionadas acarretando hemorragia maciça e morte dos animais. Os pulmões eram removidos *em bloco* e preparados para histologia (óptica e eletrônica), e para medir a expressão de mRNA de fator de necrose tumoral (TNF)- α , interleucina (IL)-6, interferon (IFN)- γ , fator transformador de crescimento (TGF)- β , e procolágeno tipo III (PCIII) no tecido pulmonar.

4.4 Aquisição dos dados

Fluxo aéreo, V_T , pressão de vias aéreas e Pes foram medidas e seus sinais filtrados (100 Hz), amplificados, acondicionados (SC-24, SCIREQ, Montreal, Canadá), convertidos análogo-digitalmente (DT2801A, Data Translation, Marlboro, MA, EUA) e armazenado em um microcomputador. Todos os dados foram coletados utilizando-se o programa LABDAT (RHT-InfoData, Montreal, Canadá) e analisados com o programa ANADAT (RHT-InfoData, Montreal, Canadá).

4.5 Variáveis ventilatórias

A duração das fases inspiratória, expiratória e do ciclo respiratório total foi mensurada através do sinal de fluxo. Utilizando-se essas variáveis, a frequência respiratória (FR) e o volume minuto (V'_E) foram computados. Além dessas, a pressão média de vias aéreas e a pressão inspiratória nos primeiros 100 milissegundos ($P_{0,1}$) foram medidas durante todo o período de aquisição.

4.6 Histologia

4.6.1 Microscopia óptica: fixação e preparo das lâminas

As vias aéreas foram ocluídas ao final da expiração com linha de algodão. O pulmão direito foi congelado através de imersão em nitrogênio líquido, por aproximadamente 3 minutos, e mantidos em solução Carnoy (etanol 60%, clorofórmio 30% e ácido acético 10%, por volume) a -70° C por 24 h. Após este período, o material foi desidratado progressivamente através de imersão em soluções com concentração crescente de etanol como discriminado abaixo:

- MC-1: Etanol 70%, clorofórmio 22,5% e ácido acético 7,5%, a -20° C durante 1 hora;
- MC-2: Etanol 80%, clorofórmio 15% e ácido acético 5%, a -20° C durante uma hora;
- MC-3: Etanol 90%, clorofórmio 7,5% e ácido acético 2,5%, a -20° C durante uma hora;
- Etanol 100%, sendo mantidos a -20° C por uma hora.

Posteriormente, os pulmões foram mantidos a -4° C por vinte e quatro horas. Após a fixação, o material foi embebido em parafina, obtendo-se cortes histológicos com $3\ \mu\text{m}$ de espessura.

As lâminas contendo os cortes pulmonares foram coradas com hematoxilina e eosina (HE).

4.6.2 Microscopia óptica: análise histológica e morfométrica

As lâminas contendo os cortes pulmonares foram analisadas por microscopia óptica (Olympus BX51 Corp; Tóquio, Japão) segundo seus aspectos qualitativos e quantitativos. Para a análise descritiva, toda a superfície da lâmina foi observada com todas as estruturas pulmonares representadas em aumento de 100 e 400x. A análise quantitativa foi realizada através da técnica convencional de contagem de pontos (*point-counting*) utilizando uma ocular acoplada ao microscópio contendo um sistema de referência de 100 pontos e 50 linhas dispostas em paralelo (Figura 13).

Em um aumento de 200x foram avaliados dez campos aleatórios e não coincidentes por lâmina. Foi quantificada a fração de área ocupada por alvéolos normais, colapsados e hiperinsuflados (WEIBEL, 1990).

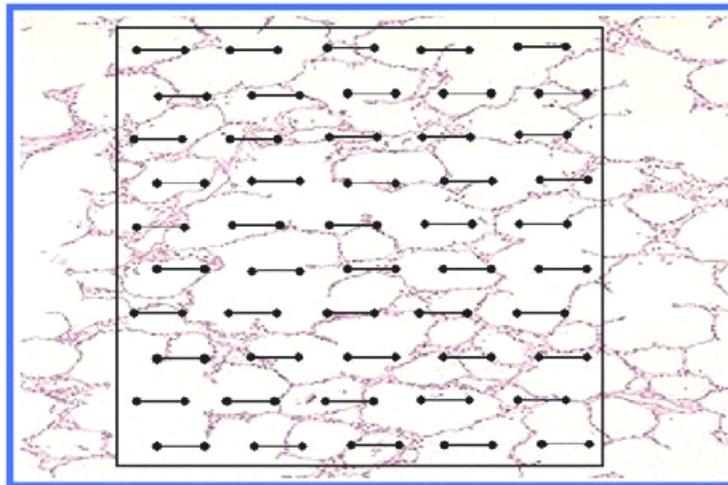


Figura 13 - Representação esquemática do retículo com 100 pontos e 50 linhas utilizado para quantificação dos parâmetros morfológicos.

4.6.3 Microscopia eletrônica de transmissão

Para a análise da microscopia eletrônica, foram retirados dois fragmentos do parênquima pulmonar do pulmão esquerdo (0,2 x 0,2 x 0,2 cm). Os fragmentos foram colocados em glutaraldeído com tampão fosfato preparado a 2%, por duas horas, sendo posteriormente colocados em sacarose. Os espécimes permaneceram em solução de sacarose até o processamento, constituída de 4,5 g de cloreto de sódio (NaCl) e 8,9 g de sacarose diluídos em 500 mL de água destilada. A seguir, os fragmentos foram imersos em solução de tetróxido de ósmio (0,405 a 1% de água, contendo 106 ou 133 mg de sacarose por mL) por duas horas. Após a lavagem em água bidestilada, as preparações foram colocadas na geladeira em solução aquosa 0,5% de acetato de uranila contendo 106 a 133 mg de sacarose, por um tempo médio que varia de duas a vinte e quatro horas. O processo foi continuado, efetuando-se a desidratação em concentrações crescentes de álcool etílico, progredindo gradativamente até álcool absoluto, sendo então passado em óxido de propileno por quinze minutos (duas vezes). Iniciando a fase de embebição, as amostras foram colocadas em misturas de partes iguais de óxido de propileno e resina. Os frascos contendo os fragmentos foram colocados para girar (uma rotação a cada quatro minutos, por uma hora). Posteriormente, as peças foram colocadas por dezesseis horas em resina, com a seguinte composição: 10 mL de araldite (Cy-205), 8 mL de endurecedor DDSA (anidrido de ácido doxecenil succínico), 0,5 mL de acelerador (N-benzil dimetilamina) e 0,1 mL de plastificante (dibutilftaltato). Ao término de dezesseis horas, as amostras foram colocadas em moldes de silicone com nova resina, para polimerização em estufa a 60° C, por cinco dias. Concluída a polimerização, os espécimes foram aparados e cortes semi-finos foram obtidos com o ultramicrótomo Porter Blum MT2. Tais cortes, com 0,5 µm de espessura foram montados em lâminas de vidro e corados com uma mistura de azul de metileno a 1% e azur II, em partes iguais e a quente. Nestes cortes, foram selecionadas áreas representativas das lesões. De cada espécime, dois blocos contendo aproximadamente 10 fragmentos cada um foram submetidos à análise

para seleção dos cortes ultrafinos. Para o estudo ultraestrutural, os cortes ultrafinos com espessura em torno de 90 milimicrômetros foram contrastados pelo acetato de uranila a 2% durante trinta minutos e, finalmente, por citrato de chumbo por dez minutos. A observação dos cortes e as eletromicrografias foram realizadas em microscópio eletrônico (JEOL 1010, Microscópio Eletrônico de Transmissão, Tóquio, Japão). Para cada imagem (15/animal) as seguintes estruturas foram analisadas: a) membrana alvéolo capilar, b) células epiteliais tipo II, e c) células endoteliais. Os achados histológicos foram graduados com base em um escore semiquantitativo de gravidade: 0=parênquima pulmonar normal, 1=alterações de 1-25%, 2= alterações de 26-50%, 3= alterações de 51-75%, e 4= alterações de 76-100% do tecido examinado (PARKER *et al.*, 1997).

4.7 Quantificação da expressão de RNAm para procolágeno tipo III:

Após a coleta dos dados, foi retirada uma tira de tecido pulmonar da periferia do pulmão esquerdo, congelada em nitrogênio líquido, armazenada em “criotubo” no freezer a -70°C até realizar a expressão de procolágeno tipo III (PCIII) pelo método da transcrição reversa e reação em cadeia da polimerase (RT-PCR).

4.7.1 Extração de RNA Total de Tecido Pulmonar:

As amostras de tecido pulmonar foram homogeneizadas em TRIzol® Reagent (Gibco BRL - Life Technologies, Rockville, MD, EUA), permitindo a separação do RNA total. O TRIzol® Reagent é uma solução monofásica de fenol e de guanidina isotilcianato, correspondendo a uma variação do método desenvolvido por Chomczynski & Sacchi em 1987. Após a extração, realizada de acordo com as instruções do fabricante, o RNA total precipitado será diluído em 20 μL de água tratada com dietilpirocarbonato (DEPC). A concentração das amostras de RNA total será determinada por espectrofotometria no comprimento de onda de 260 nanômetros e a pureza das amostras será determinada pela razão entre o comprimento de onda 260 e 280 nanômetros. Somente as amostras com razão maior que 1,7 serão utilizadas. A integridade das amostras foi verificada

através de eletroforese em gel de agarose a 1% contendo 0,5 µg/mL de brometo de etídeo. O gel será submerso em tampão TAE 1X e a eletroforese realizada a 100 Volts por aproximadamente 20 minutos.

4.7.2. RT-PCR em tempo real (*Real-time reverse transcription–polymerase chain reaction*)

Para transcrição reversa, 1000 ng de RNA total foi utilizado com 0,5 µg/µL de oligo-dt (Invitrogen, Carlsbad, CA) e um kit transcriptase reversa (MMLT-V Reverse Transcriptase Kit, Invitrogen, Carlsbad, CA). A reação da transcrição reversa (RT) teve 1000ng de RNA total, 4µL de 5x RT buffer, 2µL de 0,1 M DDT, 1µL de 10mM de deoxinucleotídeos, 1µL de 50U/µL de MMLT-V e água DEPC para um volume final de 20 µl. Este procedimento ocorreu à 37°C por 50 min. A quantidade de cDNA correspondente a 62,5ng de RNA foi selecionada e amplificada com os pares de oligonucleotídeos específicos para cada gene listados abaixo:

GAPDH sense, 5'-GAA GGT GAA GGT CGG AGT- 3', e anti-sense, 5'-GAA GAT GGT GAT GGG ATT TC-3'; BC091141.1;

PCIII sense 5'- ACC TGG ACC ACA AGG ACA C -3', e anti-sense, 5'- TGG ACC CAT TTC ACC TTT C -3'; GenBank: BC087039.1

O PCR em tempo real foi realizado com o SYBR green PCR Master Mix (Biosystem Applied). A mistura do PCR foi pré-aquecida a 50°C por 2 minutos e então a 95°C por 10 minutos para ativar a AmpliTaq Gold DNA polimerase, seguido de 40 ciclos de amplificação (95oC por 15seg; 60oC por 1 min). Ao final a reação foi aquecida a 60°C por 10 minutos. Todas as reações foram seguidas pela curva de dissociação onde o produto foi submetido a 95°C por 1 min e 60°C por 1 min. O produto do PCR foi checado em gel de agarose à 3,5% (Cambrex Bio Science Rockland).

A quantificação relativa foi normalizada para o nível de expressão gênica do gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase (GAPDH). O ABI PRISM® 7500 Sistema de Detecção de Seqüência foi utilizado para detecção em tempo real do PCR, assim como, para análise de dados.

4.8 Ensaio de Proteção contra RNase

O ensaio de proteção contra RNase (RPA) foi utilizado para análise da expressão gênica das citocinas liberadas após os diferentes modos ventilatórios. O RNA total do tecido pulmonar foi extraído a partir do fragmento de cada pulmão dos grupos de animais. Este RNA foi hibridizado com uma sonda antisense contendo LT α , LT β , TNF- α , IL-6, INF γ , INF β , TGF β 1, TGF β 2, TGF β 3, MIF, e o gene GAPDH e L32 (RNA ribossomal) previamente sintetizada em presença de material radioativo. Esta técnica, bastante sensível, permite a detecção de pequenas variações da expressão de RNAm através da síntese de sondas de RNA específicas para os genes em estudo. Os resultados foram normalizados em função do controle interno, GAPDH.

4.9 Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas pelo programa Sigma Stat 3.1 (Jandel Scientific, San Rafael, CA, EUA). A normalidade dos dados (teste de Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors') e a homogeneidade das variâncias foram testadas (teste de Levene). Sendo ambas as condições satisfatórias, os efeitos das diferentes estratégias ventilatórias nos grupos C e LPA foram analisados utilizando-se *One-way* ANOVA seguido do teste de Tukey. Caso contrário, o *One-way* ANOVA *on ranks* seguido pelo teste *post hoc* de *Dunn* foi selecionado. O valor de significância estabelecido foi sempre de 5%. Os dados paramétricos foram expressos em média \pm DP (desvio padrão da média), enquanto que os dados sem distribuição normal foram expressos como mediana (intervalo interquartil).

RESULTADOS

5 Resultados:

A pressão arterial média manteve-se estável entre 70 e 90 mmHg durante todo o período de experimento.

O volume minuto (\dot{V}_E) e o V_T foram mais elevados, enquanto a pressão média da via aérea foi menor durante a ventilação assistida em comparação com a ventilação controlada (PCV) (Tabela 1). Entre os modos de ventilação assistida, o grupo LPA-APCV1:2 resultou em volume minuto mais elevado. As pressões inspiratórias foram similares em todos os modos assistidos ($P_{insp} = 10 \text{ cmH}_2\text{O}$) assim como a pressão média de vias aéreas (Tabela 1). A $P_{0.1}$ foi menor no grupo LPA-Bivent+PSV em comparação aos outros grupos estudados.

Grupos	LPA-PCV	LPA-APCV1:2	LPA-APCV1:1	LPA-Bivent+PSV
V'_E (ml/min)	150±0	262±9#	230±9#†	237±8#†
V_T (ml)	1,5 ± 0,1	2,3 ± 0,7#	2,1 ± 1,1#	2,2 ± 0,5#
CV de V_T - assistida, %	4,1 ± 2,5	31,8 ± 3,9#	53,5 ± 4,2#†	26,9 ± 8,5#‡
FR (ipm)	100 ± 0	114 ± 12	110 ± 8	108 ± 18
PEEP (cmH ₂ O)	5,0 ± 0,2	5,1 ± 0,5	5,0 ± 0,4	5,2 ± 0,2
Pmédia, va (cmH ₂ O)	6,4±0,7	7,6±0,5#	8,0±0,1#	7,9±0,3#
$P_{0.1}$ (cmH ₂ O)	-	3,6 ± 0,8	3,7±1,3	2,6 ± 0,7†‡

Tabela 1. Parâmetros ventilatórios. V'_E : volume minuto, V_T : volume corrente, CV: coeficiente de variação, FR: frequência respiratória, PEEP: pressão positiva ao final da expiração, Pmédia,va: pressão média em via aérea, $P_{0.1}$: pressão nos primeiros 100 ms da fase inspiratória. Valores correspondem a média (±DP) de seis ratos por grupo. #Significativamente diferente do grupo LPA-PCV ($p<0.05$). †Significativamente diferente do grupo LPA-APCV1:2 ($p<0.05$). ‡Significativamente diferente do grupo LPA-APCV1:1 ($p<0.05$).

Os grupos LPA apresentaram menor oxigenação que o grupo C (Tabela 2). Após uma hora de ventilação, o grupo LPA-APCV:1:1 e LPA-Bivent apresentaram PaO₂ similares, mas mais elevada que o grupo LPA-APCV1:2. Todos os grupos ventilados de forma assistida mostraram melhor oxigenação, menor PaCO₂ e maior pH quando comparados aos grupos LPA-NV e LPA-PCV (tabela 2).

Grupos		C	LPA				
Estratégia Ventilatória		NV	NV	PCV	APCV1:2	APCV1:1	BiVent+PSV
PaO ₂ (mmHg)	Basal	565±11	302±18*	296±21*	307±36*	295±52*	288±24*
	Final	547±29	282±12*	262±8*	319±15*§#	342±14* §#†	358±9*§#†
PaCO ₂ (mmHg)	Basal	38±1	41±4	40±4	39±5	39±2	39±4
	Final	37±4	49±3*	46±3*	37±4§#	35±3§#	34±5§#
pH	Basal	7,36±0,02	7,33±0,03	7,33±0,04	7,36±0,02	7,34±0,02	7,34±0,02
	Final	7,36±0,04	7,25±0,04*	7,27±0,04*	7,37±0,02§#	7,39±0,04§#	7,42±0,02§#

Tabela 2. Pressão parcial arterial de oxigênio (PaO₂, mmHg), pressão parcial arterial de dióxido de carbono (PaCO₂, mmHg) e pH imediatamente antes (Basal) e uma hora após ventilação mecânica (Final) no grupo controle (C) e Lesão pulmonar aguda (LPA). NV: ratos respirando espontaneamente, PCV: modo pressão controlada, A-PCV1:2 e A-PCV1:1: ventilação pressão assisto-controlada com relação I:E=1:2 e I:E=1:1, respectivamente, BiVent+PSV: pressão positiva bifásica em via aérea associada a ventilação por suporte pressórico. Valores em média (±DP) de seis ratos por grupo. *Significativamente diferente de C-NV (p<0.05). §Significativamente diferente de LPA-NV (p<0.05). #Significativamente diferente de LPA-PCV (p<0.05). †Significativamente diferente de LPA-APCV1:2 (p<0.05).

Os grupos com LPA demonstraram maior fração de área de colapso alveolar do que o grupo C. Os animais sob ventilação assistida demonstraram redução do colapso alveolar quando comparado àqueles ventilados com PCV.

Entretanto, no grupo LPA-APCV1:1 evidenciou-se maior fração da área de hiperinsuflação (Tabela 3 e Figura 14).

Grupos	C	LPA				
	NV	NV	PCV	APCV1:2	APCV1:1	BiVent+PSV
Normal (%)	92,4±3,0	41,3±8,1*	36,7±11,0*	70,4±5,5*§#	46,7±11,0*†	77,1±3,1*§#‡
Colapso (%)	7,6±2,9	58,7±8,0*	64,3±10,8*	22,3±9,4*§#	23,7±9,2*§#	20,2±3,0*§#
Hiperinsuflado (%)	0	0	0	7,3±5,6	30,6±14,4*§#†	2,7±2,2‡

Tabela 3. Morfometria pulmonar. A fração de área de alvéolos normais, colapsados, e hiperinsuflados nos grupos Controle (C) e Lesão Pulmonar Aguda (LPA). Todos os valores foram computados em dez campos randomizados e não coincidentes por rato. NV: ventilação espontânea, PCV: modo pressão controlada, A-PCV1:2 e A-PCV1:1: ventilação pressão assisto-controlada com relação I:E=1:2 e I:E=1:1, respectivamente, BiVent+PSV: pressão positiva bifásica em via aérea associada a ventilação por suporte pressórico. Valores em média (± DP) de seis animais por grupo. *Significativamente diferente de C-NV (p<0.05). §Significativamente diferente de LPA-NV (p<0.05). #Significativamente diferente de LPA-PCV (p<0.05). †Significativamente diferente de LPA-APCV1:2 (p<0.05). ‡Significativamente diferente de LPA-APCV1:1 (p<0.05).

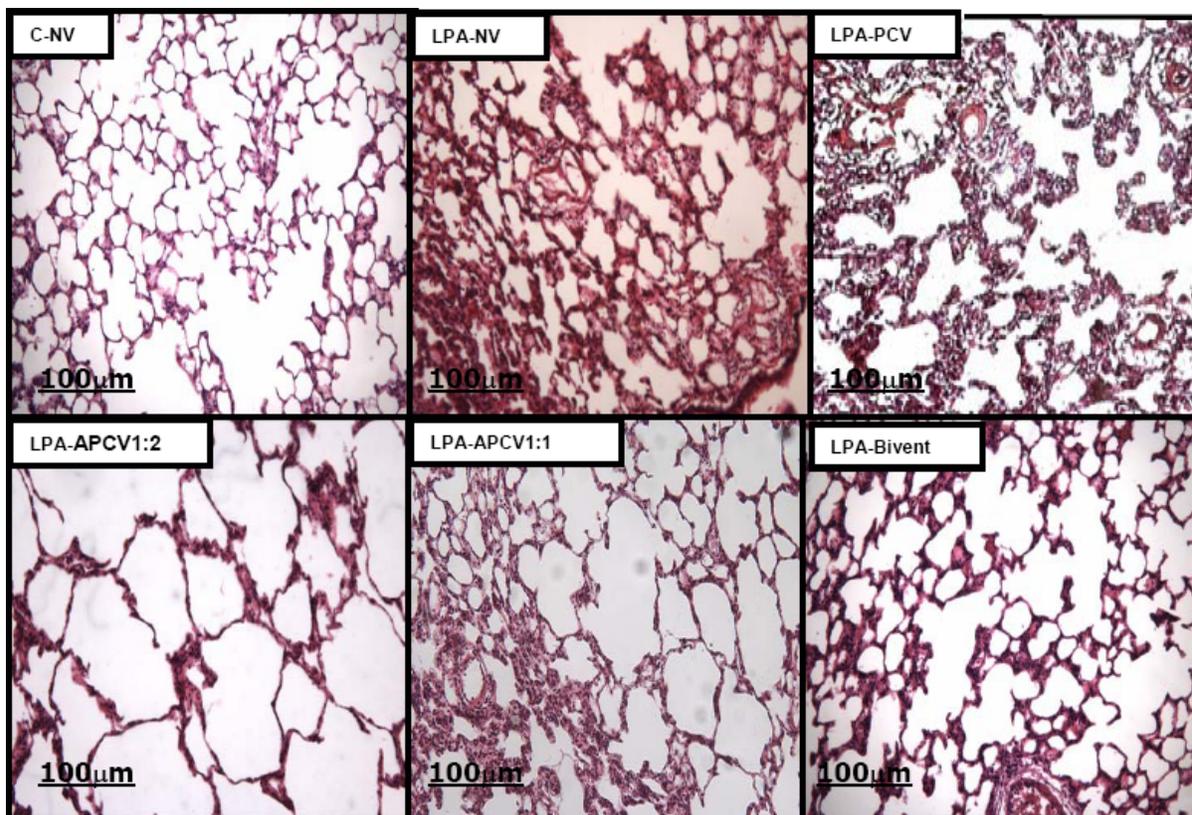


Figura 14. Fotomicrografia representativa do parênquima pulmonar dos grupos controle (C) e Lesão Pulmonar Aguda (LPA). NV: ventilação espontânea, PCV: modo pressão controlada, A-PCV1:2 e A-PCV1:1: ventilação pressão assisto-controlada com relação I:E=1:2 e I:E=1:1, respectivamente, BiVent+PSV: pressão positiva bifásica em via aérea associada a ventilação por suporte pressórico. Note que no grupo C o parênquima encontra-se com aspecto normal, no grupo LPA-NV há significativa área de colapso alveolar, no grupo LPA-PCV há edema e colapso alveolar, no grupo LPA-APCV1:2 observa-se hiperinsuflação, no grupo LPA-APCV1:1 há colapso e hiperinsuflação, no grupo LPA-Bivent+PSV observa-se edema e área de parênquima normalmente aerado. Achados compatíveis com a análise morfométrica descrita na tabela 3.

Na análise por microscopia eletrônica de transmissão, todos os animais do grupo LPA apresentaram edema intersticial e lesão de organelas citoplasmáticas do pneumócito tipo II (PII), com corpos lamelares aberrantes e lesão endotelial (Tabela 4 e Figura 15). Entretanto, no grupo Bivent+PSV, a lesão alvéolo-capilar foi menos pronunciada e sem evidência de desacoplamento do epitélio alveolar ou denudação da membrana basal epitelial (Figura 15).

Grupos	C	LPA				
Estratégia Ventilatória	NV	NV	PCV	APCV1:2	APCV1:1	BiVent+PSV
Membrana Alveolo-Capilar	0 (0-0)	3* (2-3,25)	4* (3-4)	3* (3-4)	3* (3-3,25)	2*#† (1,75-2,25)
Célula Epitelial Tipo II	0 (0-0)	2* (2-2,25)	3* (2-3)	2* (2-2,25)	3* (2,75-4)	3* (2-3)
Célula Endotelial	0 (0-0)	3* (2-3,25)	3* (2-3,25)	3* (2,75-3,25)	3* (3-3,25)	3* (2,75-3,25)

Tabela 4. Análise semiquantitativa da microscopia eletrônica. A avaliação do tecido pulmonar foi realizada independentemente por dois investigadores diferentes. Os achados patológicos foram graduados de acordo com o sistema de pontuação de cinco pontos semiquantitativa: 0=parênquima pulmonar normal, 1=alterações em 1 a 25%, 2= 26 a 50%, 3= 51 a 75%, e 4= 76 a 100% do tecido pulmonar examinado. Microscopia eletrônica do parênquima pulmonar do grupos Controle (C) e Lesão Pulmonar Aguda (LPA). Valores em mediana (percentil-25 e percentil-75) de quatro a cinco ratos por grupo. *Significativamente diferente de C-NV ($p<0.05$). #Significativamente diferente de LPA-PCV ($p<0.05$). †Significativamente diferente de LPA-APCV1:2 ($p<0.05$).

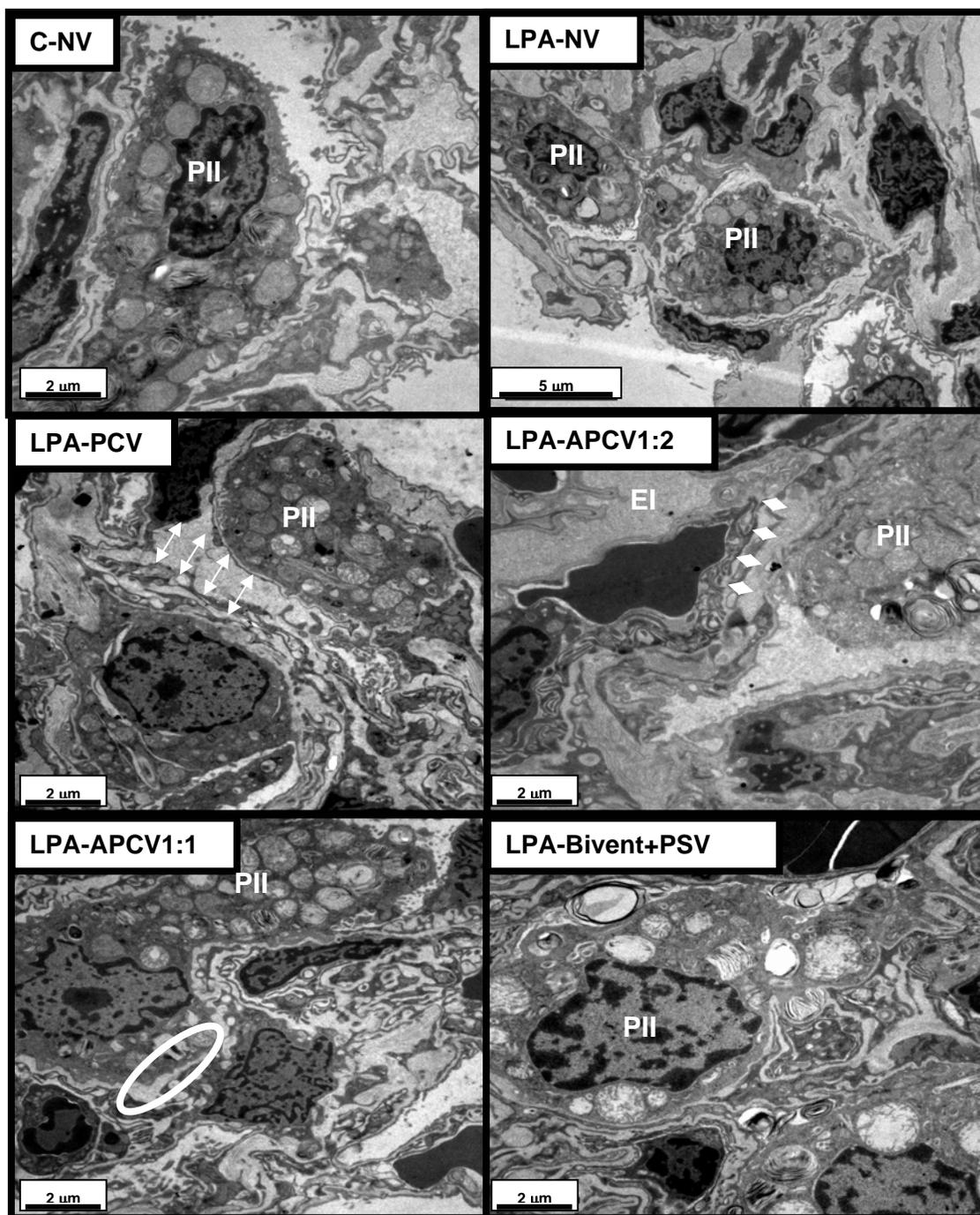


Figura 15. Fotomicrografia eletrônica do parênquima pulmonar nos grupos controle (C) e Lesão Pulmonar Aguda (LPA). NV: ventilação espontânea, PCV: modo pressão controlada, A-PCV1:2 e A-PCV1:1: ventilação pressão assisto-controlada com relação I:E=1:2 e I:E=1:1, respectivamente, BiVent+PSV: pressão positiva bifásica em via aérea associada a ventilação por suporte pressórico. Note que há degeneração citoplasmática da célula epitelial tipo II (PII) com corpos lamelares aberrantes assim como lesão da membrana alvéolo-capilar nos grupos LPA (setas). A elipse indica que o desacoplamento da membrana alvéolo-capilar está reduzida em LPA-PCV1:1. No grupo Bivent+PSV, a lesão da membrana alvéolo-capilar é menos evidente. El: edema intersticial. Fotomicrografias representativas de cinco animais.

LT- α , LT- β , INF- β , TGF- β 2, TGF- β 3, e MIF RNAm não foram expressos em nenhum grupo estudado. Todas as citocinas apresentaram maior expressão no grupo LPA do que C. A expressão de TNF- α , IL-6, INF- γ (Figura 16), e PCIII (Figura 17) foi menor nos grupos sob ventilação assistida. A expressão de IL-6, INF- γ , TGF- β 1 e PCIII foi menor no grupo LPA-Bivent+PSV. Comparando-se todos os grupos sob ventilação assistida, a expressão de PCIII foi maior no grupo LPA-APCV1:1 (Figura 17).

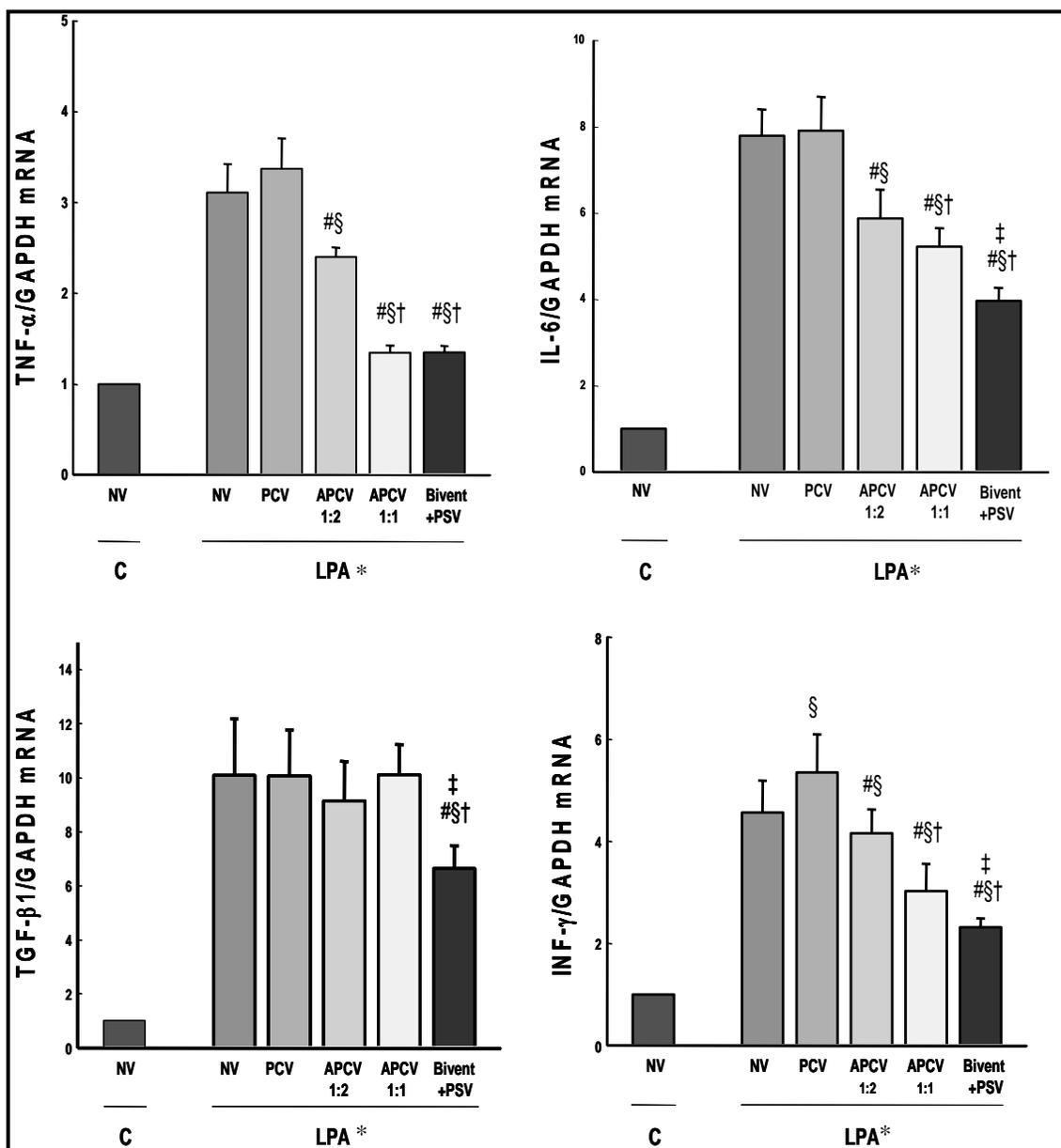


Figura 16. Expressão de citocinas no tecido pulmonar nos grupos Controle (C) em ventilação espontânea e Lesão Pulmonar Aguda (LPA). Os dados foram normalizados pelo GAPDH. NV: ventilação espontânea, PCV: modo pressão controlada, A-PCV1:2 e A-PCV1:1: ventilação pressão assisto-controlada com relação I:E=1:2 e I:E=1:1, respectivamente, Bivent+PSV: pressão positiva bifásica em via aérea associada a ventilação por suporte pressórico. Valores correspondem a média (\pm DP) de quatro animais por grupo. § Significativamente diferente de LPA-NV ($p < 0.05$). # Significativamente diferente de LPA-PCV ($p < 0.05$). † Significativamente diferente de LPA-APCV1:2 ($p < 0.05$). ‡ Significativamente diferente de LPA-APCV1:1 ($p < 0.05$). Todos os resultados do grupo LPA foram significativamente diferentes do grupo C-NV ($p < 0.05$).

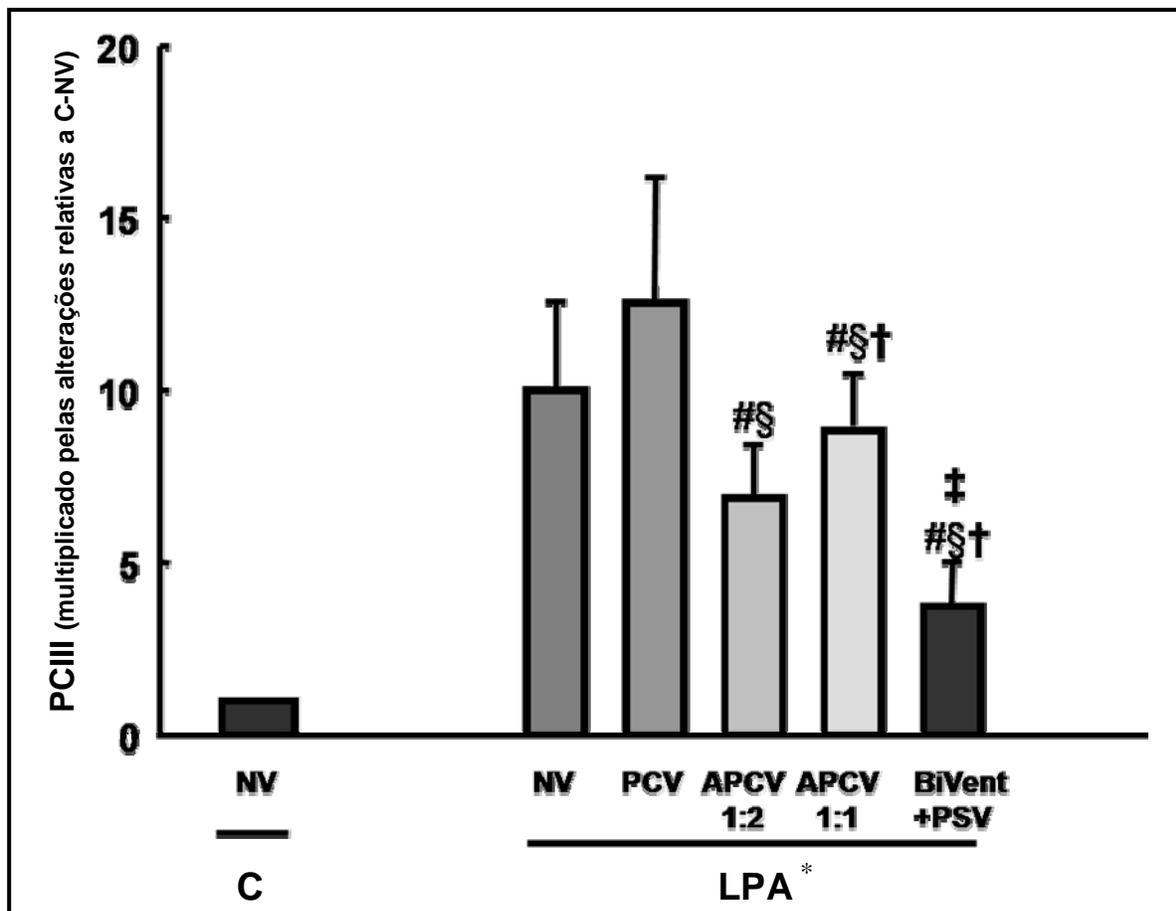


Figura 17. Expressão de procolágeno tipo III (PCIII) por *Real time polymerase chain reaction* (RT-PCR) nos grupos Controle (C) e Lesão Pulmonar Aguda (LPA). NV: ventilação espontânea, PCV: modo pressão controlada, A-PCV1:2 e A-PCV1:1: ventilação pressão assisto-controlada com relação I:E=1:2 e I:E=1:1, respectivamente, BiVent+PSV: pressão positiva bifásica em via aérea associada a ventilação por suporte pressórico. Valores em média (\pm DP) de quatro animais por grupo. § Significativamente diferente de LPA-NV ($p < 0.05$). # Significativamente diferente de LPA-PCV ($p < 0.05$). † Significativamente diferente de LPA-APCV1:2 ($p < 0.05$). ‡ Significativamente diferente de LPA-APCV1:1 ($p < 0.05$). Todos os resultados do grupo LPA foram significativamente diferentes do grupo C-NV ($p < 0.05$).

DISCUSSÃO

6 Discussão

No presente estudo, em modelo experimental de LPA, constatou-se que os modos ventilatórios assistidos empregados, resultaram em melhora da troca gasosa, redução da fração de área de colapso alveolar assim como a expressão de mediadores inflamatórios e fibrogênicos no tecido pulmonar comparativamente ao modo PCV. Além disso, o modo Bivent+PSV resultou em menor esforço inspiratório, lesão da membrana alvéolo-capilar e expressão de mediadores inflamatórios e fibrogênicos no tecido pulmonar comparando-se ao modo A-PCV independentemente da relação I:E (1:2 ou 1:1).

A lesão pulmonar aguda foi induzida por paraquat, um herbicida que acumula predominantemente no pulmão e induz lesão epitelial através de sua ação nos pneumócitos tipo II. Esse modelo leva a uma lesão pulmonar bastante reprodutível caracterizada por colapso alveolar, edema intersticial, e membrana hialina, mas sem edema alveolar (STEIMBACH *et al.*, 2009), e apresenta uma fração de área de colapso alveolar semelhante àquela observada na LPA/SDRA em humanos. No presente estudo, o grupo de animais ventilado de forma controlada, teve seu V_T ajustado em 6 ml/Kg conforme as atuais recomendações para proteção pulmonar durante a ventilação mecânica (SEM AUTOR, 2000). O nível da PEEP foi ajustado em 5 cmH₂O baseando-se em observações prévias em modelo de LPA em ratos que mostraram que níveis mais elevados levaram a deterioração da troca gasosa e da mecânica respiratória (FARIAS *et al.*, 2005; STEIMBACH *et al.*, 2009; PÁSSARO *et al.*, 2009). A mesma *driving pressure*, ou seja, a diferença entre a pressão de platô e PEEP, foi utilizada tanto no grupo ventilado de forma controlada quanto nos grupos sob ventilação assistida, sugerindo que as diferenças morfofuncionais e moleculares estivessem provavelmente relacionadas ao tipo de ventilação, e permitiu uma direta comparação entre as diferentes técnicas ventilatórias.

A gasometria arterial foi realizada com $FiO_2 = 1,0$ para evitar possíveis efeitos confundidores de alteração da relação ventilação-perfusão na interpretação dos dados de troca gasosa (KULKARNI *et al.*, 2007). Entretanto, esse estudo foi

conduzido com $FiO_2 = 0,21$ com o objetivo de se evitar possíveis efeitos iatrogênicos induzidos pela alta concentração de oxigênio no parênquima pulmonar (DOS SANTOS *et al.*, 2006; KULKARNI *et al.*, 2007;). A pressão média das vias aéreas foi menor durante a ventilação em PCV comparada às outras formas de ventilação assistida, as quais não apresentaram diferença significativa entre A-PCV1:2, A-PCV1:1 e Bivent+PSV. A relação I:E utilizada durante o modo PCV foi de 1:2, que foi comparável àquela usada em A-PCV1:2, apesar da relação I:E poder aumentar durante A-PCV, pois a incursão inspiratória pode começar antes do tempo expiratório ajustado (HENZLER *et al.*, 2006). A histologia pulmonar foi avaliada em comparáveis níveis de pressão de vias aéreas, assim, as alterações morfométricas refletem apenas os efeitos dos diferentes modos ventilatórios. Até o momento, não há estudo clínico ou experimental prospectivo randomizado e controlado que tenha comparado os efeitos de diferentes modos ventilatórios assistidos com ventilação mecânica controlada apresentando mesma *driving pressure* em relação à mecânica pulmonar e histologia, assim como a respostas inflamatórias e fibrogênicas. Além disso, nenhum estudo avaliou o impacto de diferentes relações I:E durante A-PCV e Bivent+PSV na lesão pulmonar. De fato, estudos prévios compararam ventilação mecânica assistida e controlada focando alterações na musculatura respiratória e prevenção de atrofia muscular (SASSOON *et al.*, 2004; LEVINE *et al.*, 2008; SHANELEY *et al.*, 2004; FUTIER *et al.*, 2008).

Ventilação mecânica assistida esteve associada a melhor aeração, menos atelectasia e maior V_T quando comparada a ventilação com o modo PCV, o que resultou em aumento do volume minuto, melhora da oxigenação e redução da $PaCO_2$. O principal determinante do recrutamento alveolar é a pressão transpulmonar alcançada ao término da fase inspiratória e expiratória (PELOSI *et al.*, 2001). Durante a ventilação mecânica controlada, a pressão inspiratória reflete a pressão transpulmonar, entretanto, durante a ventilação assistida, as pressões de vias aéreas podem não refletir a pressão transpulmonar real, pois a mesma pode ser afetada pela redução da pressão pleural gerada pela ativação da

musculatura respiratória durante a fase inspiratória. Uma vez observado que a ventilação assistida resultou em V_T maior, e as pressões tanto inspiratórias quanto expiratórias foram comparáveis às aquelas em modo PCV, pode-se concluir que a pressão negativa pleural gerada pelos esforços inspiratórios dos animais pode recrutar de forma mais eficaz as unidades pulmonares atelectasiadas, conforme já evidenciado em estudos experimentais prévios (WRIGGE *et al.*, 2003; WRIGGE *et al.*, 2005). Em um estudo clínico, Putensen e colaboradores descreveram que a oxigenação e a fração de *shunt* não diferiu entre o modo PSV e o modo de ventilação controlada (PUTENSEN *et al.*, 2001). Durante o modo PSV, pode ocorrer derecrutamento progressivo devido ao aumento da relação I:E e redução da pressão média das vias aéreas (DEBINSKI *et al.*, 2002), o que limita os efeitos positivos no recrutamento alveolar determinado pelo esforço inspiratório. Os resultados do presente estudo sugerem que o modo Bivent+PSV, por se tratar de um modo ventilatório ciclado a tempo com gatilho inspiratório e expiratório, pode ser eficiente em evitar o derecrutamento alveolar observado durante toda a utilização de modos ventilatórios ciclados a fluxo como o CPAP+PSV, minimizando assim diferenças entre os diversos modos ventilatórios assistidos.

No presente estudo, a $P_{0.1}$ foi medida como um indicador do grau de esforço inspiratório (ALBERTI *et al.*, 1995) e foi menor em Bivent+PSV quando comparada a A-PCV apesar dos níveis de anestesia serem similares, sugerindo menor esforço inspiratório, melhor adaptação ao ventilador e redução na pressão transpulmonar inspiratória. Nesse contexto, Sasson e cols. mostraram que a ativação parcial da musculatura respiratória pode reduzir a disfunção muscular associada a ventilação mecânica (SASSOON *et al.*, 2004). Henzler e colaboradores observaram que o modo A-PCV1:1 resultou em menor esforço respiratório quando comparado ao modo BIPAP (variação do modo APRV em ventiladores da marca Dräger onde a diferença é a impossibilidade de se utilizar PSV associado durante P.alta) com respiração espontânea em modelo de LPA por depleção de surfactante em porcos (HENZLER *et al.*, 2006). Por outro lado, no presente estudo, como o modo Bivent foi associado ao PSV, as respirações

espontâneas foram parcialmente suportadas, e dessa maneira, houve redução do esforço inspiratório. Portanto, modos de ventilação assistida ajustados com parâmetros semelhantes, podem afetar o *drive* respiratório diferentemente.

A hiperinsuflação pulmonar foi mais significativa durante os modos de ventilação assistida, principalmente no grupo A-PCV1:1, o que sugere que a relação I:E tem significativa importância em um parênquima não homogêneo com constante de tempo diferente. O aumento da hiperinsuflação durante a ventilação assistida pode ser explicada pela maior pressão transpulmonar alcançada durante a inspiração na presença de esforço respiratório ativo. Entretanto, o presente estudo também sugeriu que modalidades de ventilação assistida que favorecem menor relação I:E podem gerar menos hiperinsuflação. Interessantemente, Bivent+PSV esteve associado a hiperinsuflação menos significativa quando comparado a A-PCV1:1, o que pode ser devido a redução da atividade do *drive* respiratório, e melhor interação animal-ventilador, com consequente redução na pressão transpulmonar inspiratória.

A presença de vários mediadores inflamatórios e fibrogênicos no tecido pulmonar foram analisadas, mas foram mensuráveis apenas as expressões de RNAm para IL-6, TNF- α , TGF- β 1 e IFN- γ (FANELLI *et al.*, 2009). Além disso, a expressão de RNAm PCIII no tecido pulmonar foi avaliada, já que é o primeiro colágeno a ser remodelado na evolução da fibrogênese pulmonar (LEITE-JUNIOR *et al.*, 2008) e tem sido usado como marcador precoce de remodelamento do parênquima pulmonar (GARCIA *et al.*, 2008).

Apesar do V_T ter sido maior durante a ventilação assistida, as expressões de RNAm IL-6, TNF- α , TGF- β 1 e IFN- γ foram menores do que no grupo PCV. O grupo A-PCV1:1 apresentou hiperinsuflação pulmonar resultando em elevação da expressão de PCIII quando comparado aos grupos A-PCV1:2 e Bivent+PSV. As expressões de IL-6 e TNF- α foram menores no grupo A-PCV1:1 quando comparado ao grupo A-PCV1:2. Esses resultados são corroborados com estudos prévios que mostraram associação entre hiperinsuflação pulmonar e elevada

expressão de PCIII (STEIMBACH *et al.*, 2009; PÁSSARO *et al.*, 2009; GARCIA *et al.*, 2008).

Diferentes fatores podem ter promovido redução da lesão pulmonar durante a ventilação assistida, tais como: a) recrutamento de regiões pulmonares dependentes atelectasiadas reduzindo abertura e fechamento cíclicos das unidades alveolares, diminuindo o estresse de cisalhamento (*shear stress*) (DOS SANTOS & SLUTSKY, 2006; WRIGGE *et al.*, 2005); b) distribuição mais homogênea das pressões transpulmonares regionais (D'ANGELO, 1984); c) variabilidade do padrão respiratório (SPIETH *et al.*, 2009); d) redistribuição da perfusão pulmonar para áreas não-atelectasiadas e sem lesão (99); e e) melhora da drenagem linfática (MORIONDO *et al.*, 2005). Entre os modos assistidos, as expressões de IL-6, IFN- γ , TGF- β 1 e PCIII foram menores no grupo Bivent+PSV associado a reduzida $P_{0.1}$, o que sugere que a ventilação assistida com maior esforço inspiratório pode aumentar o risco de LPAVM. Portanto, a $P_{0.1}$ poderia ser utilizada para ajuste adequado da ventilação assistida alcançando recrutamento ideal com mínimo estresse e *strain* sob o parênquima pulmonar.

LIMITAÇÕES

7 Limitações

O presente estudo apresenta várias limitações: 1) foi utilizado um modelo de lesão pulmonar específico induzido por paraquat, assim, não se pode estender os dados a outros modelos de LPA mais graves; 2) o período de estudo foi curto (uma hora), por isso, os resultados não podem ser diretamente relacionados a períodos maiores de ventilação. Esses dados experimentais devem ser confirmados em animais de maior porte, com maior duração de ventilação mecânica, e em estudos clínicos, a fim de melhor entender as consequências potencialmente relevantes em pacientes em estado grave; 3) os resultados não podem ser generalizados para outros tipos de modos ventilatórios assistidos e elevados níveis de suporte inspiratório; 4) foi observado maior variabilidade no volume corrente no grupo A-PCV1:1 o que sugere pior interação animal-ventilador. Apesar do *drive* respiratório e parâmetros funcionais não terem sido diferentes quando comparado ao grupo A-PCV1:2, a LPAVM foi menos pronunciada no grupo A-PCV1:1 que no grupo A-PCV1:2; 5) o esforço respiratório foi estimado mensurando-se o *drive* respiratório, pois a pressão transpulmonar direta não foi avaliada. Nesse contexto, vários estudos mostraram que a medida do $P_{0.1}$ apresenta-se bem correlacionada com o esforço inspiratório (ALBERTI *et al.*, 1995; PELOSI *et al.*, 2001); e 6) não foram mensurados mediadores inflamatórios no sangue ou analisou-se lesão em órgãos a distância.

CONCLUSÕES

8 Conclusões

A quantificação dos parâmetros ventilatórios foi caracterizada por maiores V_E e V_T assim como menor $P_{média}$, va durante a ventilação assistida em comparação com a ventilação controlada (modo PCV). As pressões inspiratórias e a $P_{média}$, va foram similares nos modos assistidos. A $P_{0.1}$ foi menor no grupo LPA-Bivent+PSV em comparação aos outros grupos.

Quanto aos parâmetros gasométricos, os grupos LPA apresentaram menor oxigenação que o grupo C. Após uma hora de ventilação, o grupo LPA-APCV:1:1 e LPA-Bivent apresentaram PaO_2 similares, mas mais elevada que o grupo LPA-APCV1:2. Todos os grupos ventilados de forma assistida mostraram melhor oxigenação, menor $PaCO_2$ e maior pH quando comparados aos grupos LPA-NV e LPA-PCV.

A microscopia óptica através da análise morfométrica do grupo LPA demonstrou maior fração de área de colapso alveolar que o grupo C. Os animais sob ventilação assistida demonstraram redução do colapso alveolar quando comparado àqueles ventilados com o modo PCV. Entretanto, no grupo LPA-APCV1:1 evidenciou-se maior fração da área de hiperinsuflação.

Na análise por microscopia eletrônica de transmissão, todos os animais do grupo LPA apresentaram edema intersticial e lesão de organelas citoplasmáticas do pneumócito tipo II (PII), com corpos lamelares aberrantes e lesão endotelial. Entretanto, no grupo Bivent+PSV, a lesão alvéolo-capilar foi menos pronunciada e sem evidência de desacoplamento do epitélio alveolar ou denudação da membrana basal epitelial.

A quantificação da expressão de RNAm para citocinas como $LT-\alpha$, $LT-\beta$, $INF-\beta$, $TGF-\beta_2$, $TGF-\beta_3$, e MIF não foram expressos em nenhum grupo estudado. Todas as citocinas apresentaram maior expressão no grupo LPA do que C. A expressão de $TNF-\alpha$, IL-6, $INF-\gamma$ e PCIII foi menor nos grupos sob ventilação assistida. A expressão de IL-6, $INF-\gamma$, $TGF-\beta_1$ e PCIII foi menor no grupo LPA-

Bivent+PSV. Comparando-se todos os grupos sob ventilação assistida, a expressão de PCIII foi maior no grupo LPA-APCV1:1.

Portanto, no presente modelo de lesão pulmonar aguda, os modos ventilatórios assistidos empregados apresentaram efeitos benéficos na função respiratória e na redução da lesão pulmonar em comparação ao modo PCV. Entre os diferentes modos ventilatórios assistidos, o modo Bivent+PSV apresentou melhor oxigenação, menor esforço inspiratório, e menor lesão pulmonar.

Referências Bibliográficas

ALBERTI A, et al. *P0.1 is a useful parameter in setting the level of pressure support ventilation. Intensive Care Med.* 1995; 21: 547-553.

AMATO MBP, et al. *Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. N. Engl. J. Med.* 1998; 338: 347-354.

SEM AUTOR. *American Thoracic Society, European Society of Intensive Care Medicine and the Société de Réanimation de Langue Française. Internatinal consensus conferences in intensive care medicine: Ventilator-associated lung injury in ARDS. Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999; 160: 2118-2124.

ARTIGAS A, et al. *The American-European Consensus Conference on ARDS, Part 2. Ventilatory, pharmacologic, supportive therapy, study design strategies and issues related to recovery and remodeling. Intensive Care Med.* 1998; 24: 378-398.

ASHBAUGH DG, et al. *Acute respiratory distress in adults. Lancet* 1967; 2: 319-323.

BACHOFEN H, et al. *Alveolar surface forces and lung architecture. Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 2001; 129 (1): 183-193.

BARBAS CSV, et al. *Mechanical ventilation in acute respiratory failure: recruitment and high positive end-expiratory pressure are necessary. Curr. Op. Crit. Care* 2005; 11: 18-28.

BAYDUR A. *A simple method for assessing the validity of esophageal ballon technique. Am. Rev. Respir. Dis.* 1982; 126:788-791.

BERNARD GR, et al. *The American-European consensus conference on ARDS: definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994; 149: 818-824.

BREEN EC, et al. *Mechanical strain increases type I collagen expression in pulmonary fibroblasts in vitro. J. Appl. Physiol.* 2000; 88: 203-209.

BROCCARD AF, et al. *Effects of mean airway pressure and tidal excursion on lung injury induced by mechanical ventilation in an isolated perfused rabbit lung model. Crit. Care Med.* 1999; 27: 1533-1541.

BROCHARD L, et al. *Reversal of acute exacerbations of chronic obstructive lung disease by inspiratory assistance with a face mask. N. Engl. J. Med.* 1990; 323: 1523-1530.

BROCHARD L, et al. *Inspiratory pressure support compensates for the additional work of breathing caused by endotracheal tube. Anesthesiology* 1991; 75: 739-745.

D'ANGELO E. *Factors affecting the distribution of transpulmonary pressure in animals and in man. Bull. Eur. Physiopathol. Respir.* 1984 20: 415-422.

D'ANGELO E, et al. *Dependence of lung injury on inflation rate during low-volume ventilation in normal open-chest rabbits. J. Appl. Physiol.* 2004; 97: 260-268.

DEMBINSKI R. *Pressure support compared with controlled mechanical ventilation in experimental lung injury. Anesth. Analg.* 2002; 94: 1570-1576.

DENNEY MK, GLASS WW. *Experimental studies in barotrauma. J. Trauma* 1964; 27: 791-796.

DOS SANTOS CC, SLUTSKY AS. *Invited review: mechanisms of ventilator induced lung injury: a perspective. J. Appl. Physiol.* 2000; 89: 1645-1655.

DOS SANTOS CC, SLUTSKY AS. *The contribution of biophysical lung injury to the development of biotrauma. Annu. Rev. Physiol.* 2006; 68: 585-618.

DREYFUSS D, et al. *High inflation pressure pulmonary edema: respective effects of high airway pressure, high tidal volume and positive end-expiratory pressure. Am. Rev. Respir. Dis.* 1988; 137: 1159 -1164.

DREYFUSS D, SAUMON G. *Ventilator-induced lung injury: Lessons from experimental studies. Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998; 157: 294-323.

ESTEBÁN A, et al. *How mechanical ventilation is employed in the intensive care unit ? Am. J. Respir. Crit. Care Med* 2000; 161: 1450-1458.

ESTEBÁN A, et al. *Prospective randomized trial comparing pressure-controlled ventilation and volume-controlled ventilation in ARDS. Chest* 2000; 117: 1690-1696.

ESTENSSORO E, et al. *Incidence, clinical course, and outcome in 217 patients with acute respiratory distress syndrome. Crit. Care Med.* 2002; 30: 2450-2456.

FANELLI V, et al. *Pulmonary atelectasis during low stretch ventilation: open lung versus "rest lung" strategy. Crit. Care Med.* 2009; 37: 1046-1053.

FARIAS LL. *Positive end-expiratory pressure prevents lung mechanical stress caused by recruitment/derecruitment. J. Appl. Physiol.* 2005; 98: 53-61.

FRAWLEY MP, et al. *Airway pressure release ventilation: theory and practice. A.A.C.N. Clinical Issues* 2001; 12: 234-246.

FROESE AB, et al. *Effects of anesthesia and paralysis on diaphragmatic mechanics in man. Anesthesiology* 1974; 41: 242-255.

FRUTOS-VIVAR F, et al. *Epidemiology os acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. Curr. Op. Crit .Care* 2004; 10: 1-6.

FUJITA Y, et al. *Effect of pweak inspiratory flow on gas axchange, pulmonary mechanics, and lung histology in rabbits with injured lungs. J. Anesth.* 2006; 20: 96-101.

FUTIER E, et al. *Pressure support ventilation attenuates ventilator-induced protein modifications in the diaphragm. Crit. Care* 2008; 12: R116.

GAMA DE ABREU M, et al. *Noisy pressure support ventilation: a pilot study on a new assisted ventilation mode in experimental lung injury. Crit. Care Med.* 2008; 36: 818-827.

GARCIA CS, et al. *Pulmonary morphofunctional effects of mechanical ventilation with high inspiratory air flow. Crit. Care Med.* 2008; 36: 232-239.

GATTINONI L, et al. *Regional effects and mechanism of positive end expiratory pressure in early adult respiratory distress syndrome. JAMA* 1993; 269: 2122 – 2127.

GATTINONI L, et al. *Effects of positive end expiratory pressure on regional distribution of tidal volume and recruitment in adult respiratory distress syndrome. Am. J. Respir. Crit. Care Med* 1995; 151: 1807-1814.

GATTINONI L, et al. *Pressure-volume curves of total respiratory system in acute respiratory failure. Computed tomographic scan study. Am. Rev. Respir. Dis.* 1987; 136: 730-736.

GATTINONI L, et al. *What has computed tomography tought us about the acute respiratory distress syndrome ? Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 164: 1701-1711.

HABASHI MN. *Other approaches to open-lung ventilation: airway pressure release ventilation. Crit. Care Med.* 2005; 33 (suppl): s228-s240.

HEDENSTIERNA G, et al. *Phrenic nerve stimulation during halothane anesthesia. Effects of atelectasis. Anesthesiology* 1994; 80: 751-760.

HENZLER D, et al. *Effects of partial ventilatory support modalities on respiratory function in severe hypoxemic lung injury. Crit. Care Med.* 2006; 34: 1738-1745.

HUBMAYR RD. *Perspective on lung injury and recruitment. A skeptical look at the opening and collapse story. Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; 165: 1647-1653.

IMAI Y, et al. *Injurious mechanical ventilation and end-organ epithelial cell apoptosis and organ dysfunction in an experimental model of acute respiratory distress syndrome. JAMA* 2003; 289: 2104-2112.

KIRBY RR, et al. *Cardiorespiratory effects of high positive end expiratory pressure. Anesthesiology* 1975; 43: 533-539.

KOLLEF MH, et al. *The use of continuous iv sedation is associated with prolongation of mechanical ventilation. Chest* 1998; 114: 541-548.

KRESS JP, et al. *Daily interruption of sedative infusions in critically ill patients undergoing mechanical ventilation. N. Engl. J. Med.* 2000; 342: 1471-1477.

KULKARNI AC, et al. *Oxygen, the lead actor in the pathophysiologic drama: enactment of the trinity of normoxia, hypoxia, an hyperoxia in disease and therapy. Antioxid. Redox. Signal.* 2007; 9: 1717-1730.

LACHMANN B. *Open the lung and keep it open. Intensive Care Med.* 1992; 18: 319-321.

LEVINE S, et al. *Rapid disuse atrophy of diaphragm fibers in mechanically ventilated humans. N. Engl. J. Med.* 2008; 358: 1327-1335.

LEITE-JUNIOR JH, et al. *Methylprednisolone improves lung mechanics and reduces the inflammatory response in pulmonary but not extrapulmonary mild acute lung injury in mice. Crit. Care Med.* 2008; 36: 2621-2628.

LORING SH, et al. *Kinetic energy loss and convective acceleration in respiratory resistance measurements. Lung.* 1979; 156: 33-42.

MARINI JJ, RAVENSCRAFT SA. *Mean airway pressure: physiologic determinants and clinical importance – Part 1: Physiologic determinants and measurements. Crit. Care Med.* 1992; 20: 1461-1472.

MARINI JJ, RAVENSCRAFT SA. *Mean airway pressure: physiologic determinants and clinical importance – Part 2: Clinical implications. Crit. Care Med.* 1992; 20: 1604-1616.

MARTYNOWICZ MA, et al. *Mechanisms of recruitment in oleic acid-injured lungs. J. Appl. Physiol.* 2001; 90(5): 1744-1753.

MARTYNOWICZ MA et al. *Regional expansion of oleic acid-injured lungs. Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999; 160(1): 250-258.

MEAD J, et al. *Stress distribution in lungs: a model of pulmonary elasticity. J. Appl. Physiol.* 1970; 28(5): 596-608.

METNITZ PGH, et al. *Epidemiology of mechanical ventilation: analysis of the SAPS 3 database. Intensive Care Med.* 2009; 35: 816-825.

MILIC-EMILI J, et al. *Topography of esophageal pressure as a function of posture in man. J Appl Physiol.* 1964; 19: 207-211.

MILIC-EMILI J, et al. *Improved technique for estimating pleural pressure from esophageal balloons. J Appl Physiol.* 1964; 19: 212-216.

MORIONDO A, et al. *Transmural pressure in rat initial subpleural lymphatics during spontaneous or mechanical ventilation. Am. J. Physiol. Heart Circ.Physiol.* 2005; 289: H263-H269.

MORTOLA JP, NOWORAJ A. *Two sidearm tracheal cannulae for respiratory airflow measurement in small animals. J. Appl. Physiol.* 1983; 55:250-53.

PARKER JC, et al. *High vascular and airway pressures increase interstitial protein mRNA expression in isolated rat lungs. J. Appl. Physiol.* 1997; 83: 1967-1705.

PÁSSARO CP, et al. *Pulmonary lesion induced by low and high positive end-expiratory pressure levels during protective ventilation in experimental acute lung injury. Crit. Care Med.* 2009; 37: 1011-1017.

PELOSI P, et al. *Effects of different continuous positive airway pressure devices and periodic hyperinflations on respiratory function. Crit. Care Med.* 2001; 29:1683-1689

PELOSI P, et al. *Recruitment and derecruitment during acute respiratory failure: an experimental study. Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 164: 122-130.

POWERS SK, et al. *Pressure support ventilation attenuates ventilator-induced protein modifications in the diaphragm. Crit. Care* 2008; 12: 191.

PUGIN J, et al. *Is the ventilator responsible for lung and systemic inflammation? Intensive Care Med.* 2002; 28: 817-819.

PUGIN J, et al. *Molecular mechanisms of lung cell activation induced by cyclic stretch. Crit. Care Med.* 2003; 31: S200-S206.

PUTENSEN C, et al. *Spontaneous breathing during ventilatory support improves ventilation-perfusion distributions in patients with acute respiratory distress syndrome. Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999; 159: 1241-1248.

PUTENSEN C, et al. *Long-term effects of spontaneous breathing during ventilatory support in patients with acute lung injury. Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 164: 43-49.

PUTENSEN C, Wrigge H. *Clinical review: biphasic positive airway pressure and airway pressure release ventilation. Crit. Care* 2004; 8: 492-497.

PUTENSEN C, WRIGGE H. *Alternative methods of ventilatory support: airway pressure release ventilation. In: Tobin MJ, editor. Principles and practice of mechanical ventilation. McGraw Hill, 2006: 327-334.*

RANIERI VM, et al. *Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in patients with acute respiratory distress syndrome. JAMA* 1999; 282: 54-61.

RÄSÄNEN J, et al. *Cardiovascular effects of conventional positive pressure ventilation and airway pressure release ventilation. Chest* 1998; 93: 911-915.

ROSE L, HAWKINS M. *Airway pressure release ventilation and biphasic positive airway pressure: a systematic review of definitional criteria. Intensive Care Med.* 2008; 34: 1766 –1773.

RUBENFELD G, et al. *Incidence and outcomes of acute lung injury. N. Engl. J. Med.* 2005; 353: 1685-1693.

SASSOON CSH, et al. *Assist-control mechanical ventilation attenuates ventilator-induced diaphragmatic dysfunction. Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004; 170: 626-632.

SHANELY RA, et al. *Mechanical ventilation depress protein synthesis in the rat diaphragm. Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004; 170: 994-999.

SLUTSKY AS. *Lung injury caused by mechanical ventilation. Chest* 1999; 116: 9S-15S.

SLUTSKY AS. *Mechanical ventilation. American College of Chest Physicians` Consensus Conference. Chest* 1993; 104: 1833-1859.

SOSIN VV. *On clinical manifestations of barotrauma of the lungs. Vojnosanit. Pregl.* 1959; 8: 46-48.

SPIETH PM, et al. *Variable tidal volumes improve lung protective ventilation strategies in experimental lung injury. Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2009; 179: 684-693.

STAUDINGER T, et al. *Comparison of oxygen cost of breathing with pressure-support ventilation and biphasic intermittent positive airway pressure ventilation. Crit. Care Med.* 1998; 26: 1518-1522.

STEIMBACH PW, et al. *Effects of frequency and inspiratory plateau pressure during recruitment maneuvers on lung and distal organs in acute lung injury. Intensive Care Med.* 2009; 35: 1120-1128.

STOCK MC, et al. *Airway pressure release ventilation. Crit. Care Med.* 1987; 15: 462-466.

SUH GY, et al. *Repeated derecruitment accentuate lung injury during mechanical ventilation. Crit. Care Med.* 2002; 30: 1848-1853.

TAKEUCHI M, et al. *Set positive end-expiratory pressure during protective ventilation affects lung injury. Anesthesiology.* 97: 682-692, 2002.

TERRAGNI PP, et al. *Tidal hyperinflation during low tidal volume ventilation in acute respiratory distress syndrome. Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007; 175: 160-166.

SEM AUTOR. *The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. N. Engl. J. Med.* 2000; 342: 1301-1308.

THILLE AW et al. *Reduction of patient-ventilator asynchrony by reducing tidal volume during pressure support ventilation. Intensive Care Med.* 2008; 34: 1477-1486.

TOBIN MJ, et al. *The pattern of breathing during successful and unsuccessful trials of weaning from mechanical ventilation. Am. Rev. Resp. Dis.* 1986; 134: 1111-1118.

VASSILAKOPOULOS T, et al. *Is loaded breathing an inflammatory stimulus ? Curr. Op. Crit. Care* 2005; 11: 1-9.

VESALIUS A. *Pulmonis motuum. De Humani Corporis Fabrica Libri Septem.* Basel, 1545.

VIALE JP, et al. *Oxygen cost of breathing in postoperative patients. Pressure support ventilation vs continuous positive airway pressure.* *Chest* 1988; 93: 506-509.

VILLAR J, et al. *High positive end expiratory pressure, low tidal volume ventilatory strategy improves outcome in persistent acute respiratory distress syndrome: A randomized controlled trial.* *Crit. Care Med.* 2006; 34: 1311-1318.

VLAHAKIS NE, HUBMAYR RD. *Cellular stress failure in ventilator injured lungs.* *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 2005; 171: 1328-1342.

WARE LB, et al. *The acute respiratory distress syndrome.* *N. Engl. J. Med.* 2000; 342 (18): 1334-1349.

WEIBEL ER. *Morphometry: stereological theory and practical methods.* In: Gil, J. (editor), *Models of lung disease-microscopy and structural methods*, Marcel Dekker, New York, 1990, pp. 199–247.

WEST JB. *Invited review: pulmonary capillary stress failure.* *J. Appl. Physiol.* 2000; 89(6): 2483-2489.

WRIGGE H, et al. *Spontaneous breathing with airway pressure release ventilation favors ventilation in dependent lung regions and counters cyclic alveolar collapse in oleic acid-induced lung injury: a randomized controlled computed tomography trial.* *Crit. Care* 2005; 9: R780-789.

WRIGGE H, et al. *Spontaneous breathing improves lung aeration in oleic acid-induced lung injury.* *Anesthesiology.* 2003; 99:376-384.

WYSZOGRODSKI I, et al. *Surfactant inactivation by hyperventilation: conservation by end-expiratory pressure.* *J. Appl. Physiol.* 1975; 38(3): 461-466.

APÊNDICE

Felipe Saddy
Gisele P. Oliveira
Cristiane S. N. B. Garcia
Liliane M. Nardelli
Andreia F. Rzezinski
Debora S. Ornellas
Marcelo M. Morales
Vera L. Capelozzi
Paolo Pelosi
Patricia R. M. Rocco

Assisted ventilation modes reduce the expression of lung inflammatory and fibrogenic mediators in a model of mild acute lung injury

Received: 1 October 2009
Accepted: 6 December 2009

© Copyright jointly held by Springer and ESICM 2010

Electronic supplementary material

The online version of this article (doi:10.1007/s00134-010-1808-6) contains supplementary material, which is available to authorized users.

F. Saddy · G. P. Oliveira ·
C. S. N. B. Garcia · L. M. Nardelli ·
A. F. Rzezinski · D. S. Ornellas ·
P. R. M. Rocco (✉)
Laboratory of Pulmonary Investigation,
Carlos Chagas Filho Institute
of Biophysics-C.C.S., Federal University
of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil
e-mail: prmrocco@biof.ufrj.br
Tel.: +55-2125626530
Fax: +55-21-22808193

F. Saddy
Ventilatory Care Unit Copa D'Or Hospital,
Rio de Janeiro, Brazil

F. Saddy
Intensive Care Unit Pro Cardiac Hospital,
Rio de Janeiro, Brazil

D. S. Ornellas · M. M. Morales
Laboratory of Cellular and Molecular
Physiology, Carlos Chagas Filho Institute
of Biophysics-C.C.S., Federal University
of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

V. L. Capelozzi
Department of Pathology, University of São
Paulo, São Paulo, Brazil

P. Pelosi
Department of Ambient, Health and Safety,
University of Insubria, Varese, Italy

Abstract Purpose: The goal of the study was to compare the effects of different assisted ventilation modes with pressure controlled ventilation (PCV) on lung histology, arterial blood gases, inflammatory and fibrogenic mediators in experimental acute lung injury (ALI). **Methods:** Paraquat-induced ALI rats were studied. At 24 h, animals were anaesthetised and further randomized as follows ($n = 6/\text{group}$): (1) pressure controlled ventilation mode (PCV) with tidal volume (V_T) = 6 ml/kg and inspiratory to expiratory ratio (I:E) = 1:2; (2) three assisted ventilation modes: (a) assist-pressure controlled ventilation (APCV1:2) with I:E = 1:2, (b) APCV1:1 with I:E = 1:1; and (c) biphasic positive airway pressure and pressure support ventilation (Bi-Vent + PSV), and (3) spontaneous breathing without PEEP in air. PCV, APCV1:1, and APCV1:2 were set with $P_{\text{insp}} = 10$ cmH₂O and PEEP = 5 cmH₂O. BiVent + PSV was set with two levels of CPAP [inspiratory pressure

($P_{\text{High}} = 10$ cmH₂O) and positive end-expiratory pressure ($P_{\text{Low}} = 5$ cmH₂O)] and inspiratory/expiratory times: $T_{\text{High}} = 0.3$ s and $T_{\text{Low}} = 0.3$ s. PSV was set as follows: 2 cmH₂O above P_{High} and 7 cmH₂O above P_{Low} . All rats were mechanically ventilated in air and PEEP = 5 cmH₂O for 1 h. **Results:** Assisted ventilation modes led to better functional improvement and less lung injury compared to PCV. APCV1:1 and BiVent + PSV presented similar oxygenation levels, which were higher than in APCV1:2. Bivent + PSV led to less alveolar epithelium injury and lower expression of tumour necrosis factor- α , interleukin-6, and type III procollagen. **Conclusions:** In this experimental ALI model, assisted ventilation modes presented greater beneficial effects on respiratory function and a reduction in lung injury compared to PCV. Among assisted ventilation modes, Bi-Vent + PSV demonstrated better functional results with less lung damage and expression of inflammatory mediators.

Keywords Acute lung injury · Ventilator-associated lung injury · Cytokines · Type III procollagen

Introduction

Assisted mechanical ventilation is frequently used in acute lung injury (ALI) and during the weaning process [1] as it requires less sedation and no paralysis thus preventing muscle atrophy [2, 3] and haemodynamic impairment [4–6], and reducing the time required for invasive ventilatory support as well as the length of stay in the intensive care unit [7]. The activation of the respiratory muscles induces more negative pleural pressures during inspiration diminishing atelectasis, improving oxygenation, and reducing mechanical stress. Conversely, spontaneous breathing during assisted mechanical ventilation may exacerbate lung injury, since it can increase patient-ventilator asynchrony and rapid shallow breathing, inducing further atelectasis and tidal recruitment–derecruitment [8]. Additionally, negative pleural pressures may increase intrathoracic blood volume, worsening pulmonary oedema and lung damage [9].

Pressure limited assisted ventilation modes, such as pressure assist control (A-PCV), pressure support (PSV), or airway pressure release (BiVent/APRV) ventilation have been frequently used [10]. In A-PCV and BiVent/APRV the inspiratory–expiratory trigger is time-cycled while in PSV it is flow cycled. The time-cycled inspiratory–expiratory triggering has been associated with increased patient ventilatory asynchrony due to neuro-mechanical uncoupling [11]. Extended inspiratory and shortened expiratory time may further improve alveolar recruitment and reduce lung injury [12, 13]. On the other hand, an increased inspiratory time could promote higher lung injury due to increased stress and strain with time [14–16]. During BiVent/APRV, unrestricted spontaneous breathing is possible at any moment of the mechanically supported ventilatory cycle. Since excessive spontaneous breathing is associated with increased respiratory effort, the combination of pressure limited time cycled breaths in BiVent/APRV with PSV has been introduced in new ventilators [17].

So far, to our knowledge, no experimental study in ALI has evaluated the impact of assisted ventilation modes on ventilator associated lung injury (VALI). Therefore, in an experimental model of mild ALI, we hypothesized that: (1) compared to pressure controlled ventilation (PCV), assisted ventilation per se may lead to less atelectasis resulting in better respiratory function, lower alveolar stress and strain, with less VALI; and (2) among pressure assisted ventilation modes, BiVent + PSV may be the optimal protective ventilatory strategy, due to the combination of pressure limited controlled time cycled and spontaneous flow cycled breaths. For this purpose, we compared the effects of different assisted ventilation modes with PCV on lung histology, arterial blood gases, inflammatory and fibrogenic mediators in experimental ALI.

Materials and methods

Detailed methods are described in the Electronic Supplementary Material (ESM) accompanying this article, and briefly summarized here.

Animal preparation and experimental protocol

This study was approved by the Ethics Committee of the Carlos Chagas Filho Institute of Biophysics, Health Sciences Centre, Federal University of Rio de Janeiro. A total of 36 Wistar rats (250–300 g) were initially assigned into two groups. In Control (C, $n = 6$), sterile saline solution (0.9% NaCl, 1.0 ml) was intraperitoneally (i. p.) injected and in acute lung injury (ALI, $n = 30$) groups, paraquat (15 mg/kg, i. p.) was administered [18]. Twenty-four hours after saline or paraquat administration, animals were sedated (diazepam 1 mg, i. p.), anaesthetised (thiopental sodium 20 mg/kg, i. p.), and tracheotomised. A polyethylene catheter (PE-10) was introduced into the femoral artery to collect blood sampling (300 μ l) and measure mean arterial pressure (SCIREQ, Montreal, Canada) (Baseline). The fraction of inspired oxygen (FiO_2) was adjusted to 1.0 and, after 5 min, arterial oxygen partial pressure (PaO_2), arterial carbon dioxide partial pressure (PaCO_2) and pH were measured (i-STAT, Abbott Laboratories, Illinois, USA). FiO_2 was then reduced to 0.21 to avoid absorption atelectasis and, after 5 min, the Control group was kept in spontaneous ventilation (room air) without positive-end expiratory pressure (PEEP), while ALI groups were further randomized as follows ($n = 6/\text{group}$): (1) pressure controlled ventilation mode (PCV) with inspiratory pressure (P_{ins}) sufficient to achieve a tidal volume (V_{T}) = 6 ml/kg ($P_{\text{ins}} = 10 \text{ cmH}_2\text{O}$), and inspiratory time (T_{I}) = 0.2 s, respiratory rate (RR) = 100 bpm/min, inspiratory to expiratory ratio (I:E) = 1:2, and PEEP = 5 cmH_2O (ALI-PCV); (2) three assisted ventilation modes: (a) assist-pressure controlled ventilation (ALI-APCV1:2) with $P_{\text{ins}} = 10 \text{ cmH}_2\text{O}$, PEEP = 5 cmH_2O , $T_{\text{I}} = 0.2 \text{ s}$, RR = 100 bpm, and I:E = 1:2; (b) assist-pressure controlled ventilation (ALI-APCV1:1) with $P_{\text{ins}} = 10 \text{ cmH}_2\text{O}$, PEEP = 5 cmH_2O , $T_{\text{I}} = 0.3 \text{ s}$, RR = 100 bpm, and I:E = 1:1; and (c) biphasic positive airway pressure and pressure support ventilation (BiVent + PSV) with two levels of CPAP [inspiratory pressure ($P_{\text{High}} = 10 \text{ cmH}_2\text{O}$) and positive end-expiratory pressure ($P_{\text{Low}} = 5 \text{ cmH}_2\text{O}$)] and inspiratory/expiratory times: $T_{\text{High}} = 0.3 \text{ s}$ and $T_{\text{Low}} = 0.3 \text{ s}$. PSV was set as follows: 2 cmH_2O above P_{High} and 7 cmH_2O above P_{Low} ; and (3) spontaneous breathing without PEEP (ALI-NV) in air. Animals were mechanically ventilated in Servo i (MAQUET, Solna, Sweden). After a 1 h ventilation period, FiO_2 was set at 1.0 and, after 5 min, arterial blood gases were analysed (End).

Following this step, FiO_2 was reduced to 0.21 and, after 5 min, ventilatory and mechanical parameters were measured. After the ventilation period, a laparotomy was done immediately after the determination of lung mechanics (End), and heparin (1,000 IU) was intravenously injected. The trachea was clamped at 5 cmH_2O PEEP in all groups to standardize the pressure condition. The abdominal aorta and vena cava were sectioned, yielding a massive haemorrhage that quickly killed the animals. Lungs were removed en bloc and prepared for histology (light and electron microscopy) and mRNA expression of tumour necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-6, interferon (IFN)- γ , transforming growth factor (TGF)- β , and type III procollagen (PCIII) in lung tissue were measured. A schematic flow chart of study design and the timeline representation of the procedure are shown in the electronic supplementary material.

Data acquisition

Airflow, V_T , airway (P_{aw}) and oesophageal (P_{es}) pressures were measured [18]. The durations of inspiration and expiration and the duration of the respiratory cycle were measured on the flow signal. Using these variables, respiratory frequency (f) and minute ventilation (V'_E) were computed. In addition, mean airway pressure and $P_{0.1}$ was measured throughout acquisition periods.

Histology

Light microscopy

Right lungs were immersed in 3% buffered formaldehyde, paraffin embedded, and stained with haematoxylin-eosin. Volume fraction of the lung occupied by hyperinflated structures (alveolar ducts, alveolar sacs or alveoli wider than 120 μm), collapsed alveoli or normal pulmonary areas were determined by the point-counting technique [19] at a magnification of $\times 200$ across ten random, non-coincident microscopic fields [20–22].

Transmission electron microscopy

Three slices $2 \times 2 \times 2$ mm were cut from three different segments of the lung and fixed [2.5% glutaraldehyde and phosphate buffer 0.1 M (pH 7.4)] for electron microscopy analysis (JEOL 1010 Transmission Electron Microscope, Tokyo, Japan). For each electron microscopy image (15/animal), the following structural damages were analysed: (a) alveolar capillary membrane, (b) type II epithelial cells, and (c) endothelial cells. The pathologic findings were graded according to a 5-point semi-quantitative severity-based scoring system as: 0 = normal lung parenchyma, 1 = changes in 1–25%, 2 = changes in 26–50%,

3 = changes in 51–75%, and 4 = changes in 76–100% of examined tissue [21].

Cytokines mRNA expression using ribonuclease protection assay

Four animals of each group were submitted to the aforementioned protocols to analyse mRNA expression for cytokines by using ribonuclease protection assay (RPA). The in vitro transcription kit and a customized template set [containing lymphotoxin (LT) α , LT β , TNF- α , IL-6, IFN- γ , IFN- β , TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, macrophage inflammatory factor (MIF), and two housekeeping genes glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase (GAPDH) and L32 (ribosomal RNA)] were used to synthesize a radiolabeled probe set using [α - ^{32}P] UTP. Density of each cytokine mRNA is expressed relative to that of the housekeeping gene GAPDH. These values were then related to C-NV group [23].

Expression of type III procollagen mRNA

Lung parenchyma strips ($3 \times 3 \times 10$ mm) were longitudinally cut from left lungs. Quantitative real-time reverse transcription (RT) polymerase chain reaction (PCR) was performed to measure the relative levels of type III procollagen (PCIII) expression. The relative amount of expression of PCIII was calculated as a ratio of PCIII and control gene (GAPDH) and expressed as fold change relative to C.

Statistical analysis

The normality of the data (Kolmogorov–Smirnov test with Lilliefors' correction) and the homogeneity of variances (Levene median test) were tested. If both conditions were satisfied, the effects of different ventilatory strategies in C and ALI groups were analysed by using one-way ANOVA followed by Tukey's test. Otherwise, One-way ANOVA on ranks followed by Dunn's post hoc test was selected. The significance level was always set at 5%. The parametric data were expressed as mean \pm SD, while the non-parametric data were expressed as median (interquartile range). All tests were performed using SigmaStat 3.1 (Jandel Corporation, San Raphael, CA, USA).

Results

Mean arterial pressure was maintained stable (70–90 mmHg) throughout the experiments.

Minute ventilation and tidal volume were higher while mean airway pressure was lower during assisted breathing than PCV (Table 1). Among the assisted ventilation modes, APCV1:2 induced the highest minute ventilation. Inspiratory pressures were similar in all assisted modes ($P_{\text{insp}} = 10 \text{ cmH}_2\text{O}$) as well as the mean airway pressure (Table 1). $P_{0.1}$ was lower in BiVent + PSV compared to other groups.

ALI groups presented worse oxygenation than C. Baseline PaO_2 , PaCO_2 , and pHa did not differ among ALI groups (Table 2). After 1 h ventilation, APCV1:1 and BiVent + PSV presented similar PaO_2 which was higher than APCV1:2. All assisted ventilation groups showed better oxygenation, lower PaCO_2 and higher pHa compared to ALI-NV and ALI-PCV (Table 2).

ALI animals demonstrated a higher amount of alveolar collapse than C. Assisted ventilation groups showed a reduction in alveolar collapse compared to PCV. However, APCV1:1 led to hyperinflation (Table 3).

All ALI animals presented swelling and injury of cytoplasmic organelles of type II pneumocyte (PII) with

aberrant lamellar bodies and endothelial injury (Table 4; Fig. 1). However, in BiVent + PSV alveolar capillary damage was less pronounced with no detachment of alveolar epithelium or denudation of epithelial basement membrane (Fig. 1).

LT- α , LT- β , IFN- β , TGF- β 2, TGF- β 3, and MIF mRNA were not expressed in any groups. TNF- α , IL-6, IFN- γ (Fig. 2a), and PCIII (Fig. 2b) expressions were lower in assisted ventilation modes. IL-6, IFN- γ , TGF- β 1 and PCIII expressions were more reduced in BiVent + PSV. Among assisted ventilation groups PCIII expression was higher in APCV1:1 (Fig. 2b).

Discussion

In the present experimental model of mild ALI, the assisted ventilation modes employed improved gas-exchange, reduced atelectasis, and inflammatory and fibrogenic mediators in lung tissue compared to PCV.

Table 1 Ventilatory and mechanical parameters

Ventilatory strategies	PCV	A-PCV1:2	A-PCV1:1	BiVent + PSV
V'_E (ml/min)	150 ± 0	262 ± 9 ^a	230 ± 9 ^{a, b}	237 ± 8 ^{a, b}
V_T (ml)	1.5 ± 0.1	2.3 ± 0.7 ^a	2.1 ± 1.1 ^a	2.2 ± 0.5 ^a
CV of V_T -assisted, %	4.1 ± 2.5	31.8 ± 3.9 ^a	53.5 ± 4.2 ^{a, b}	26.9 ± 8.5 ^{a, c}
RR (bpm)	100 ± 0	114 ± 12	110 ± 8	108 ± 18
PEEP (cmH ₂ O)	5.0 ± 0.2	5.1 ± 0.5	5.0 ± 0.4	5.2 ± 0.2
$P_{\text{mean,aw}}$ (cmH ₂ O)	6.4 ± 0.7	7.6 ± 0.5 ^a	8.0 ± 0.1 ^a	7.9 ± 0.3 ^a
$P_{0.1}$ (cmH ₂ O)	–	3.6 ± 0.8	3.7 ± 1.3	2.6 ± 0.7 ^{b, c}

Values are means (±SD) of six rats in each group

V'_E minute ventilation, V_T tidal volume, CV coefficient of variation, RR respiratory rate, PEEP positive end-expiratory pressure, $P_{\text{mean,aw}}$ mean airway pressure, $P_{0.1}$ driving pressure, PCV pressure controlled mode, APCV1:2 and APCV1:1: assist-pressure controlled ventilation with I:E = 1:2 and I:E = 1:1, respectively,

BiVent + PSV biphasic positive airway pressure and pressure support ventilation

^a Significantly different from ALI-PCV ($P < 0.05$)

^b Significantly different from ALI-APCV1:2 ($P < 0.05$)

^c Significantly different from ALI-APCV1:1 ($P < 0.05$)

Table 2 Arterial blood gases and pHa

Groups		C		ALI			
		NV	ALI	PCV	APCV1:2	APCV1:1	BiVent + PSV
PaO_2 (mmHg)	Baseline	565 ± 11	302 ± 18 ^a	296 ± 21 ^a	307 ± 36 ^a	295 ± 52 ^a	288 ± 24 ^a
	End	547 ± 29	282 ± 12 ^a	262 ± 8 ^a	319 ± 15 ^{a, b, c}	342 ± 14 ^{a, b, c, d}	358 ± 9 ^{a, b, c, d}
PaCO_2 (mmHg)	Baseline	38 ± 1	41 ± 4	40 ± 4	39 ± 5	39 ± 2	39 ± 4
	End	37 ± 4	49 ± 3 ^a	46 ± 3 ^a	37 ± 4 ^{b, c}	35 ± 3 ^c	34 ± 5 ^c
pHa	Baseline	7.36 ± 0.02	7.33 ± 0.03	7.33 ± 0.04	7.36 ± 0.02	7.34 ± 0.02	7.34 ± 0.02
	End	7.36 ± 0.04	7.25 ± 0.04 ^a	7.27 ± 0.04 ^a	7.37 ± 0.02 ^{b, c}	7.39 ± 0.04 ^{b, c}	7.42 ± 0.02 ^{b, c}

Arterial oxygen partial pressure (PaO_2 , mmHg), arterial carbon dioxide partial pressure (PaCO_2) and pHa immediately before (Baseline) and at 1 h mechanical ventilation (End) in Control (C) and Acute Lung Injury (ALI)

Values are means (± SD) of six rats in each group

NV spontaneously breathing rats, PCV pressure controlled mode, APCV1:2 and APCV1:1: assist-pressure controlled ventilation with

I:E = 1:2 and I:E = 1:1, respectively, BiVent + PSV biphasic positive airway pressure and pressure support ventilation

^a Significantly different from C-NV ($P < 0.05$)

^b Significantly different from ALI-NV ($P < 0.05$)

^c Significantly different from ALI-PCV ($P < 0.05$)

^d Significantly different from ALI-APCV1:2 ($P < 0.05$)

Table 3 Lung morphometry

Groups	C		ALI			
	NV	NV	PCV	APCV1:2	APCV1:1	BiVent + PSV
Normal (%)	92.4 ± 3.0	41.3 ± 8.1 ^a	36.7 ± 11.0 ^a	70.4 ± 5.5 ^{a, b, c}	46.7 ± 11.0 ^{a, d}	77.1 ± 3.1 ^{a, b, c, e}
Collapse (%)	7.6 ± 2.9	58.7 ± 8.0 ^a	64.3 ± 10.8 ^a	22.3 ± 9.4 ^{a, b, c}	23.7 ± 9.2 ^{a, b, c}	20.2 ± 3.0 ^{a, b, c}
Hyperinflated (%)	0	0	0	7.3 ± 5.6	30.6 ± 14.4 ^{a, b, c, d}	2.7 ± 2.2 ^e

The volume fraction of the lung occupied by normal pulmonary areas, collapsed alveoli, and hyperinflated structures in the Control (C) and Acute Lung Injury (ALI) groups. All values were computed in ten random, non-coincident fields per rat

Values are mean ± SD of six animals in each group

NV spontaneously breathing rats, PCV pressure controlled mode, APCV1:2 and APCV1:1: assist-pressure controlled ventilation with

I:E = 1:2 and I:E = 1:1, respectively, BiVent + PSV biphasic positive airway pressure and pressure support ventilation

^a Significantly different from C-NV ($P < 0.05$)

^b Significantly different from ALI-NV ($P < 0.05$)

^c Significantly different from ALI-PCV ($P < 0.05$)

^d Significantly different from ALI-APCV1:2 ($P < 0.05$)

^e Significantly different from ALI-APCV1:1 ($P < 0.05$)

Table 4 Semi-quantitative analysis of electron microscopy

Groups	C		ALI			
	NV	NV	PCV	APCV1:2	APCV1:1	BiVent + PSV
Alveolar capillary membrane	0 (0–0)	3 ^a (2–3.25)	4 ^a (3–4)	3 ^a (3–4)	3 ^a (3–3.25)	2 ^{a, b, c} (1.75–2.25)
Type II epithelial cell	0 (0–0)	2 ^a (2–2.25)	3 ^a (2–3)	2 ^a (2–2.25)	3 ^a (2.75–4)	3 ^a (2–3)
Endothelial cell	0 (0–0)	3 ^a (2–3.25)	3 ^a (2–3.25)	3 ^a (2.75–3.25)	3 ^a (3–3.25)	3 ^a (2.75–3.25)

Lung tissue score was done independently by two different investigators. The pathologic findings were graded according to a 5-point semi-quantitative severity-based scoring system: 0 = normal lung parenchyma, 1 = changes in 1–25%, 2 = 26–50%, 3 = 51–75%, and 4 = 76–100% of the examined tissue. Electron microscopy of lung parenchyma in the Control (C) and Acute Lung Injury (ALI)

groups. Values are median (25th percentile–75th percentile) of four to five rats in each group

^a Significantly different from C-NV ($P < 0.05$)

^b Significantly different from ALI-PCV ($P < 0.05$)

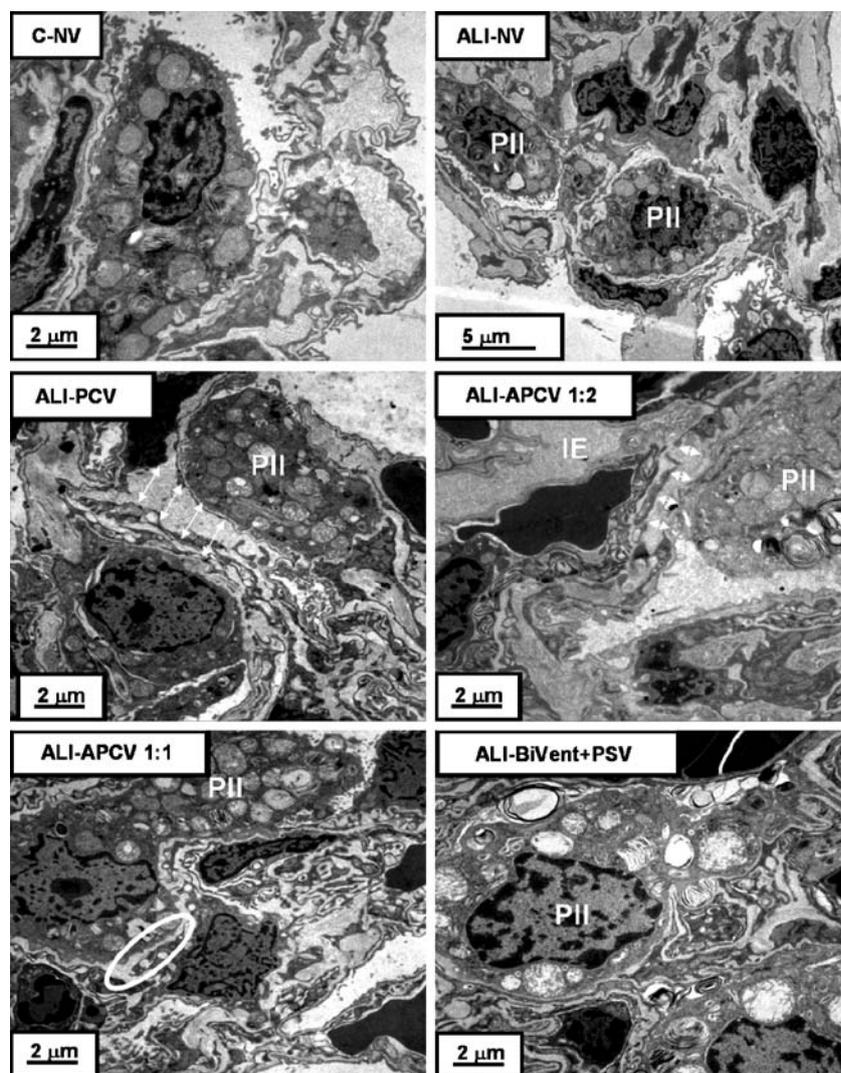
^c Significantly different from ALI-APCV1:2 ($P < 0.05$)

Furthermore, BiVent + PSV led to a lower inspiratory effort, alveolar capillary membrane injury, and inflammatory and fibrogenic mediators compared to A-PCV.

Acute lung injury was induced by paraquat, an herbicide that accumulates predominantly in the lung and induces alveolar epithelial damage due to its action on type II pneumocytes. This model leads to a well reproducible lung injury characterized by alveolar collapse, interstitial oedema, and hyaline membranes, but no alveolar oedema [22], and presents an amount of atelectasis similar to that observed in human ALI/ARDS [24]. In our study, the controlled mechanical ventilation group was set with low V_T (6 ml/kg) in line with current recommendations [25]. The level of PEEP was 5 cmH₂O, based on previous observations from our group showing that higher PEEP levels led to deterioration in gas-exchange respiratory mechanics in a similar ALI model in rats [22, 26]. Moreover, the same driving pressure, i.e. difference between inspiratory plateau and end-expiratory pressure, was used during controlled and assisted ventilation modes, suggesting that the morpho-functional and molecular differences were probably related to the type of ventilation, allowing a direct comparison among the different ventilatory techniques. Blood gas-analysis was performed with $FiO_2 = 1.0$ to avoid possible confounding effects of ventilation/

perfusion mismatch in the interpretation of the gas-exchange data [27]. However, this study was conducted with $FiO_2 = 0.21$ in order to avoid possible iatrogenic effects induced by high concentration of oxygen on lung parenchyma [21, 28]. Mean airway pressure was lower during PCV compared to other forms of assisted ventilation, which presented no significant differences among A-PCV1:2, A-PCV1:1, and BiVent + PSV. The I:E time during PCV was 1:2 comparable to that set during A-PCV1:2, although I:E may increase during A-PCV since inspiratory breath may begin before the set expiratory time [29]. Pulmonary histology was evaluated at comparable airway pressure, thus, the morphometrical changes reflect only the effects of different modes of mechanical ventilation. To our knowledge, no prospective randomized controlled experimental or clinical study has compared the effects of different assisted ventilation modes with controlled mechanical ventilation at the same driving pressure on lung mechanics and histology, and inflammatory and fibrogenic responses. Moreover, no study has evaluated the impact of different I:E ratio during A-PCV and BiVent + PSV on lung injury. In fact, previous reports have compared assisted with controlled mechanical ventilation focusing on respiratory muscle changes and prevention of muscle atrophy [30–32].

Fig. 1 Electron microscopy of lung parenchyma in the Control (C) and Acute Lung Injury (ALI) groups. NV spontaneously breathing rats, PCV pressure controlled mode, APCVI:2 and APCVI:1: assist-pressure controlled ventilation with I:E = 1:2 and I:E = 1:1, respectively, BiVent + PSV biphasic positive airway pressure and pressure support ventilation. Note the cytoplasmic degeneration of type II cell (PII) with aberrant lamellar bodies as well as alveolar capillary membrane damage in the ALI group (arrows). The ellipse indicates that the detachment of the alveolar capillary membrane is reduced in APCVI:1. In the BiVent + PSV group the damage in alveolar capillary membrane is less intense. IE interstitial edema. Photomicrographs are representative of data obtained from lung sections derived from five animals

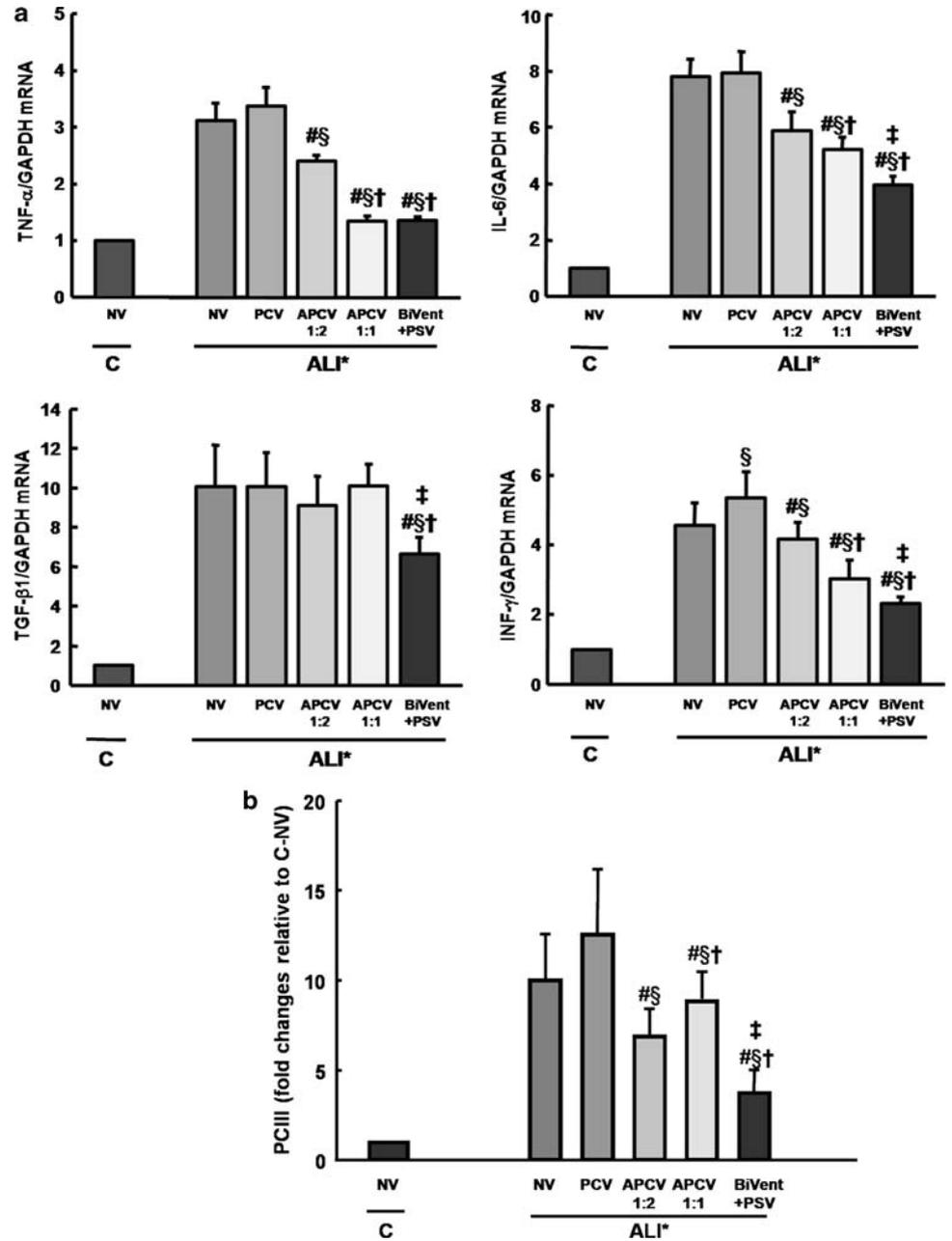


Assisted mechanical ventilation was associated with better aeration, less atelectasis, and higher V_T compared to PCV leading to an overall increase in total minute ventilation, oxygenation improvement, and a reduction in PaCO_2 . The main determinant of alveolar recruitment is the transpulmonary pressure achieved at end-inspiration and end-expiration [33]. During controlled mechanical ventilation inspiratory airway pressure reflects the transpulmonary pressure. Conversely, during assisted ventilation, inspiratory airway pressures may not reflect the real transpulmonary pressure, being affected by the reduction in pleural pressure generated by the activation of the inspiratory respiratory muscles. Since in assisted ventilation V_T was higher and the inspiratory and expiratory airway pressures were comparable to PCV, the negative pleural pressure generated by inspiratory efforts could better recruit the atelectatic lung units, in accordance with previous experimental studies [34, 35]. In a clinical study, Putensen et al. [6] found that oxygenation

and shunt did not differ between PSV and controlled mechanical ventilation. During PSV a progressive derecruitment may occur due to a decrease in I:E ratio and mean airway pressure [36], limiting the positive effects on alveolar recruitment determined by the inspiratory effort. Our data suggest that time cycled inspiratory–expiratory triggering may be efficient to avoid alveolar derecruitment observed during the entire flow cycled modes such as PSV, minimizing differences among different assisted ventilation modes.

We measured the $P_{0.1}$ as an indicator of the degree of inspiratory effort [37]. $P_{0.1}$ was lower in BiVent + PSV compared to A-PCV in spite of equal levels of anaesthesia, which may indicate reduced inspiratory effort, a better adaptation to the ventilator, and a reduction in inspiratory transpulmonary pressure. In this line, Sassoon et al. [3] showed that partial respiratory muscle activation can reduce muscle dysfunction. Henzler et al. [29] found that A-PCV1:1 led to a decreased respiratory effort

Fig. 2 Cytokine mRNA expression investigated by RNase Protection Assay (*Panel A*) and type III procollagen (PCIII) mRNA expression analysed using real-time polymerase chain reaction (*Panel B*) in the Control (*C*) and Acute Lung Injury (*ALI*) groups. Data are normalized to GAPDH expression. In panel B, the y axis represents fold increase compared with *C* [non-ventilated (*NV*) animals]. *NV* spontaneously breathing rats, *PCV* pressure controlled mode, *APCV1:2* and *APCV1:1*: assist-pressure controlled ventilation with I:E = 1:2 and I:E = 1:1, respectively, *BiVent + PSV* biphasic positive airway pressure and pressure support ventilation. Values are means (\pm SD) four animals per group. §Significantly different from ALI-NV ($P < 0.05$). #Significantly different from ALI-PCV ($p < 0.05$). †Significantly different from ALI-APCV1:2 ($P < 0.05$). ‡Significantly different from ALI-APCV1:1 ($P < 0.05$). *All ALI data were significantly different from C-NV ($P < 0.05$)



compared to BiVent + spontaneous breathing in a surfactant depletion ALI model in pigs. Conversely, in the present study, since BiVent was associated with PSV, spontaneous breaths were partially supported, thus reducing the inspiratory effort. Therefore, different assisted ventilation modes, set with similar parameters, may affect the inspiratory drive differently.

Lung hyperinflation was increased in assisted ventilation, mainly in A-PCV1:1, suggesting the role of inspiratory to expiratory time in an inhomogeneous lung parenchyma with different time constant. The increase in hyperinflation during assisted breathing can be explained

by the higher transpulmonary pressure achieved during inspiration in the presence of active breathing efforts. However, our data also suggest that modalities of assisted ventilation which favoured lower inspiratory to expiratory ratio may lead to less hyperinflation. Interestingly, BiVent + PSV was associated with lower hyperinflation compared to A-PCV 1:1, which could be due to a better animal-ventilator interaction reduced respiratory drive, with a consequent decrease in the inspiratory transpulmonary pressure.

We tested the presence of several inflammatory and fibrogenic mediators in the lung tissue, but we found

measurable amounts only of IL-6, TNF- α , TGF- β 1, and IFN- γ mRNA expressions [38]. Furthermore, lung tissue mRNA expression of PCIII was evaluated as it is the first collagen to be remodelled in the evolution of lung fibrogenesis [23] and has been used as an early marker of lung parenchyma remodelling [26]. Although tidal volume was higher during assisted ventilation, IL-6, TNF- α , TGF- β 1, and IFN- γ expressions were lower than PCV. A-PCV1:1 yielded alveolar hyperinflation resulting in a raise in PCIII mRNA expression in the lung compared to APCV1:2 and BiVent + PSV. IL-6 and TNF- α mRNA expressions were lower during A-PCV1:1 compared to A-PCV 1:2. Our data are in line with previous studies which showed association between hyperinflation and increased PCIII expression [21, 22, 39]. Different factors could have promoted reduced lung injury during assisted ventilation: (a) recruitment of dependent atelectatic lung regions, reducing opening and closing during tidal breath, thus limiting shear stress forces [17]; (b) more homogeneous distribution of regional transpulmonary pressures [40]; (c) variability of breathing pattern [41]; (d) redistribution of perfusion towards non-atelectatic injured areas [42]; and (e) improved lymphatic drainage [43]. Among assisted ventilation modes, IL-6, IFN- γ , TGF- β , and PCIII were lower in BiVent + PSV associated with reduced $P_{0.1}$, suggesting that assisted ventilation with high inspiratory effort may increase the risk of VALI. Therefore, $P_{0.1}$ could be used to optimize assisted ventilation setting achieving optimal recruitment with minimal stress and strain.

Limitations

Our study has several limitations: (1) we used a specific mild ALI model induced by paraquat, thus, we cannot extend our data to other models of more severe ALI; (2) the study period was short (1 h), therefore our results cannot be directly shifted to longer periods of ventilation.

These experimental data should be confirmed in large animals, with greater duration of analysis, and in clinical studies, in order to better understand the potentially relevant consequences in the weaning of critically ill patients; (3) our results cannot be generalized for other types of assisted ventilation modes and higher levels of inspiratory support; (4) we found a higher variability of tidal volume in the A-PCV1:1 group which suggests a worse animal-ventilator interaction. Although respiratory drive and functional parameters were not different compared to A-PCV1:2, VALI was lower in A-PCV1:1 than to A-PCV1:2; (5) the respiratory effort was estimated by measuring the respiratory drive, even though the direct transpulmonary pressure was not evaluated. In this line, several studies have shown that the respiratory drive is well correlated with the inspiratory effort [37, 44]; and (6) we did not measure inflammatory mediators in the blood or analyse distal organ injury.

Conclusions

In the present study, evidence shows that the assisted ventilation modes employed presented greater beneficial effects on respiratory function and a reduction in lung injury in mild experimental ALI. Among different assisted modes, BiVent + PSV further improved oxygenation, reduced inspiratory effort, and decreased lung injury.

Acknowledgments We would like to express our gratitude to Mr. Andre Benedito da Silva for animal care, Mrs. Miriam Regina Taborda Simone and Ana Lucia Neves da Silva for their help with microscopy, Ms. Jaqueline Lima do Nascimento for her skillful technical assistance during the experiments, Mrs. Moira Elizabeth Schöttler for assistance in editing the manuscript, and Maquet for borrowing us Servo-I ventilator. Supported by Centres of Excellence Program (PRONEX-FAPERJ), Brazilian Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Carlos Chagas Filho, Rio de Janeiro State Research Supporting Foundation (FAPERJ), São Paulo State Research Supporting Foundation (FAPESP).

References

1. Esteban A, Alía I, Tobin MJ, Gil A, Gordo F, Vallverdú I, Blanch L, Bonet A, Vázquez A, de Pablo R, Torres A, de La Cal MA, Macías S, Spanish Lung Failure Collaborative Group (1999) Effect of spontaneous breathing trial duration on outcome of attempts to discontinue mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 159:512–518
2. Levine S, Nguyen T, Taylor N, Friscia ME, Budak MT, Rothenberg P, Zhu J, Sachdeva R, Sonnad S, Kaiser LR, Rubinstein NA, Powers SK, Shrager JB (2008) Rapid disuse atrophy of diaphragm fibers in mechanically ventilated humans. *N Engl J Med* 358:1327–1335
3. Sassoon CS, Zhu E, Caiozzo VJ (2004) Assist-control mechanical ventilation attenuates ventilator-induced diaphragmatic dysfunction. *Am J Respir Crit Care Med* 170:626–632. doi:10.1164/rccm.200401-042OC
4. Kaplan LJ, Bailey H, Formosa V (2001) Airway pressure release ventilation increases cardiac performance in patients with acute lung injury/adult respiratory distress syndrome. *Crit Care* 5:221–226. doi:10.1186/cc1027

5. Staudinger T, Kordova H, Röggl M, Tesinsky P, Locker GJ, Laczika K, Knapp S, Frass M (1998) Comparison of oxygen cost of breathing with pressure-support ventilation and biphasic intermittent positive airway pressure ventilation. *Crit Care Med* 26:1518–1522
6. Putensen C, Mutz NJ, Putensen-Himmer G, Zinslerling J (1999) Spontaneous breathing during ventilatory support improves ventilation-perfusion distributions in patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 159:1241–1248
7. Putensen C, Zech S, Wrigge H, Zinslerling J, Stüber F, Von Spiegel T, Mutz N (2001) Long-term effects of spontaneous breathing during ventilatory support in patients with acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 164:43–49
8. Thille AW, Rodriguez P, Cabello B, Lellouche F, Brochard L (2006) Patient-ventilator asynchrony during assisted mechanical ventilation. *Intensive Care Med* 32:1515–1522. doi: [10.1007/s00134-006-0301-8](https://doi.org/10.1007/s00134-006-0301-8)
9. Kallet RH, Daniel BM, Gropper M, Matthay MA (1998) Acute pulmonary edema following upper airway obstruction: case reports and brief review. *Respir Care* 43:476–480
10. Rose L, Hawkins M (2008) Airway pressure release ventilation, biphasic positive airway pressure: a systematic review of definitional criteria. *Intensive Care Med* 34:1766–1773. doi: [10.1007/s00134-008-1216-3](https://doi.org/10.1007/s00134-008-1216-3)
11. Kondili E, Xirouchaki N, Georgopoulos D (2007) Modulation and treatment of patient-ventilator dyssynchrony. *Curr Opin Crit Care* 13:84–89. doi: [10.1097/MCC.0b013e328011278d](https://doi.org/10.1097/MCC.0b013e328011278d)
12. Fujita Y, Maeda Y, Fujino Y, Uchiyama A, Mashimo T, Nishimura M (2006) Effect of peak inspiratory flow on gas exchange, pulmonary mechanics, and lung histology in rabbits with injured lungs. *J Anesth* 20:96–101. doi: [10.1007/s00540-005-0374-5](https://doi.org/10.1007/s00540-005-0374-5)
13. D'Angelo E, Pecchiari M, Saetta M, Balestro E, Milic-Emili J (2004) Dependence of lung injury on inflation rate during low-volume ventilation in normal open-chest rabbits. *J Appl Physiol* 97:260–268. doi: [10.1152/jappphysiol.01175.2003](https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01175.2003)
14. Broccard AF, Hotchkiss JR, Suzuki S, Olson D, Marini JJ (1999) Effects of mean airway pressure and tidal excursion on lung injury induced by mechanical ventilation in an isolated perfused rabbit lung model. *Crit Care Med* 27:1533–1541
15. Marini JJ, Ravenscraft SA (1992) Mean airway pressure: physiologic determinants and clinical importance-Part 1: Physiologic determinants and measurements. *Crit Care Med* 20:1461–1472
16. Marini JJ, Ravenscraft SA (1992) Mean airway pressure: physiologic determinants and clinical importance-part 2: clinical implications. *Crit Care Med* 20:1604–1616
17. Putensen C, Wrigge H (2004) Clinical review: biphasic positive airway pressure and airway pressure release ventilation. *Crit Care* 8:492–497. doi: [10.1186/cc2919](https://doi.org/10.1186/cc2919)
18. Rocco PR, Negri EM, Kurtz PM, Vasconcellos FP, Silva GH, Capelozzi VL, Romero PV, Zin WA (2001) Lung tissue mechanics and extracellular matrix remodeling in acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 164:1067–1071
19. Weibel ER (1990) Morphometry: stereological theory and practical methods. In: Gil J (ed) *Models of lung disease-microscopy and structural methods*. Marcel Dekker, New York, pp 199–247
20. Riva DR, Oliveira MBZ, Rzezinski AF, Rangel G, Capelozzi VL, Zin WA, Morales MM, Pelosi P, Rocco PRM (2008) Recruitment maneuver in pulmonary and extrapulmonary experimental acute lung injury. *Crit Care Med* 36:1900–1908. doi: [10.1097/CCM.0b013e3181760e5d](https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181760e5d)
21. Pássaro CP, Silva PL, Rzezinski AF, Abrantes S, Santiago VR, Nardelli L, Santos RS, Barbosa CM, Morales MM, Zin WA, Amato MB, Capelozzi VL, Pelosi P, Rocco PR (2009) Pulmonary lesion induced by low and high positive end-expiratory pressure levels during protective ventilation in experimental acute lung injury. *Crit Care Med* 37:1011–1017. doi: [10.1097/CCM.0b013e3181962d85](https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181962d85)
22. Steimback PW, Oliveira GP, Rzezinski AF, Silva PL, Garcia CS, Rangel G, Morales MM, Lapa E, Silva JR, Capelozzi VL, Pelosi P, Rocco PR (2009) Effects of frequency and inspiratory plateau pressure during recruitment manoeuvres on lung and distal organs in acute lung injury. *Intensive Care Med* 35:1120–1128. doi: [10.1007/s00134-009-1439-y](https://doi.org/10.1007/s00134-009-1439-y)
23. Leite-Junior JH, Garcia CS, Souza-Fernandes AB, Silva PL, Ornellas DS, Larangeira AP, Castro-Faria-Neto HC, Morales MM, Negri EM, Capelozzi VL, Zin WA, Pelosi P, Bozza PT, Rocco PR (2008) Methylprednisolone improves lung mechanics and reduces the inflammatory response in pulmonary but not in extrapulmonary mild acute lung injury in mice. *Crit Care Med* 36:2621–2628. doi: [10.1097/CCM.0b013e3181847b43](https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181847b43)
24. Gattinoni L, Caironi P, Cressoni M, Chiumello D, Ranieri VM, Quintel M, Russo S, Patroniti N, Cornejo R, Bugeo G (2006) Lung recruitment in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 354:1775–1786
25. [No authors listed] (2000) Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. *N Engl J Med* 342:1301–1308
26. Farias LL, Faffe DS, Xisto DG, Santana MC, Lassance R, Prota LF, Amato MB, Morales MM, Zin WA, Rocco PR (2005) Positive end-expiratory pressure prevents lung mechanical stress caused by recruitment/derecruitment. *J Appl Physiol* 98:53–61. doi: [10.1152/jappphysiol.00118.2004](https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00118.2004)
27. Kulkarni AC, Kuppusamy P, Parinandi N (2007) Oxygen, the lead actor in the pathophysiology drama: enactment of the trinity of normoxia, hypoxia, and hyperoxia in disease and therapy. *Antioxid Redox Signal* 9:1717–1730
28. dos Santos CC, Slutsky AS (2006) The contribution of biophysical lung injury to the development of biotrauma. *Annu Rev Physiol* 68:585–618. doi: [10.1146/annurev.physiol.68.072304.113443](https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.68.072304.113443)
29. Henzler D, Pelosi P, Bensberg R, Dembinski R, Quintel M, Pielen V, Rossaint R, Kuhlen R (2006) Effects of partial ventilatory support modalities on respiratory function in severe hypoxic lung injury. *Crit Care Med* 34:1738–1745. doi: [10.1097/01.CCM.0000218809.49883.54](https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000218809.49883.54)
30. Powers SK, DeCramer M, Gayan-Ramirez G, Levine S (2008) Pressure support ventilation attenuates ventilator-induced protein modifications in the diaphragm. *Crit Care* 12:191. doi: [10.1186/cc7095](https://doi.org/10.1186/cc7095)
31. Futier E, Constantin JM, Combaret L, Mosoni L, Roszyk L, Sapin V, Attaix D, Jung B, Jaber S, Bazin JE (2008) Pressure support ventilation attenuates ventilator-induced protein modifications in the diaphragm. *Crit Care* 12:R116. doi: [10.1186/cc3908](https://doi.org/10.1186/cc3908)
32. Shanely RA, Van Gammeren D, Deruisseau KC, Zergeroglu AM, McKenzie MJ, Yarasheski KE, Powers SK (2004) Mechanical ventilation depresses protein synthesis in the rat diaphragm. *Am J Respir Crit Care Med* 170:994–999. doi: [10.1164/rccm.200304-575OC](https://doi.org/10.1164/rccm.200304-575OC)

-
33. Pelosi P, Goldner M, McKibben A, Adams A, Eccher G, Caironi P, Losappio S, Gattinoni L, Marini JJ (2001) Recruitment and derecruitment during acute respiratory failure: an experimental study. *Am J Respir Crit Care Med* 164:122–130
 34. Wrigge H, Zinserling J, Neumann P, Muders T, Magnusson A, Putensen C, Hedenstierna G (2005) Spontaneous breathing with airway pressure release ventilation favors ventilation in dependent lung regions and counters cyclic alveolar collapse in oleic-acid-induced lung injury: a randomized controlled computed tomography trial. *Crit Care* 9:R780–R789. doi: [10.1186/cc3908](https://doi.org/10.1186/cc3908)
 35. Wrigge H, Zinserling J, Neumann P, Defosse J, Magnusson A, Putensen C, Hedenstierna G (2003) Spontaneous breathing improves lung aeration in oleic acid-induced lung injury. *Anesthesiology* 99:376–384
 36. Dembinski R, Max M, Bensberg R, Rossaint R, Kuhlen R (2002) Pressure support compared with controlled mechanical ventilation in experimental lung injury. *Anesth Analg* 94:1570–1576
 37. Alberti A, Gallo F, Fongaro A, Valenti S, Rossi A (1995) P0.1 is a useful parameter in setting the level of pressure support ventilation. *Intensive Care Med* 21:547–553
 38. Fanelli V, Mascia L, Puntorieri V, Assenzio B, Elia V, Fornaro G, Martin EL, Bosco M, Delsedime L, Fiore T, Grasso S, Ranieri VM (2009) Pulmonary atelectasis during low stretch ventilation: “open lung” versus “lung rest” strategy. *Crit Care Med* 37:1046–1053. doi: [10.1097/CCM.0b013e3181968e7e](https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181968e7e)
 39. Garcia CS, Abreu SC, Soares RM, Prota LF, Figueira RC, Morales MM, Capelozzi VL, Zin WA, Rocco PR (2008) Pulmonary morphofunctional effects of mechanical ventilation with high inspiratory air flow. *Crit Care Med* 36:232–239. doi: [10.1097/01.CCM.0000295309.69123.AE](https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000295309.69123.AE)
 40. D’Angelo E (1984) Factors affecting the distribution of transpulmonary pressure in animals and in man. *Bull Eur Physiopathol Respir* 20(5):415–422
 41. Spieth PM, Carvalho AR, Pelosi P, Hoehn C, Meissner C, Kasper M, Hübler M, von Neindorff M, Dassow C, Barrenschee M, Uhlig S, Koch T, de Abreu MG (2009) Variable tidal volumes improve lung protective ventilation strategies in experimental lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 179:684–693. doi: [10.1164/rccm.200806-975OC](https://doi.org/10.1164/rccm.200806-975OC)
 42. Gama de Abreu M, Spieth PM, Pelosi P, Carvalho AR, Walter C, Schreiber-Ferstl A, Aikele P, Neykova B, Hübler M, Koch T (2008) Noisy pressure support ventilation: a pilot study on a new assisted ventilation mode in experimental lung injury. *Crit Care Med* 36:818–827. doi: [10.1097/01.CCM.0000299736.55039.3A](https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000299736.55039.3A)
 43. Moriondo A, Mukenge S, Negrini D (2005) Transmural pressure in rat initial subpleural lymphatics during spontaneous or mechanical ventilation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289:H263–H269. doi: [10.1152/ajpheart.00060.2005](https://doi.org/10.1152/ajpheart.00060.2005)
 44. Pelosi P, Chiumello D, Calvi E, Taccone P, Bottino N, Panigada M, Cadringer P, Gattinoni L (2001) Effects of different continuous positive airway pressure devices and periodic hyperinflations on respiratory function. *Crit Care Med* 29:1683–1689

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)