

PEDRO LEME SILVA

**ESTRATÉGIAS VENTILATÓRIAS EM PRESENÇA DE
DIFERENTES NÍVEIS DE VOLEMIA EM MODELO DE
LESÃO PULMONAR AGUDA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Fisiologia), Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho - IBCCF, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências.

ORIENTADORA: PATRICIA RIEKEN MACEDO ROCCO

RIO DE JANEIRO

JULHO DE 2010

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

**ESTRATÉGIAS VENTILATÓRIAS EM PRESENÇA DE
DIFERENTES NÍVEIS DE VOLEMIA EM MODELO DE LESÃO
PULMONAR AGUDA**

PEDRO LEME SILVA

ORIENTADORA: PATRICIA RIEKEN MACEDO ROCCO

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Fisiologia), Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho - IBCCF, da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências.

APROVADA POR:

Prof. Patricia Rieken Macedo Rocco, Ph.D. - Orientadora
Prof. Associada, IBCCF, UFRJ

Prof. Marcelo Alcântara Holanda, Ph.D.
Prof. Adjunto, UFC

Prof. Jorge Ibrain Figueira Salluh, Ph.D.
Coordenador do Núcleo de Pesquisa Clínica em Medicina Intensiva do CTI-INCA

Prof. Cristiane Sousa Nascimento Baez Garcia, Ph.D.
Pesquisadora do Laboratório de Investigação Pulmonar, IBCCF, UFRJ

Prof. José Rofolfo Rocco, Ph.D. - Suplente Externo
Prof. Associado, Clínica Médica, UFRJ

Prof. Regina Coeli dos Santos Goldenberg, Ph.D. - Revisora
Prof. Adjunta, IBCCF, UFRJ

Rio de Janeiro
Julho de 2010

O primeiro 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), pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq) e pelo Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX-MCT, PRONEX-FAPERJ). O segundo trabalho foi realizado no Centro Cirúrgico Experimental da Universidade Tecnológica de Dresden, Alemanha, na vigência de bolsa doutorado sanduíche concedida pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) para o aluno Pedro Leme Silva.

A Deus,
por ter sido justo durante meu caminho.

Aos meus pais Aloísio Moura e Rita Leme,
por terem me ensinado os valores nobres do ser humano, amor e trabalho.

A minha namorada Heloísa Setta,
pelo amor, compreensão e cumplicidade mesmo sob frio intenso.

A minha tia Mônica Leme,
exemplo de dedicação ao estudo e perseverança.

Ao meu tio Luiz Carlos (*in memoriam*),
pelo carinho e alegria de viver.

Ao meu primo Rafael Leme Gonzalez,
por seu otimismo mesmo em situações difíceis.

AGRADECIMENTOS

Existem algumas pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a elaboração desta tese e outras, que por sua presença, neste período da minha vida, contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional. A estas pessoas eu devo os meus agradecimentos:

- Prof^a Patricia Rocco, minha orientadora desde a Iniciação Científica. Meu sincero agradecimento por todos os ensinamentos científicos e por me mostrar que a pesquisa pode ser conduzida de forma harmoniosa. Você me fez crescer como profissional.
- Prof^o Marcelo Gama de Abreu e sua esposa Susy, pelos ensinamentos científicos e pela amizade durante o período na Alemanha. Muito obrigado por tudo.
- Prof^o Walter Zin, pelo exemplo de pesquisador. Meus sinceros agradecimentos por todo o conhecimento adquirido ao seu lado.
- Prof^o Paolo Pelosi, pelo exemplo de dedicação à vida acadêmica.
- Prof^a Nazaré Rocha, pelas imagens e análise de ecocardiografia.
- Prof^a Regina Goldenberg, pela revisão da tese.
- Prof^o Marcelo Morales, pela análise da biologia molecular.
- Prof^o Jack Haitsma, por ter me ensinado a técnica de canulação de carótida em ratos.
- Meus amigos, Nadja e Dr. Alessandro, pela imensa ajuda durante meu período na Alemanha.
- Meus amigos alemães, Christopher Uhlig, Andreas Güldner, Sussane Franke, Claudia Schwarze, Stefan Zeidler, Anke Krause, Thomas Bluthi,

Ines Reutzsch e Martin Deile, meus sinceros agradecimentos por todo o trabalho desenvolvido.

- Meus amigos do Laboratório de Investigação Pulmonar. Agradeço por toda a ajuda e companheirismo durante esse trabalho. Desculpem-me se esqueci de alguém, Cristiane Sousa Nascimento Baez Garcia, Débora Xisto, Gisele Oliveira, Lillian Moraes, Cynthia Samary, Raquel Santos, Fernanda Cruz, Lívia Fujisaki, Felipe Saddy, Mariana Genuíno de Oliveira, Jones Bernardes, Tatiana Maron-Gutierrez, Débora Ornellas e todos os outros alunos que contribuíram indiretamente para esse trabalho. Meu sincero agradecimento.
- Todas as pessoas da minha família pelo carinho, apoio, confiança e, principalmente, pelo reconhecimento de todos os meus esforços.
- Sr. Antônio, técnico do Laboratório de Fisiologia da Respiração, e ao André, Verônica, Viviane, Jaqueline e Maicom, técnicos dos Laboratórios de Investigação Pulmonar e de Fisiologia Celular e Molecular, que me ajudaram sempre com tanta presteza quando precisei.

RESUMO

ESTRATÉGIAS VENTILATÓRIAS EM PRESENÇA DE DIFERENTES NÍVEIS DE VOLEMIA EM MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA. Pedro Leme Silva. Orientadora: Patricia Rieken Macedo Rocco. Resumo da Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Fisiologia), Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Esse trabalho foi subdividido em dois estudos. No primeiro estudo, foram avaliados os efeitos da manobra de recrutamento (MR) sobre o pulmão assim como em órgãos periféricos em presença de hipovolemia, normovolemia e hipervolemia em modelo de lesão pulmonar aguda (LPA) extrapulmonar induzida por ligadura e perfuração de ceco em ratos Wistar (300-350 g). Após 48 horas, os animais foram anestesiados, ventilados mecanicamente e divididos em três grupos (n=22/grupo): 1) Hipovolemia induzida por drenagem de sangue até pressão arterial média (PAM)≈70 mmHg; 2) Normovolemia, manutenção da PAM≈100 mmHg e 3) Hipervolemia, induzida através da administração de colóide até PAM≈130 mmHg. Em cada grupo, os animais foram submetidos à MR (CPAP=40cmH₂O por 40 s) ou não (NR) (n=11/grupo), seguido por 1 hora de ventilação mecânica protetora. Dados ecocardiográficos, troca gasosa, elastância estática do pulmão (Est,L), histologia (microscopias óptica e eletrônica), relação peso seco-peso úmido (W/D), a expressão de RNAm para as interleucinas (IL)-6, IL-1β, caspase-3, pro-colágeno tipo III (PCIII), molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) e molécula de adesão vascular-1 (VCAM-1) foram analisados no tecido pulmonar, como também o grau de apoptose em órgãos periféricos. Foi observado que: 1) hipervolemia aumentou a relação peso seco-peso úmido com concomitante diminuição da oxigenação, aumento da Est,L, lesão de células endoteliais e epiteliais e aumento na expressão de IL-6, VCAM-1 e ICAM-1; e 2) a MR reduziu o percentual de colapso independente do estado volêmico. Nos animais hipervolêmicos, a MR melhorou a oxigenação; entretanto, piorou o dano epitelial e endotelial e a expressão de citocinas inflamatórias e fibrogênicas no tecido pulmonar. Algumas questões advieram desse estudo; dentre elas: qual seria o melhor fluido para a manutenção do quadro entre a hipovolemia e normovolemia, desde que inserido em um conceito conservador de administração de fluidos, ou seja, sem causar sobrecarga hídrica. Para tal, realizou-se um segundo estudo onde a LPA foi induzida por um modelo de depleção de surfactante associada a lesão induzida pela ventilação mecânica em 30 porcos (32-38 kg). Após a indução da LPA, os porcos foram submetidos a hipovolemia (retirada de 25% do volume sanguíneo estimado através da drenagem de sangue arterial). Após estabilização deste quadro, a restauração volêmica ocorreu através da injeção de Ringer Acetato (RA), Gelafundin (GEL) ou Hidroxietil Starch (HES) (n=10/grupo). O tratamento teve como objetivo a restauração volêmica precoce, porém mantendo-se uma faixa de hipovolemia relativa caracterizada pelos níveis de volume sanguíneo intraorácico (ITBV) entre a situação pré e pós drenagem de sangue. Com isso, o estudo se insere dentro do conceito de reposição conservadora de fluidos em um modelo de LPA. Constatou-se redução do volume de sangue intratorácico (ITBV) e PAM

(20% e 19 %, respectivamente) após a drenagem de sangue. Não houve diferença entre os níveis de volume sanguíneo intratorácico entre os grupos RA, GEL e HES, porém o volume de fluidos infundido para atingir a restauração volêmica diferiu (2234 ± 803 ml, 694 ± 165 ml e 837 ± 86 ml, respectivamente, $p < 0,05$). Houve aumento significativo da relação W/D no grupo RA em comparação ao GEL e HES. Entretanto, não houve diferença nos dados funcionais [PaO_2/FiO_2 , Est,L, água extravascular pulmonar (EVLW)] entre os grupos. Em conclusão, a reposição volêmica com Ringer Acetato foi caracterizada por um volume elevado de fluido e edema pulmonar, sem alterar significativamente a função pulmonar.

Palavras-chave: lesão pulmonar aguda, ventilação mecânica, manobra de recrutamento, elastância, inflamação.

Caracteres: 3592

Rio de Janeiro
Julho de 2010

ABSTRACT

VENTILATORY STRATEGIES AT DIFFERENT LEVELS OF BLOOD VOLUME IN A MODEL OF ACUTE LUNG INJURY. Pedro Leme Silva. Orientadora: Patricia Rieken Macedo Rocco

Abstract da Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Fisiologia), Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências.

This thesis was divided into two studies. In the first one, we evaluated the effects of recruitment maneuver (RM) on lung and distal organs in the presence of hypovolemia, normovolemia, and hypervolemia in a model of extrapulmonary acute lung injury (ALI) induced by sepsis. For this purpose, ALI was induced by cecal ligation and puncture surgery in 66 Wistar rats (300-350g). After 48h, animals were anesthetized, mechanically ventilated and randomly assigned to 3 volemic status (n=22/group): 1) hypovolemia induced by blood drainage at mean arterial pressure (MAP)≈70 mmHg; 2) normovolemia (MAP≈100 mmHg), and 3) hypervolemia with colloid administration to achieve a MAP≈130 mmHg. In each group, animals were further randomized to be recruited (CPAP=40cmH₂O for 40s) or not (NR) (n=11/group), followed by 1 h of protective mechanical ventilation. Echocardiography, arterial blood gases, static lung elastance (Est,L), histology (light and electron microscopy), lung wet-to-dry (W/D) ratio, interleukin (IL)-6, IL-1β, caspase-3, type III procollagen (PCIII), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) mRNA expressions in lung tissue, as well as lung and distal organ cell apoptosis were analyzed. We observed that: 1) hypervolemia increased lung W/D ratio with impairment of oxygenation and Est,L, and was associated with alveolar and endothelial cell damage and increased IL-6, VCAM-1, and ICAM-1 mRNA expressions; and 2) RM reduced alveolar collapse independent of volemic status. In hypervolemic animals, RM improved oxygenation above the levels observed with the use of PEEP, but increased lung injury and led to higher inflammatory and fibrogenetic responses. Some questions came from this study, for example: which is the best fluid to keep the animals in a relative hypovolemic state? For this purpose, ALI was induced by a two-hit ALI model [surfactant depletion associated to ventilator induced lung injury (VILI)] in 30 pigs (32-38 kg). After ALI induction, animals were submitted to a moderate hypovolemia (drainage of 25% of the estimated blood volume). After stabilization, the volemic restauration was performed with: Ringer's Acetate (RA), Gelafundin (GEL) e Hydroxyetil Starch (HES). These treatments were focused on early volemic resuscitation, according to the levels of intrathoracic blood volume (ITBV) between the situation pre and post blood drainage. As a result, this study belongs to a conservative fluid restauration in an ALI model. The amount of fluids to achieve the same ITBV was higher in RA (2250±764ml) than in GEL (704±159ml) and HES (837±82ml), p<0,05. We observed an increase in the W/D in RA group compared to GEL and HES. However, there were no differences in functional parameters [PaO₂/FiO₂, Est,L, extravascular lung water (EVLW)] among the groups. In conclusion, the

conservative volemic restoration with RA is characterized by increased amount of fluids but no modifications in pulmonary function.

Keywords: acute lung injury, mechanical ventilation, recruitment maneuver, elastance, inflammation.

Words: 2995

Rio de Janeiro
Julho de 2010

SUMÁRIO

1 Introdução	20
1.1 Caracterização da Lesão Pulmonar Aguda e Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo.....	22
1.1.1 Conceito e Definição.....	22
1.1.2 Fisiopatologia da Lesão Pulmonar Aguda.....	23
1.1.3 Processo Inflamatório na Lesão Pulmonar Aguda.....	23
1.1.4 Sepsis como Fator Indutor da Lesão Pulmonar Aguda.....	25
1.2 Restauração Volêmica na LPA/SDRA Induzida por Sepsis.....	26
1.3 Estratégia Ventilatória na LPA/SDRA.....	29
1.4 Monitorização Hemodinâmica na LPA/SDRA.....	32
2. Justificativas.....	36
3. Objetivos.....	39
3.1 Primeiro Estudo	
3.1.1 Objetivo.....	39
3.1.2. Objetivo Específico.....	40
3.2 Segundo Estudo	
3.2.1 Objetivo.....	40
3.2.2 Objetivo Específico.....	40

4. Materiais e Métodos

4.1 Primeiro Estudo.....	42
4.1.1 Animais Utilizados.....	42
4.1.2 Protocolo Experimental	42
4.1.3 Caracterização dos Grupos.....	48
4.1.4 Ecocardiografia.....	51
4.1.5 Mecânica Pulmonar.....	52
4.1.6 Método de Oclusão ao Final da Inspiração.....	52
4.1.7 Remoção dos Pulmões.....	54
4.1.8 Histologia Pulmonar.....	55
4.1.8.1 Análise por Microscopia de Luz do parênquima pulmonar.....	55
4.1.8.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	57
4.1.8.3 Análise das células apoptóticas do pulmão, fígado, rim e intestino.....	59
4.1.8.3.1 Detecção de células apoptóticas (TUNEL).....	59
4.1.9 Expressão Gênica de Mediadores Inflamatórios, Fibrogênicos e Apoptóticos no Tecido Pulmonar.....	61
4.1.9.1 Extração de RNA total do Tecido Pulmonar.....	61
4.1.9.2 Transcrição Reversa Seguida de Reação em Cadeia de Polimerase em Tempo Real.....	62
4.1.10 Análise do peso úmido/peso seco (W/D).....	64
4.1.11 Análise Estatística.....	64
4.2 Segundo Estudo.....	65
4.2.1 Preparação do Animal.....	65
4.2.2 Protocolo Experimental.....	69

4.2.3	Análise dos Gases Sanguíneos.....	71
4.2.4	Parâmetros de Hemodinâmica.....	72
4.2.5	Análise da Mecânica Respiratória.....	73
4.2.6	Final do Experimento.....	74
4.2.7	Análise da relação peso úmido/peso seco (W/D).....	74
4.2.8	Análise Estatística.....	75
5.	Resultados.....	77
5.1	Resultados do Primeiro Estudo.....	77
5.2	Resultados do Segundo Estudo.....	94
6.	Discussão.....	106
6.1	Discussão do Primeiro Estudo.....	106
6.1.1	Aspectos Metodológicos.....	106
6.1.2	Efeitos da Volemia no Pulmão e Órgãos Distais.....	107
6.1.3	Interações entre Manobras de Recrutamento e Volemia.....	110
6.1.4	Limitações do Primeiro Estudo.....	113
6.2	Discussão do Segundo Estudo.....	114
6.2.1	Aspectos Metodológicos.....	114
6.2.2	Controvérsia Cristalóide x Colóide.....	116
6.2.3	Perspectivas Futuras.....	121
7.	Conclusões.....	123
8.	Referências.....	125
9.	Anexo 1.....	144
10.	Anexo 2.....	145

ÍNDICE DAS FIGURAS

Figura 1. Escala temporal do experimento.....	44
Figura 2. Teste de Oclusão.....	47
Figura 3. Esquema Experimental.....	51
Figura 4. Representação Esquemática dos traçados de fluxo, volume, pressão traqueal e pressão esofagiana em função do tempo.....	53
Figura 5. Montagem Experimental.....	54
Figura 6. Retículo de 100 pontos e 50 linhas utilizado para quantificação dos parâmetros morfométricos.....	57
Figura 7. Protocolo Experimental do Segundo Estudo.....	68
Figura 8. Representação esquemática do Segundo Estudo (Alemanha).....	71
Figura 9. Fotomicrografias do parênquima pulmonar (HE).....	82
Figura 10. Dados morfométricos.....	83
Figura 11. Relação peso úmido/peso seco (W/D).....	84
Figura 12. Microscopia Eletrônica do parênquima pulmonar.....	86
Figura 13. Fotomicrografias do parênquima pulmonar (TUNEL).....	88
Figura 14. Fotomicrografia de células hepáticas (TUNEL).....	89
Figura 15. Fotomicrografia de células renais (TUNEL).....	90
Figura 16. Fotomicrografia de vilos intestinais (TUNEL).....	91
Figura 17. Análise de RT-PCR.....	93
Figura 18. Relação peso úmido/peso seco (W/D).....	103
Figura 19. Correlação entre os dados funcionais.....	104

ÍNDICE DAS TABELAS

Tabela 1. <i>Primers</i> utilizados nas reações de PCR.....	63
Tabela 2. Pressão Arterial Média e dimensões de veia cava inferior e átrio direito.....	79
Tabela 3. Dados Ecocardiográficos.....	80
Tabela 4. Dados de troca gasosa e elastância estática pulmonar.....	81
Tabela 5. Análise semi-quantitativa da microscopia eletrônica.....	87
Tabela 6. Análise semi-quantitativa de células apoptóticas.....	92
Tabela 7. Dados de troca gasosa e nível de hemoglobina.....	97
Tabela 8. Parâmetros hemodinâmicos e volume infundido.....	99
Tabela 9. Parâmetros da mecânica respiratória.....	101

ABREVIATURAS

Δ Pes = variação da pressão esofagiana
 Δ Ptr = variação da pressão traqueal
ACTF = administração conservadora tardia de fluidos
AD = átrio direito
AECC = Sociedades Americana e Européia de Pneumologia e Terapia Intensiva
BAL = lavado broncoalveolar
BE = excesso de bases
Ca = conteúdo arterial
CLP = ligadura e perfuração de ceco
CPAP = pressão positiva contínua de via aérea
Irpm = incurrções respiratórias por minuto
Cv = conteúdo venoso
DAD = dano alveolar difuso
DC = débito cardíaco
DDSA = anidrido de ácido doxecenil succínico
DEPC = dietil pirocarbonato
DMOS = disfunção de múltiplos órgãos e sistemas
DNac = ácido desoxirribonucléico complementar
DNase = desoxirribonuclease
DO₂ = oferta de oxigênio
DST = tempo de decaimento exponencial
DU = débito urinário
EL = elastância dinâmica pulmonar
EN = célula endotelial
Est,L = elastância estática pulmonar
Est,sr = elastância estática do sistema respiratório
EVLWI = índice de água extravascular pulmonar
FACTT = *Fluid and catheter Treatment Trial*
FE = fração de ejeção
FiO₂ = fração inspirada de oxigênio
FR = frequência respiratória
GAPDH = gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase
GEDVI = índice do volume global ao final da diástole
GEL = Gelafundin
H&E = Hematoxilina e eosina
Hb = Hemoglobina
HES = Hidroxietil Starch
I:E = relação inspiratória e expiratória
ICAM 1 = molécula de adesão intercelular -1
IL = interleucina
ITBVI = índice de volume sanguíneo intratorácico
ITTV = volume térmico intratorácico
KCl = cloreto de potássio
L = pulmão
LPA = lesão pulmonar aguda
MMP = metaloproteinase

MR = manobra de recrutamento alveolar
MTt = tempo transitório médio
NaCl = cloreto de sódio
NF κ B = fator nuclear kappa B
NR = sem recrutamento
PAbd = pressão abdominal
PaCO₂ = pressão parcial de dióxido de carbono
PAM = pressão arterial média
PaO₂ = pressão parcial de oxigênio
PCIII = procolágeno tipo III
PCO = pressão colóide-osmótica
PEEP = pressão positiva ao final da expiração
Pel = pressão de retração elástica
Pes = pressão esofagiana
PG = prostaglandina
Pi = ponto de inflexão
PiCCO[®] = *Pulse invasive counter cardiac output*[®]
PII = pneumócito tipo II
PL = pressão transpulmonar
POAP = pressão de oclusão da artéria pulmonar
PPICO = pressão de pico de vias aéreas
Ppl = pressão intrapleural
Pplat = pressão de platô
Ptr = pressão traqueal
PTTa = tempo de tromboplastina parcial ativada
PTV = volume térmico pulmonar
PVC = pressão venosa central
Pw = pressão da parede torácica
Qva/QT = índice de *shunt*
RL = resistência pulmonar
R_{sr} = resistência de sistema respiratório
RA = Ringer Acetato
RIAF = ressuscitação inicial adequada de fluidos
RNAm = ácido ribonucléico mensageiro
rs = sistema respiratório
RT (-) = controle negativo com ausência de enzima transcriptase reversa
RT-PCR = transcrição reversa da reação em cadeia da polimerase
SD = desvio padrão
SDRA = Síndrome do desconforto respiratório agudo
EPM = erro padrão da média
SP-1 = *specificity protein-1*
Sv = saturação venosa
TNF = fator de necrose tumoral
TUNEL = *terminal deoxynucleotidyl mediated dUTPbiotin nick end-labeling method*
UTI = Unidade de Terapia Intensiva
V' = fluxo inspiratório
V_T = volume corrente
VCAM 1 = molécula de adesão vascular -1
VCI = veia cava inferior

VE = ventrículo esquerdo

VILI = lesão induzida pela ventilação mecânica

VM = ventilação mecânica

VO₂ = consumo de oxigênio

VS = volume sistólico

w = parede torácica

W/D = relação peso úmido/peso seco

ZEEP = pressão ao final da expiração igual a zero

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A lesão pulmonar aguda (LPA) e a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) são problemas de saúde pública (FRUTOS-VIVAR 2004). A incidência da LPA/SDRA varia regionalmente, sendo mais alta nos Estados Unidos (17-64 para cada 100.000 habitantes/ano) do que na Europa, Austrália, e outros países desenvolvidos (17-34 para cada 100.000 habitantes/ano). Sua taxa de mortalidade é de aproximadamente 34-58% (MACCALLUM & EVANS 2005). Apesar dos avanços recentes na terapia de suporte e manejo da ventilação mecânica (VM), recentes revisões sistemáticas demonstram resultados controversos acerca da mortalidade (ZAMBON & VINCENT 2008; PHUA 2009). Mesmo assim, a morbidade e mortalidade nos pacientes criticamente enfermos com LPA/SDRA permanece elevada (DUDEK & BIRUKOV 2005).

A gênese da LPA/SDRA está associada a desordens clínicas com lesão direta ao epitélio alveolar (LPA/SDRA pulmonar) (ex: pneumonia, aspiração gástrica) ou indireta (LPA/SDRA extrapulmonar), ou seja, resultante de uma resposta inflamatória sistêmica lesando primariamente o endotélio capilar (ex: sepse) (MATTHAY 2003; ROCCO & PELOSI 2008). No que tange a LPA/SDRA pulmonar, o envolvimento do parênquima pulmonar é multifocal, há predomínio de colapso alveolar, exsudato fibrinoso e edema alveolar, e uma maior quantidade de fibras colágenas no parênquima pulmonar. Contrariamente, na LPA/SDRA extrapulmonar, a alteração é mais difusa e uniforme devido à distribuição hematogênica dos mediadores inflamatórios. Embora a LPA/SDRA possa decorrer de diferentes etiologias e com

repercussões morfológicas distintas, uma característica comumente encontrada na fase aguda da LPA/SDRA é a alta permeabilidade devido à ruptura da membrana alvéolo-capilar (BERNARD 2005; MATTHAY & ZIMMERMAN 2005; SURATT & PARSONS 2006).

O tratamento da LPA/SDRA exige métodos avançados de suporte de vida, incluindo a VM e as terapias farmacológicas (AMATO 1998; CEPKOVA & MATTHAY 2006). Até o momento, a única estratégia terapêutica que evidenciou redução nas taxas de morbidade (MEADE 2008; MERCAT 2008) e mortalidade (AMATO 1998; NIH 2000; VILLAR 2006) foi a VM com volume corrente (V_T) baixo (6 ml/kg) e pressão de platô menor do que 30 cmH₂O, e eventualmente, a aplicação de manobra de recrutamento alveolar (MR) (MEADE 2008; MERCAT 2008). A MR está associada à melhora da oxigenação (HODGSON 2009) e da mecânica pulmonar (FAN 2008). Por outro lado, a MR pode aumentar a permeabilidade alveolar por exacerbar o dano epitelial (FRANK 2005; VLAHAKIS & HUBMAYR 2005; RIVA 2008) já presente na LPA/SDRA. Adicionalmente, a MR pode comprometer a estabilidade hemodinâmica (FAN 2008) fazendo com que o manejo do estado volêmico nos pacientes com LPA/SDRA seja um desafio.

Com a finalidade de minimizar a instabilidade hemodinâmica associada às MRs, tem sido descrita a utilização de fluidos (BORGES 2006). Entretanto, a quantidade e o tipo do fluido utilizado podem prejudicar as lesões pulmonares e de órgãos periféricos (SCHUSTER 1995; RIVERS 2006). Enquanto a hipoperfusão tecidual pode induzir ou exacerbar a lesão em órgãos periféricos (RIVERS 2006), a balanço hídrico positivo tem sido associada ao aumento do dano pulmonar (JIA 2008; ROSENBERG 2009). Vale ressaltar que a

hipervolemia pode ser acompanhada com alto índice de edema extravascular, dependendo da permeabilidade endotelial. Nesse contexto, a manutenção adequada do estado volêmico parece ser um ponto-chave no manejo da LPA/SDRA.

1.1 CARACTERIZAÇÃO DA LESÃO PULMONAR AGUDA E SÍNDROME DO DESCONFORTO RESPIRATÓRIO AGUDO

1.1.1 CONCEITO E DEFINIÇÃO

O consenso entre as Sociedades Americana e Européia de Pneumologia e Terapia Intensiva (AECC) estabeleceu os seguintes critérios para definição da LPA: (1) início agudo, (2) infiltrado bilateral difuso à radiografia de tórax, (3) pressão capilar pulmonar $\leq 18\text{mmHg}$ ou ausência de evidências clínicas de falência cardíaca esquerda, e (4) índice de oxigenação (relação entre pressão parcial de oxigênio arterial e fração inspirada de oxigênio [$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$]) ≤ 300 , qualquer que seja o nível de pressão positiva expiratória final (PEEP) utilizado. Os quadros mais graves, caracterizados por $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 200$, seriam denominados de SDRA (BERNARD 1994). Essa definição vem permitindo melhor comparação, compreensão e padronização nos estudos clínicos da LPA/SDRA (ARTIGAS 1998; WIEDEMANN 2006). Os pacientes que são diagnosticados com base na tabela da AECC respondem as terapias específicas, como por exemplo, redução do V_T (NIH 2000) e estratégia conservadora de administração de fluidos (WIEDEMANN 2006), com melhora do prognóstico e redução da mortalidade.

1.1.1 FISIOPATOLOGIA DA LESÃO PULMONAR AGUDA

A LPA/SDRA é caracterizada por alteração da permeabilidade alvéolo-capilar associada à microatelectasias, congestão vascular, hemorragia, edemas intersticial e intra-alveolar rico em proteína, formação de membrana hialina revestindo a superfície alveolar, e fibrose (SCHUSTER 1995; GUNTHER 2001).

Vários fatores podem acarretar a LPA/SDRA, lesando primariamente o epitélio alveolar (aspiração de conteúdo gástrico, pneumonia) ou através de liberação de mediadores inflamatórios lesando primariamente o endotélio capilar (sepse, pancreatite, circulação extra-corpórea) (PELOSI 2003; ROCCO & PELOSI 2008). Após o insulto direto, o dano ao epitélio alveolar acarreta edema alveolar, redução da depuração do fluido presente na luz alveolar, diminuição da produção e *turnover* do surfactante e fibrose pulmonar (WARE & MATTHAY 2000). Após o insulto indireto, o dano ao endotélio microvascular induz edema intersticial e infiltração neutrofílica (ROCCO & PELOSI 2008). Independentemente da etiologia da LPA/SDRA, a lesão da membrana alvéolo-capilar é seguida de transudação de proteínas plasmáticas para o espaço alveolar e representa uma característica comum de sua fisiopatologia (MATTHAY & ZIMMERMAN 2005; SURATT & PARSONS 2006).

1.1.2 PROCESSO INFLAMATÓRIO NA LESÃO PULMONAR AGUDA

O recrutamento de células inflamatórias para o pulmão após a injúria tem sido observado tanto em humanos quanto em modelos experimentais de LPA/SDRA. Dentre as principais células inflamatórias, destaca-se o neutrófilo (SURATT & PARSONS 2006). Embora a inflamação alveolar seja uma característica comum na LPA/SDRA, o tratamento com agentes anti-

inflamatórios em humanos não evidenciou redução na mortalidade (OPAL 2010).

Um número variado de citocinas e quimiocinas comumente relacionadas à LPA/SDRA pode tornar o neutrófilo mais rígido e menos capaz de se deformar experimentalmente, dificultando sua passagem através do endotélio pulmonar (WORTHEN 1989; ERZURUM 1992; LAVKAN 1998). Sabendo que o capilar pulmonar tem em torno de 5-6 μ m, e o neutrófilo em torno de 7-9 μ m (WORTHEN 1989), qualquer aumento na rigidez de neutrófilos pode gerar disfunção da microcirculação pulmonar. De fato, isso foi demonstrado em pacientes com SDRA, cuja capacidade de deformação neutrofílica encontrava-se menor quando comparada com indivíduos saudáveis (SKOUTELIS 2000). Esse fator foi associado com aumento nos níveis circulatórios de citocinas pró-inflamatórias, tais como, fator de necrose tumoral (TNF)- α associado à ativação do fator de transcrição nuclear (NF)- κ B.

O NF- κ B é um fator de regulação transcricional com atividade pró-inflamatória e está implicado no desenvolvimento da LPA/SDRA (BLACKWELL 1996; EVERHART 2006). Especificamente, ele regula a transcrição de interleucina-1 β (IL-1 β), IL-8 e TNF- α , que estão aumentados nos fluidos biológicos de pacientes com LPA/SDRA (PILLET 1997). A IL-8 é uma citocina que induz a quimiotaxia de células inflamatórias, em particular, de neutrófilos. Já a IL-6 é uma citocina que é tanto um marcador quanto um mediador da sepse. Altos níveis basais de IL-8 e IL-6 se encontram elevados na LPA/SDRA (NIH 2000) e estão associados com alta morbidade e mortalidade.

Embora haja um aumento individual de citocinas tais como TNF- α e IL-1 β antes e após o início da LPA/SDRA, altos níveis de inibidores endógenos,

tais como antagonistas de receptor IL-1 β e receptores solúveis de TNF- α têm sido encontrados no plasma de pacientes com LPA/SDRA (PARK 2001). Além disso, constatou-se correlação positiva entre os níveis de IL-8/anti-IL-8 com o curso da doença de pacientes com LPA/SDRA quando comparado com os níveis isolados de IL-8 (KURDOWSKA 2001). A melhor relação do complexo IL-8/anti-IL-8 com a evolução da doença estaria relacionada ao aumento da meia vida desta citocina, pois a anti-IL-8 poderia atuar como uma proteína carreadora, perpetuando seus efeitos pró-inflamatórios (FINKELMAN 1993). Independentemente dos resultados supracitados, até o momento, não se chegou a um consenso sobre quais citocinas estão envolvidas no prognóstico dos pacientes com LPA/SDRA.

1.1.3 SEPSE COMO FATOR INDUTOR DA LESÃO PULMONAR AGUDA

A sepse é uma síndrome clínica que resulta de uma síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS) ocasionada por um surto infeccioso extravascular ou intravascular (MATTHAY 2003; ANNANE 2005; RUSSELL 2006). A disfunção microvascular através da alta permeabilidade levando a perda da função de barreira tanto dos vasos sistêmicos quanto dos pulmonares é o evento chave da fisiopatologia da sepse (RIEDEMANN 2003; BARON 2006). Além disso, as alterações extracelulares, celulares e metabólicas são fatores adicionais à fisiopatologia vascular da sepse.

Os mecanismos celulares e moleculares que direcionam as respostas imunológicas na sepse e influenciam suas interações com o sistema hemostático são complexos. A principal célula envolvida na sepse como fator indutor da LPA, é a célula endotelial. As interações entre as células endoteliais ativadas ou lesadas e os leucócitos mielóides circulantes contribuem para o

seqüestro desses para os pulmões e para os alvéolos (REUTERSHAN & LEY 2004; REUTERSHAN 2006). Esse seqüestro quase sempre acontece através da expressão exagerada de moléculas de adesão, como por exemplo, ICAM-1 e VCAM-1 (CLARK 2007), sendo a primeira, ligante a integrina LFA-1 e a segunda, ligante da integrina VLA-4. Durante esse processo, as quimiocinas (TNF- α , IL-1) ativam os leucócitos circulantes, levando ao processo de ativação de LFA-1 e VLA-4, que os convertem de uma situação de baixa para alta afinidade. Essa conversão leva à firme união de leucócitos a células endoteliais e ao processo de diapedese tanto de leucócitos quanto de neutrófilos. Nesse contexto, o acúmulo dessas células nos alvéolos de pacientes com LPA induzida por sepse parece influenciar o prognóstico clínico (MATTHAY 2003). A contagem de neutrófilos no BALF de pacientes com LPA/SDRA tende a ser mais alta nas primeiras duas semanas após o início do quadro séptico naqueles indivíduos que morreram quando comparados com aqueles que sobreviveram (STEINBERG 1994). Com esse intenso recrutamento de células inflamatórias em direção ao parênquima pulmonar, principalmente, naqueles pacientes mais graves, a membrana alvéolo-capilar pode apresentar rupturas significativas. Tendo em vista a alteração estrutural da barreira microvascular, juntamente com a instabilidade hemodinâmica ocasionada pela liberação de diversos mediadores inflamatórios na corrente sanguínea durante o curso da sepse (RUSSELL 2006), a restauração volêmica passa a ter extrema importância.

1.2 RESTAURAÇÃO VOLÊMICA NA LPA/SDRA INDUZIDA POR SEPSE

A LPA/SDRA, principalmente de origem extrapulmonar, está usualmente associada à instabilidade hemodinâmica, necessitando de terapia de suporte

para a manutenção dos níveis pressóricos. Nesse contexto, a restauração volêmica tem um papel importante na mortalidade hospitalar. Sakr e colaboradores demonstraram que pacientes com SDRA que evoluíram com alta mortalidade em unidade de terapia intensiva (UTI) apresentaram balanço hídrico positivo nas primeiras 96 horas de internação comparado àqueles com balanço negativo (SAKR 2005). Em um ensaio clínico multicêntrico, prospectivo e randomizado (*Fluid and catheter Treatment Trial*) (FACTT) (WIEDEMANN 2006) demonstrou-se que a administração conservadora de fluidos associada ao uso de diuréticos e inotrópicos positivos, melhorou a função pulmonar reduzindo o número de dias em VM e internação na UTI. Porém, não houve diferença significativa na mortalidade mensurada no 60º dia. Um recente estudo retrospectivo confirmou pior prognóstico quando o balanço hídrico encontrado era positivo nas primeiras 48-96 horas (ROSENBERG 2009). Entretanto, ambos os estudos não analisaram especificamente pacientes com LPA/SDRA com choque circulatório, que em contrapartida, se beneficiam de uma reposição maciça de fluidos em um curto espaço de tempo (~5,0L nas primeiras 6 horas) (RIVERS 2001). Com base na *surviving sepsis campaign* (DELLINGER 2008), permanece a indicação pela reposição maciça de fluidos, quando há a presença de hipoperfusão periférica, caracterizada por hipotensão e níveis de lactato plasmático > 4 mmol/L. Por outro lado, quando estes parâmetros não estão alterados, indica-se a administração conservadora de fluidos por uma conduta similar àquela adotada pelo estudo FACTT. Em um recente estudo retrospectivo, Murphy e colaboradores (MURPHY 2009) decidiram determinar a relação de duas estratégias: a ressuscitação inicial adequada de fluidos (RIAF) e a administração conservadora tardia de fluidos

(ACTF) em pacientes com choque séptico na mortalidade hospitalar. Demonstrou-se que aqueles pacientes sépticos com LPA/SDRA em que essas duas estratégias puderam ser adotadas tiveram redução significativa da mortalidade. Além disso, observou-se um efeito aditivo dessas duas estratégias, ou seja, caso somente uma delas fosse alcançada a mortalidade se apresentava intermediária, e, por fim, naqueles pacientes em que nenhuma das duas estratégias pôde ser adotada houve a maior taxa de mortalidade. Esses dois estudos multicêntricos, um prospectivo e outro retrospectivo, sugerem a importância do balanço negativo em pacientes com LPA/SDRA sem choque circulatório.

Para promover a estabilidade hemodinâmica e garantir a adequada perfusão periférica, cristalóides e colóides vêm sendo utilizados. Os cristalóides podem promover extravasamento de fluidos nos pulmões, particularmente em situações de alta permeabilidade alveolar e formação de edema pulmonar, já que eles tendem, teoricamente, a reduzir a pressão colóido-osmótica (PCO). Além disso, quanto maior o grau de lesão da membrana alvéolo-capilar, maior é a permeabilidade, elevando o risco de inflamação pulmonar e de órgãos periféricos. Por outro lado, o colóide pode diminuir o extravasamento de fluidos no pulmão e a formação de edema pulmonar, pela elevação da PCO. Além disso, para alcançar a estabilidade hemodinâmica é necessária uma maior quantidade de cristalóides do que de colóide, aumentando o risco de indução de edema (MOON 1996). Entretanto, caso a lesão alvéolo-capilar seja intensa, as próprias moléculas sintéticas podem induzir edema intersticial e alveolar, pelo bloqueio das vias linfáticas. Esse mecanismo de escape parece ser mais dependente do diâmetro hidrodinâmico da molécula do que do próprio peso

molecular (OLIVER 1992). Além disso, a instauração da VM pode exacerbar esse mecanismo de bloqueio de fluidos, perpetuando a piora da drenagem do edema alveolar (PELOSI 2008).

1.3 ESTRATÉGIA VENTILATÓRIA NA LPA/SDRA

A despeito de salvar vidas, a VM pode exacerbar ou mesmo induzir lesão pulmonar, condições referidas como lesão pulmonar associada à ventilação mecânica (VALI) ou lesão pulmonar induzida pelo ventilador (VILI), respectivamente (HALBERTSMA 2005). Estudos demonstraram que a VILI/VALI é funcionalmente e histologicamente indistinguível da LPA/SDRA (TSUNO 1991; PARKER 1993). O reconhecimento desta semelhança entre VILI e LPA/SDRA levou vários investigadores a sugerir que essa pode ser, em parte, decorrente do manejo ventilatório inadequado (RUBENFELD 2003; HAN 2005; DOS SANTOS & SLUTSKY 2006). Os pacientes com LPA/SDRA freqüentemente apresentam vários fatores que predisõem à ocorrência da VILI/VALI (disfunção de surfactante, doença pulmonar subjacente, nutrição inadequada, toxicidade pelo oxigênio, infecção, atelectasias e edema alveolar) e prejudicam a capacidade de auto-reparação pulmonar frente ao dano ocorrido (GAMMON 1995; SLUTSKY & TREMBLAY 1998; IMAI & SLUTSKY 2005).

A VILI/VALI pode ser induzida por efeitos diretos da VM sobre o parênquima pulmonar, sendo os fatores desencadeantes bem definidos, tais como, *barotrauma*, *volutrauma* e *atelectrauma* (DOS SANTOS & SLUTSKY 2006). Além desses, o fator vascular parece estar envolvido na indução e perpetuação da VILI/VALI (MARINI 2004), enfatizando-se que este não estaria

relacionado com o manejo da VM, mas sim com a passagem e a pressão gerada pelo fluido no endotélio pulmonar. Esse mecanismo foi primeiramente descrito pelo grupo do West (FU 1992; BACHOFEN 1993; WEST 2000), como uma forma de indução de lesão da barreira alvéolo-capilar.

Nesse contexto, Broccard e colaboradores (BROCCARD 1998) observaram que o fluxo vascular pulmonar poderia ocasionar piora da lesão pulmonar em um pulmão já lesado por altos níveis de pressão transpulmonar. Adicionalmente, Guery e colaboradores (GUERY 1998) demonstraram que elevações moderadas das pressões arterial pulmonar e alveolar poderiam acentuar a permeabilidade pulmonar. Em um modelo de lesão unilateral, foi demonstrado aumento da inflamação e edema no pulmão não lesado somente elevando o débito cardíaco e mantendo a pressão transpulmonar em níveis considerados seguros (25-30 cmH₂O) (SCHREIBER 2007). Esse mecanismo parece estar mais associado ao alto fluxo sanguíneo pulmonar do que à elevação da pressão vascular pulmonar (LOPEZ-AGUILAR 2006).

A influência do lado vascular na indução e perpetuação da VILI vem ganhando cada vez mais atenção. Considerando o pulmão como um órgão que primariamente promove troca gasosa e cuja vasculatura está intimamente relacionada à unidade alveolar (parte gasosa), a parte vascular tem uma participação fundamental na modulação das forças de tensão e cisalhamento que atuam entre as células endoteliais e epiteliais, podendo exercer maior ou menor aproximação entre elas. Essas forças podem contribuir para outro mecanismo chamado de *biotrauma* (MARINI 2004; DOS SANTOS & SLUTSKY 2006).

Ao longo dos últimos anos foi demonstrada que a VILI/VALI apresenta não somente dano estrutural ao pulmão, mas também um componente inflamatório, caracterizado pelo aumento na quantidade de células inflamatórias e pela liberação de mediadores ao nível pulmonar e sistêmico (*biotrauma*), fenômenos estes que podem agravar o quadro de lesão pulmonar e, possivelmente, causar disfunção de múltiplos órgãos e sistemas (DMOS) (SLUTSKY & TREMBLAY 1998; PLOTZ 2004; SLUTSKY 2005; DOS SANTOS & SLUTSKY 2006). A maioria dos pacientes com LPA/SDRA vai a óbito por DMOS (DOS SANTOS & SLUTSKY 2006). Existem vários mecanismos pelos quais a VILI pode levar ao desenvolvimento de DMOS, incluindo o *biotrauma*, a translocação de bactérias ou seus produtos do pulmão e os fatores pró-apoptóticos circulantes (PLOTZ 2004).

Uma forma de conter o avanço da lesão induzida pelo ventilador mecânico na indução e/ou perpetuação da LPA/SDRA, seria promover uma ventilação mais homogênea ao longo do gradiente vertical dependente da gravidade. Existem várias técnicas que podem promover uma ventilação mais homogênea na tentativa de minimizar a ocorrência da VILI/VALI, dentre elas: manobras de recrutamento, PEEP, posição prona (VALENZA 2005), óxido nítrico (TAKENAKA 2006) e estratégia ventilatória assistida (SADDY 2010) .

A MR está associada à melhora da oxigenação (HODGSON 2009) e da mecânica pulmonar (FAN 2008). Por outro lado, a MR pode afetar a permeabilidade alveolar por exacerbar o dano epitelial (FRANK, 2005; VLAHAKIS & HUBMAYR, 2005; RIVA, 2008) ou endotelial (FU 1992) já presente na LPA/SDRA. Nesse contexto, de Prost e colaboradores (DE PROST 2007) demonstraram que a ventilação com pressão de via aérea maior que 25

cmH₂O aumentou, imediatamente, a permeabilidade microvascular pulmonar. Ademais, as manobras de recrutamento reduzem o débito cardíaco (DC) (NIELSEN 2006; FAN 2008) e, por conseguinte, o fluxo sanguíneo pulmonar. O comprometimento do DC decorre do aumento da pressão intrapleural e indução do colapso de veia cava superior em uma situação de hipovolemia (VIEILLARD-BARON 2001), proporcionando o aparecimento de zonas II e uma diminuição de zonas III na circulação pulmonar (PERMUTT 1962). Logo, associando-se esses efeitos deletérios da manobra de recrutamento sobre o sistema cardiovascular, induzindo instabilidade hemodinâmica e elevando a permeabilidade vascular (HALBERTSMA 2010), a monitorização hemodinâmica é altamente recomendada.

1.4 MONITORIZAÇÃO HEMODINÂMICA NA LPA/SDRA

Até o momento, não se sabe a terapia ideal para induzir a estabilidade hemodinâmica em pacientes com SDRA ventilados com estratégia ventilatória protetora. A meta clínica usualmente é atingir a estabilidade hemodinâmica, às custas da adequação dos valores de pressão arterial média, sem se preocupar com a água extravascular pulmonar nem com a lesão em órgãos distais. Há evidências que demonstram a superioridade de parâmetros hemodinâmicos derivados de índices volumétricos sobre parâmetros convencionais (SAKKA 1999; DELLA ROCCA 2002a; DELLA ROCCA 2002b).

Nesse contexto, a monitorização hemodinâmica contínua é altamente recomendada. Entretanto, as mensurações hemodinâmicas convencionais fornecidas pelo cateter de artéria pulmonar, tais como a pressão de oclusão da artéria pulmonar (POAP), têm sido associadas como pobres indicadores de enchimento cardíaco em doentes criticamente enfermos ventilados

mecanicamente (CHEATHAM 1998). Em 2006, realizou-se o estudo FACTT com o intuito de estabelecer as diretrizes da monitorização hemodinâmica em pacientes graves ventilados mecanicamente (WIEDEMANN 2006). Os autores concluíram que a monitorização hemodinâmica com o cateter de artéria pulmonar [onde o débito cardíaco (DC) e a pressão de oclusão da artéria pulmonar (POAP) eram mensurados] não forneceu nenhum benefício quando comparada com índices menos complicados tais como a medida de pressão venosa central (PVC). Por outro lado, existem vários métodos novos que poderiam ser incorporados no manejo de pacientes criticamente enfermos internados na Terapia Intensiva. Nesse contexto, estudos experimentais (LICHTWARCK-ASCHOFF 1996) e clínicos (PREISMAN 1997; SAKKA 2000) sugerem que a medida do índice do volume sanguíneo intratorácico (ITBVI) seja superior às outras variáveis usualmente utilizadas para acessar o volume circulatório. O índice do volume global ao final da diástole (GEDVI) e o índice do volume de sangue intratorácico (ITBVI) estão diretamente relacionados ao volume diastólico final das câmaras cardíacas, logo esses valores atuariam como parâmetros de pré-carga. Avaliando-se esses estudos, observa-se que o ITBVI tem uma sensibilidade maior do que as outras variáveis, como por exemplo, POAP para avaliar o desempenho cardíaco (SAKKA 1999; DELLA ROCCA 2002a; DELLA ROCCA 2002b; HOFER 2006). Michard e colaboradores (MICHARD 2003) submeteram 36 pacientes com choque séptico a fluidos e inotrópicos positivos e foram mensurados os valores de GEDVI e PVC. Foi demonstrado que as variações do GEDVI apresentaram correlação positiva com o volume sistólico, ao passo que a variação da PVC não foi significativa. Além disso, o aumento do DC não foi acompanhado com aumento

de GEDVI. Esse resultado é importante, porque o GEDVI e DC compartilham de uma variável comum; o próprio DC. Logo, esperar-se-ia uma correlação pelo acoplamento matemático entre elas, porém isso não aconteceu (MCLUCKIE & BIHARI 2000). Em relação ao ITBVI, foi demonstrada que a sua variação é um bom preditor de respostas hemodinâmicas em pacientes sem disfunção cardíaca (COMBES 2004). Entretanto, o mesmo tipo de resposta não ocorre em pacientes com insuficiência ventricular direita. Analisando esses estudos, chega-se a conclusão de que o ITBVI apresenta uma melhor correlação do que a POAP no que concerne o desempenho cardíaco, mesmo apresentando índices de relação em torno de 0,5.

JUSTIFICATIVAS

2 JUSTIFICATIVAS

A estratégia ventilatória protetora caracteriza-se por diminuição do V_T (6 ml/kg), nível moderado a alto de PEEP e, eventualmente, aplicação de manobras de recrutamento. Essa conduta tem demonstrado efeitos benéficos na morbidade e mortalidade de pacientes com LPA/SDRA internados em UTI (AMATO, 1998; NIH, 2000; VILLAR, 2006). Ademais, demonstrou-se que altos níveis de PEEP podem diminuir a mortalidade em um subgrupo mais grave de pacientes com LPA/SDRA (BRIEL 2010). Por outro lado, sabe-se que a lesão pulmonar aguda/síndrome do desconforto respiratório aguda cursa com elevada permeabilidade da membrana alvéolo-capilar (FU 1992; HOTCHKISS 2002), e que a MR *per se* pode provocar lesões epiteliais e ou endoteliais (FU 1992; HOTCHKISS 2002; RIVA 2008), agravando o quadro de extravasamento de fluidos. Nesse contexto, até o momento, não se sabe os efeitos da manobra de recrutamento sobre uma unidade alvéolo-capilar com alta permeabilidade e submetida à estratégia conversadora ou liberal de fluidos. A hipótese do estudo foi que o estado volêmico poderia potencializar os possíveis efeitos deletérios da manobra de recrutamento no pulmão e em órgãos periféricos em um modelo de LPA de etiologia extrapulmonar. Os efeitos da manobra de recrutamento foram avaliados em presença de diferentes níveis de volemia (hipovolemia, normovolemia e hipervolemia) em um modelo de LPA induzido por ligadura e perfuração de ceco (ANEXO 1). Demonstrou-se que a hipervolemia induziu como também potencializou a lesão pulmonar após a MR. Esse estudo (ANEXO 1) está inserido em um contexto onde o melhor prognóstico dos pacientes com LPA/SDRA está associado a um estado entre hipovolemia e normovolemia, mantendo-se adequada perfusão periférica

(SAKR 2005; WIEDEMANN 2006; ROSENBERG 2009). Entretanto, para que tal volemia seja mantida a longo prazo, é necessário o uso de índices hemodinâmicos com maior acurácia. Ademais, diferentes fluidos devem ser avaliados com o intuito de não promover sobrecarga hídrica. Nesse contexto, para estabilizar a hemodinâmica e manter a perfusão periférica em níveis seguros, cristalóides e colóides vêm sendo utilizados. No entanto, a indicação de um em detrimento de outro é alvo de intenso debate na literatura (ATS 2004; PEREL & ROBERTS 2007; BUNN 2008; BOLDT 2009; HARTOG & REINHART 2009; SANTRY & ALAM 2010). Supõe-se que a restauração com cristalóide possa ocasionar maior grau de edema com concomitante piora da função pulmonar comparada com colóides. Logo, justifica-se uma investigação laboratorial criteriosa para avaliar os efeitos da restauração volêmica conservadora com cristalóide ou colóide sobre o pulmão e órgãos periféricos, em presença de hipovolemia moderada. Foram utilizadas técnicas modernas de monitorização hemodinâmica e o uso de soluções frequentemente utilizadas na prática clínica para a restauração volêmica, tais como: Ringer Acetato (RA), Gelafundin (GEL) e hidroxietil starch (HES).

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 PRIMEIRO ESTUDO

3.1.1 OBJETIVO GERAL

Comparar os efeitos no pulmão e em órgãos periféricos da manobra de recrutamento (CPAP 40 cmH₂O por 40 segundos) em diferentes níveis de volemia na lesão pulmonar aguda induzida por ligadura e perfuração de ceco em ratos.

3.1.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Avaliar as repercussões da MR em diferentes níveis de volemia sobre os seguintes parâmetros:

- Troca gasosa (PaO₂/FiO₂);
- Mecânica pulmonar [elastância estática pulmonar (Est, L)];
- Histologia pulmonar (microscopias de luz e eletrônica);
- Edema pulmonar [análise da relação peso úmido/peso seco (W/D) do pulmão];
- Expressão pulmonar de mediadores inflamatórios (IL-6, IL-1 β , ICAM-1 e VCAM-1), fibrogênicos (PCIII) e apoptóticos (caspase-3);
- Quantificação de células apoptóticas no pulmão, fígado, rim e intestino.

3.2 SEGUNDO ESTUDO

3.2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o impacto de três fluidos para estabilização hemodinâmica (RA, GEL e HES) no pulmão em modelo experimental de LPA induzido por depleção de surfactante associada a VILI em porcos.

3.2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Comparar as repercussões de três fluidos para estabilização hemodinâmica (RA, GEL e HES) sobre os seguintes parâmetros:

- Troca gasosa;
- Mecânica pulmonar;
- Hemodinâmicos, incluindo o índice de volume sanguíneo intratorácico (ITBVI) e o índice de água extravascular (EVLWI);
- Edema pulmonar (relação W/D do pulmão).

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 PRIMEIRO ESTUDO

4.1.1 ANIMAIS UTILIZADOS

Foram utilizados sessenta e seis ratos Wistar machos previamente saudáveis adultos (270-300 g), oriundos 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 o guia preparado pelo Comitê de cuidados e uso dos animais de laboratório do Conselho Nacional de Pesquisas dos Estados Unidos da América (U.S. Department of Health and Human Care Services, 1985). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no uso de animais do Centro de Ciências da Saúde (CEUA-CCS-019) da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

4.1.2 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Sessenta e seis ratos Wistar machos (300-350 g) foram mantidos sob condições livres de infecções no biotério do Laboratório de Investigação Pulmonar, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Trinta e seis ratos foram submetidos à análise morfofuncional (mecânica e histologia pulmonares) e estudo da biologia molecular, enquanto trinta animais foram utilizados para análise da relação W/D.

Os animais foram submetidos a jejum por 16 horas antes do procedimento cirúrgico. Após esse período, a sepse foi induzida por ligadura e perfuração de ceco (CLP) como descrito em estudos prévios (HUBBARD 2005; OLIVEIRA 2009). Os animais foram anestesiados com sevoflurano e uma

laparotomia infra-abdominal medial (2 cm de incisão) foi realizada. O ceco foi cuidadosamente isolado a fim de evitar lesão aos vasos sanguíneos e um fio de sutura (Nylon 3-0, ETHICON®, Alemanha) foi envolto abaixo da válvula ileocecal a fim de prevenir obstrução intestinal. Em seguida, o ceco foi perfurado duas vezes com uma agulha de 18 G (OLIVEIRA 2009). Posteriormente, realizou-se sutura em planos (Nylon 3-0, ETHICON®, Alemanha). Logo após a cirurgia, cada animal recebeu injeção subcutânea de salina estéril morna (37°C) e hidrocloreto de tramadol (20 mg/kg peso corporal).

A figura 1 ilustra as intervenções ao longo do experimento. Quarenta e oito horas após a cirurgia de CLP, os animais foram sedados [diazepam 5 mg, intraperitonealmente (i.p.)], pesados (balança Filizola, modelo BR, fabricado por Indústrias Filizola AS, SP, Brasil) e, em seguida, anestesiados com tiopental [Tiopental sódico (20 mg/kg, i.p.)]. Essa dose é suficiente para manter o animal em plano anestésico (supressão do reflexo córneo-palpebral) por 1 h, quando, então, uma nova dose (metade da anterior) de tiopental [Tiopental sódico (20 mg/kg, i.p.)] era administrada. Os animais em plano anestésico foram colocados em uma pequena mesa sob foco cirúrgico em decúbito dorsal, sendo seus membros fixados por esparadrapo. Os membros superiores foram mantidos em abdução a 90 graus em relação ao corpo e os membros inferiores estendidos em diagonal. Os pelos da região torácica e abdominal foram gentilmente raspados com uma navalha, sem ocasionar dano à epiderme. Após o posicionamento, 0,3 ml de xilocaína (2%) foi injetada no subcutâneo e uma incisão longitudinal, medial, de aproximadamente 2 cm de extensão foi realizada na face ventral no pescoço seguida de divulsão dos tecidos até a exposição completa do terço inicial da traquéia.

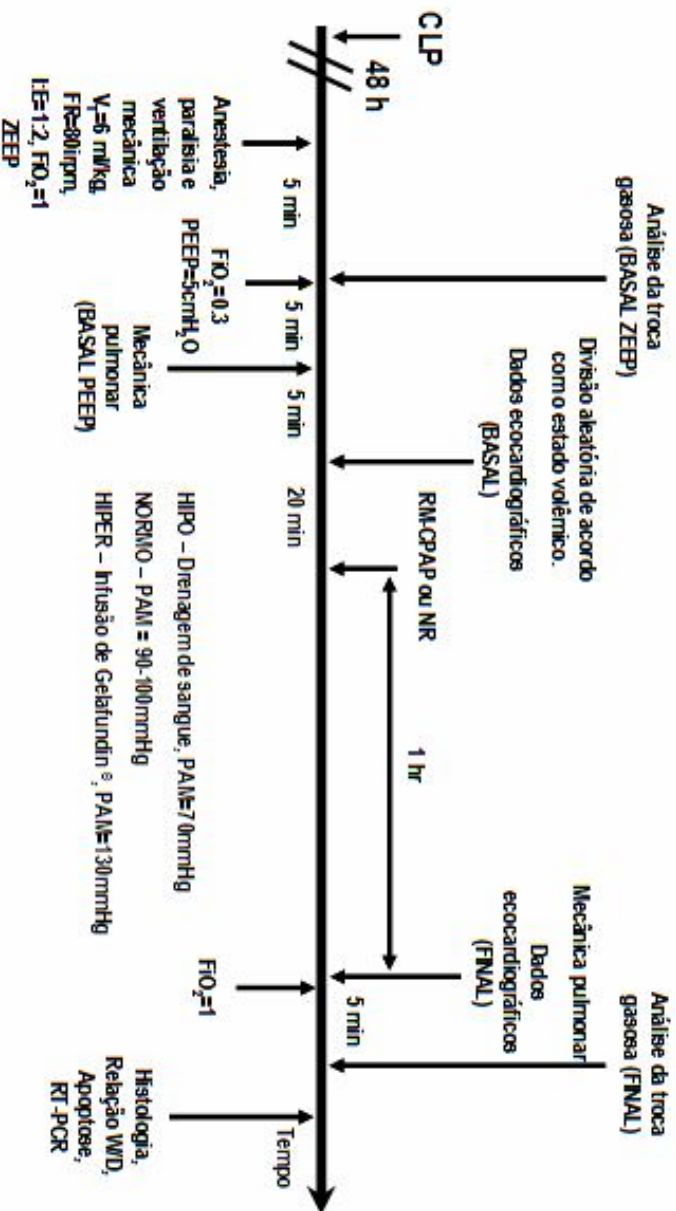


Figura 1. Escala temporal do experimento; CLP: Ligadura e perfuração de ceco; ZEEP: Pressão ao final da expiração igual a zero; PEEP: Pressão positiva ao final da expiração; FIO₂: fração inspirada de oxigênio; FR: frequência respiratória; V_t: volume corrente; I:E: relação inspiratória e expiratória; W/D: relação peso úmido/peso seco; RT-PCR: Transcrição Reversa - Reação em cadeia de polimerase; NR: Sem recrutamento; RM-CPAP: Manobra de Recrutamento por pressão positiva contínua de via aérea de 40 cmH₂O por 40 segundos.

A seguir, pela traqueotomia, uma cânula de polietileno (PE 240, Intramedic[®], Clay-Adams Inc., Nova York, EUA) com 1,5 mm diâmetro interno e 7,5 cm de comprimento foi introduzida na traquéia, sendo esta fixada na porção proximal por meio de fios de algodão.

Subseqüentemente, a artéria carótida comum foi dissecada e um cateter de polietileno (PE-10) foi introduzido para a retirada seriada de sangue arterial e monitorização da pressão arterial média através de um transdutor líquido (SCIREQ, Montreal, Canada) situado no mesmo nível do coração. A veia jugular externa também foi dissecada e canulada por um Jelco[®] (24G) para infusão de anestésicos e fluidos.

A cânula traqueal foi conectada a um pneumotacógrafo para pequenos animais, como descrito por Mortola e Noworaj (1983), para medida de fluxo aéreo (V'). Esse 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.

A diferença de pressão (ΔP) através do pneumotacógrafo foi determinada utilizando-se um transdutor diferencial de pressão (UT-PDP-02, SCIREQ, Montreal, QC, 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' . O volume corrente (V_T) mobilizado foi obtido por integração digital do sinal de fluxo.

Através de outra saída lateral, a via aérea foi conectada a outro transdutor diferencial de pressão (UT-PDP-300, SCIREQ, Montreal, Canadá) para medida da pressão traqueal (P_{tr}).

No esôfago dos animais, foi introduzido um cateter de polietileno (PE 240) de 20 cm de comprimento e 1,7 mm de diâmetro interno, com pequenos orifícios em sua extremidade distal, preenchido com água deionizada. O cateter foi introduzido até o estômago e retrocedido lentamente até atingir o terço inferior do esôfago. Sua extremidade proximal foi, então, conectada a um transdutor líquido (UT-PL-400, SCIREQ, Montreal, Canadá) para medida da pressão esofagiana (P_{es}), 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) (MILIC-EMILI 1964a; MILIC-EMILI 1964b). A medida da pressão esofagiana foi realizada para decompor o sistema respiratório em pulmão e parede torácica.

O correto posicionamento do cateter esofágico foi determinado pelo “teste de oclusão” conforme proposto por Baydur e colaboradores, em 1982 (BAYDUR 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 devem exceder 5%. O cateter esofágico era lavado periodicamente com água deionizada, para evitar que a presença de secreções na luz do cateter pudesse comprometer as medidas da pressão (Figura 2).

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.

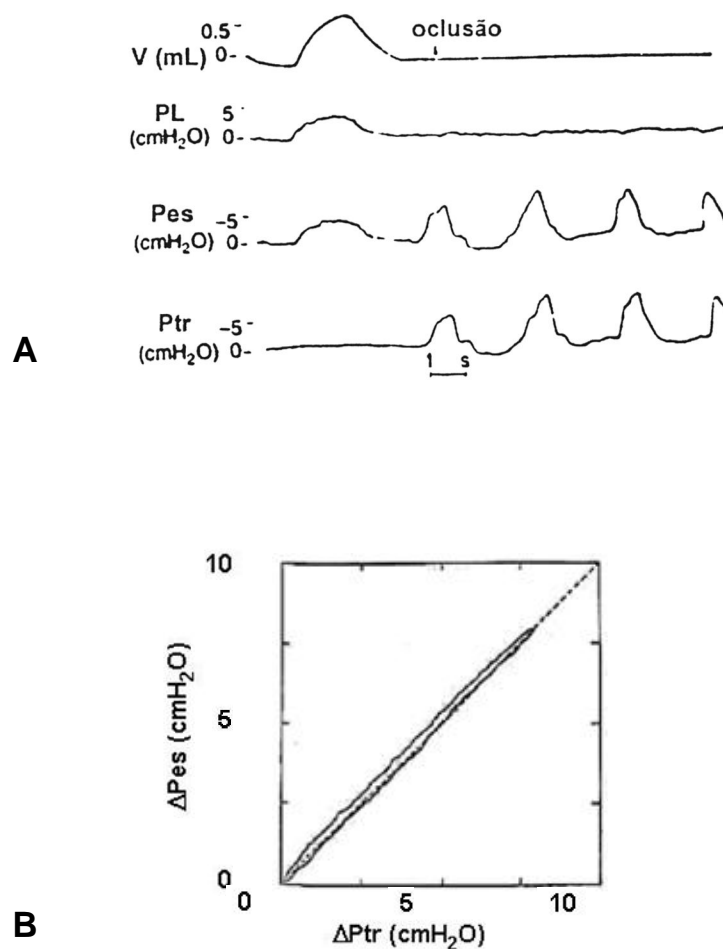


Figura 2. Teste de oclusão para posicionamento do cateter esofágiano. A. Traçados de volume (V), pressão transpulmonar (PL), pressão esofágiana (Pes) e pressão traqueal (Ptr) durante o “teste de oclusão”. B. Variação de Ptr (ΔP_{tr}) por variação de Pes (ΔP_{es}). $\Delta P_{es} - \Delta P_{tr} < 5\%$.

Os animais tiveram a sua musculatura paralisada após a administração de brometo de vecurônio (2 mg/kg, intravenoso iv) e a VM foi instituída por um ventilador mecânico microprocessado para adultos e neonatos (Servo i, MAQUET, Suíça) acoplado a outra extremidade do pneumotacógrafo. O modo ventilatório selecionado foi ventilação controlada a volume com V_T de 6 ml/kg

de peso corporal, frequência respiratória (FR) de 80 incursões respiratórias por minuto (irpm), relação tempos inspiratório-expiratório (I:E) de 1:2, fração inspirada de oxigênio (FiO_2) = 1 e pressão ao final da expiração ajustada para 0 cmH_2O (ZEEP). Os animais foram ventilados por 5 minutos nesses parâmetros e então uma amostra de sangue arterial (300 μl) foi coletada do cateter inserido na carótida comum através de seringa previamente heparinizada para as medidas da pressão parcial de oxigênio arterial (PaO_2), pressão parcial de dióxido de carbono arterial ($PaCO_2$) e pH arterial (pHa). O sangue coletado foi depositado em cartucho específico (*biosensor EG7[®]*, Laboratório Abbot, Illinois, EUA), que, por sua vez, foi introduzido no analisador de gases i-STAT[®] (Laboratório Abbot, Illinois, EUA) para análise da gasometria sanguínea arterial. Esses dados constituem os valores basais em ZEEP (BASAL-ZEEP). Logo após a coleta do sangue arterial, os parâmetros ventilatórios foram ajustados para: V_T = 6 ml/kg de peso corporal, FR = 80 irpm, PEEP = 5 cmH_2O e FiO_2 = 0,3 (Figura 1). Os animais foram ventilados por 5 minutos nesses parâmetros e os dados de mecânica pulmonar foram adquiridos (BASAL).

4.1.3 CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS.

Após a aquisição dos dados basais (BASAL-ZEEP e BASAL), os animais foram divididos aleatoriamente nos seguintes grupos: 1) Hipovolemia (HIPO); 2) Normovolemia (NORMO) e 3) Hipervolemia (HIPER). Para estabelecer o modelo de hipovolemia a retirada do sangue (0,2 ml a cada 2 min) foi acompanhada de monitorização da pressão arterial média (PAM) bem como de ecocardiografia. Constatamos que níveis pressóricos abaixo de 70 mmHg acarretava óbito em menos de 20 min. Destarte, a PAM=70mmHg foi o menor

valor para que o animal se mantivesse vivo por 1 hora. Além disso, esse nível de PAM foi associado à redução do diâmetro da veia cava inferior. Para desenvolver o modelo de hipervolemia, diferentes taxas de infusão de colóide (Gelafundin) foram utilizadas. Vale ressaltar que tal modelo não foi possível ser realizado com cristalóide, uma vez que os níveis de pressão arterial média não se elevaram. O tempo de indução de hipervolemia foi similar aquele utilizado para o desenvolvimento de hipovolemia. A hipervolemia foi alcançada através de infusão de colóide [Gelafundin® (B. Braun, Melsungen, Alemanha)] a uma taxa de 2 ml/kg de peso corporal/minuto a fim de atingir PAM em torno de 130 mmHg. Com a hipervolemia estabelecida, a taxa de infusão foi reduzida para 1 ml/kg de peso corporal/minuto com o objetivo de manter a PAM constante ao longo do experimento. A normovolemia foi monitorizada pela manutenção da PAM em torno de 100 mmHg. O nível de anestesia bem como a quantidade de sedativo foi comparável entre os grupos.

O estado volêmico dos animais também foi avaliado durante o experimento utilizando-se ecocardiografia realizada por um cardiologista experiente no manejo de pequenos animais.

Após o estabelecimento do estado volêmico (20 minutos), os animais foram submetidos à MR pulmonar, que consistiu na aplicação de pressão positiva contínua nas vias aéreas (CPAP) de 40 cmH₂O por 40 segundos (RM-CPAP), ou não (NR) (n=6/grupo) (Figura 3). A seguir, os ratos foram ventilados mecanicamente com estratégia protetora por 1 hora, com os seguintes parâmetros: $V_T = 6$ ml/kg de peso corporal, $FR = 80$ irpm, $PEEP = 5$ cmH₂O e $FiO_2 = 0,3$. No final do experimento, os dados da mecânica pulmonar foram adquiridos (FINAL) e a FiO_2 foi ajustada para 1, sendo os animais ventilados

por 5 minutos. Após esse período, 300 µl de sangue arterial foi coletado do cateter inserido na carótida comum para as medidas finais (FINAL) de troca gasosa (PaO_2 , PaCO_2 e pHa). No final do experimento, os animais foram sacrificados através de secção de veia cava inferior e aorta abdominal, o que os levou à morte sem sofrimento.

As medidas de ecocardiografia, mecânica pulmonar, análise da histologia por microscopia de luz e a análise de peso úmido/peso seco foram realizadas no Laboratório de Investigação Pulmonar, a análise da biologia molecular do parênquima pulmonar foi realizada no Laboratório de Fisiologia Celular e Molecular, do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (UFRJ), e as análises da histologia por microscopia eletrônica e a quantidade de células apoptóticas foram realizadas no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP).

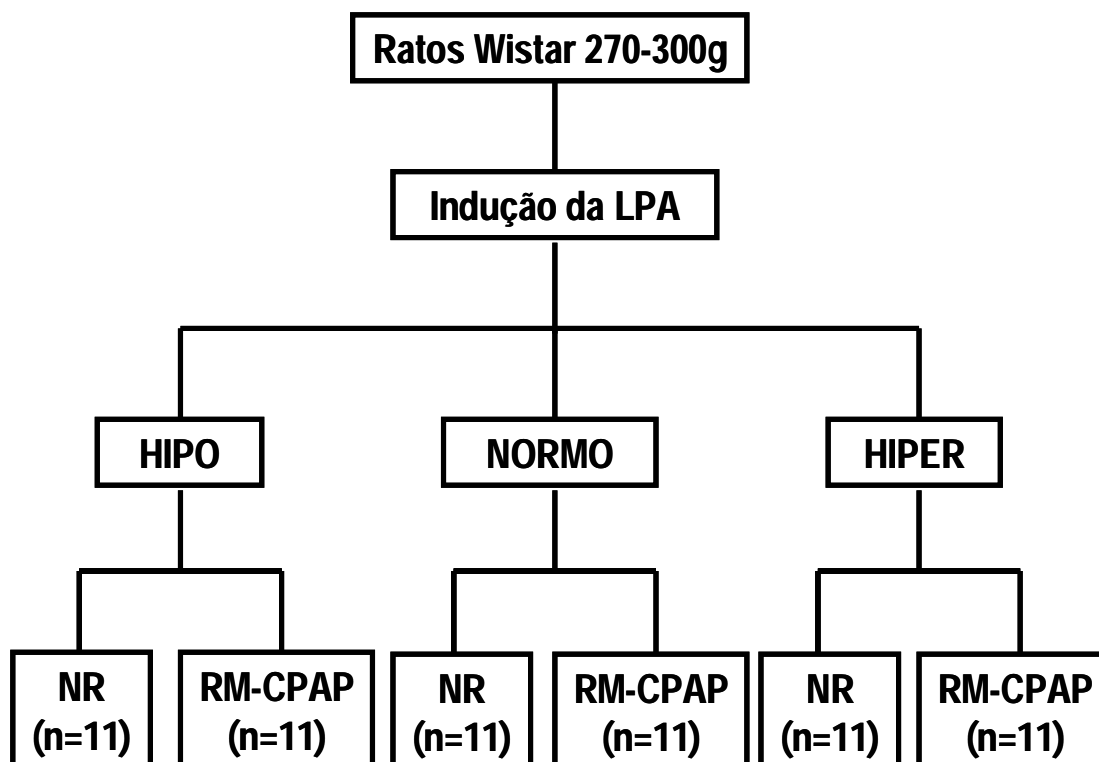


Figura 3. Esquema experimental. LPA: Lesão pulmonar aguda; HIPO: Hipovolemia induzida por drenagem de sangue arterial até PAM = 70 ± 10 mmHg (Média \pm DP); NORMO: Normovolemia mantida com PAM = 100 ± 10 mmHg; HIPER: Hipervolemia induzida por infusão de colóide 2 ml/kg de peso corporal/minuto até PAM = 130 ± 10 mmHg); NR: Sem recrutamento; RM-CPAP: Manobra de Recrutamento com pressão positiva contínua nas vias aéreas de 40 cmH₂O por 40 segundos.

4.1.4 ECOCARDIOGRAFIA

O estado volêmico e a função cardíaca foram acessados por um aparelho de ecocardiografia portátil equipado com um transdutor de 10 MHz (modelo Esaote, CarisPlus, Florença-Itália). O estado volêmico foi mensurado pelos diâmetros de veia cava inferior (VCI) e de átrio direito (AD) através da visão subcostal. Para análise da função sistólica do ventrículo esquerdo (VE) foram obtidos os seguintes parâmetros: o débito cardíaco [DC (ml/min)], o volume sistólico [VS (ml)] e a fração de ejeção [FE (%)] por meio do método de Simpson modificado obedecendo aos critérios do “Guidelines of The American

Thoracic Society of Echocardiography” (CHEITLIN 2003). Neste caso, as imagens foram obtidas a partir dos eixos curtos e do eixo longo do VE (visão paraesternal – modo bidimensional).

Os diâmetros de VCI e AD foram obtidos na situação BASAL e a cada 5 minutos durante o período de indução do respectivo estado volêmico, até o período que este fosse atingido (20 minutos) e depois no FINAL do experimento, ou seja, no minuto 80 (20 minutos de indução + 60 minutos de VM protetora) (Figura 1).

O DC, VS e a FE do ventrículo esquerdo (VE) foram obtidos na situação basal (BASAL) e no final (FINAL) do experimento (Figura 1).

4.1.5 MECÂNICA PULMONAR

Os dados da mecânica pulmonar foram obtidos em duas ocasiões: 1) ventilação basal (BASAL) e 2) ao término do período de 1 hora de VM protetora (FINAL) (Figura 1). A mecânica pulmonar foi avaliada pelo método de oclusão ao final da inspiração após insuflação com fluxo constante (BATES 1985a; BATES 1985b; BATES 1988; KOCHI 1988a; b; BATES 1989).

4.1.6 MÉTODO DE OCLUSÃO AO FINAL DA INSPIRAÇÃO

Após a oclusão das vias aéreas ao final da inspiração, ocorre uma queda súbita da pressão traqueal (P_{tr}), de um valor máximo (P_{IP}) até um ponto (ponto de inflexão, P_i) a partir do qual o decaimento da pressão assume caráter mais lento, atingindo um platô em sua porção terminal. Esta pressão de platô (P_{plat}) corresponde à pressão de retração elástica do sistema respiratório ($P_{el,rs}$) (Figura 3). O mesmo comportamento pode ser observado no traçado de pressão esofágica. A pressão de platô transpulmonar ($P_{plat,L}$) foi

calculada a partir da diferença entre os valores do sistema respiratório e da parede torácica (Figura 4).

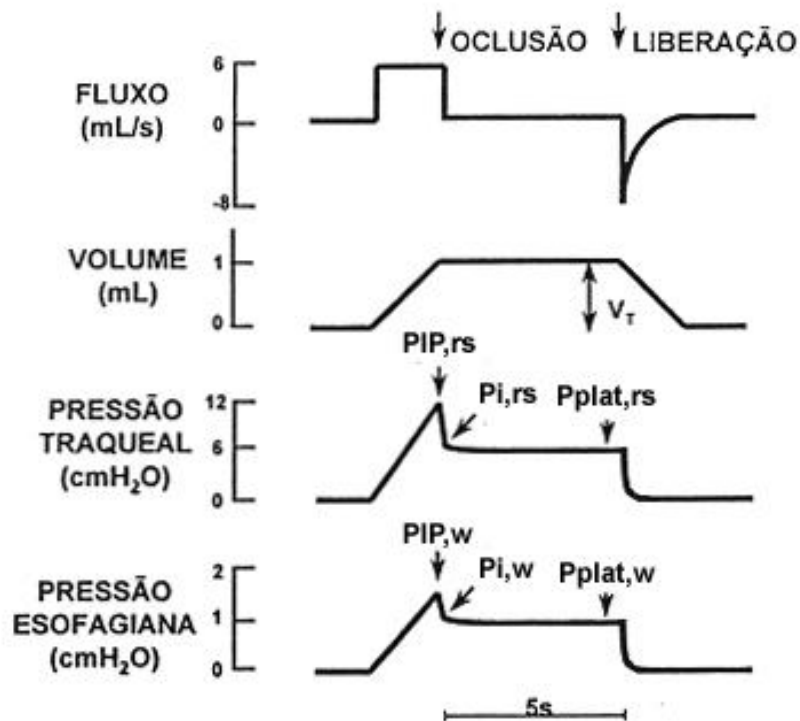


Figura 4. Representação esquemática dos traçados de fluxo, volume, pressão traqueal e pressão esofágiana em função do tempo, obtidos a partir da oclusão da via aérea ao final da inspiração. V_T = volume corrente; PIP = pressão de pico inspiratória; P_i = ponto de inflexão; P_{plat} = pressão de platô; rs = sistema respiratório; w = parede.

Foram registrados 10 ciclos pelo método de oclusão ao final da inspiração (BATES 1985a; BATES 1985b; BATES 1988; KOCHI 1988a; b; BATES 1989), em cada animal. Os transdutores conectados ao pneumotacógrafo, ao tubo traqueal e ao cateter esofágiano registraram os sinais de V' , P_{tr} e P_{es} , respectivamente. Todos os sinais foram filtrados (100 Hz), amplificados em um condicionador de 4-canais (SC-24, SCIREQ, Montreal, Quebec, Canadá), convertidos a sinais digitais por um conversor

analógico-digital (NI-DA Qmx 8-7-1, Áustria, Tx, EUA), amostrados a uma frequência de 200 Hz e armazenados em um microcomputador utilizando-se o software LabVIEW versão 8.2 (*National Instruments*, Austin, Tx, EUA) para posterior análise com o software Matlab versão 7.4 (R2007a, *The MathWorks*, Inc.).

A montagem experimental está demonstrada esquematicamente na figura 5.

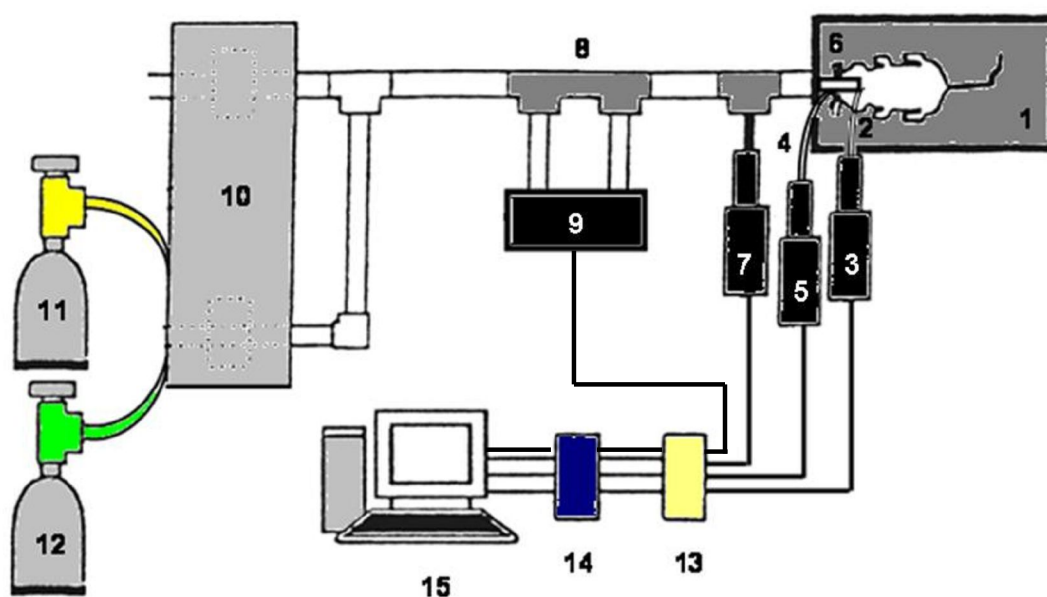


Figura 5. Montagem experimental consistindo de: 1 – Cama aquecida; 2 – Cateter Arterial; 3 – Transdutor líquido de Pressão Arterial Média; 4 – Cateter Esofágico; 5 – Transdutor líquido de Pressão Esofágico; 6 – Cânula Traqueal; 7 – Transdutor diferencial de Pressão Traqueal; 8 – Pneumotacógrafo; 9 – Transdutor diferencial de Pressão; 10 – Ventilador Servo; 11 – Cilindro de ar comprimido; 12 – Cilindro de Oxigênio; 13 – SCIREQ; 14 – Conversor analógico-digital; 15 – Microcomputador.

4.1.7 REMOÇÃO DOS ÓRGÃOS

Ao término do experimento, os animais foram imediatamente sacrificados. Para tal, o terço inferior do abdômen foi aberto por seção cirúrgica transversal e 1 ml de heparina diluída (0,5 ml de heparina em 0,5 ml de solução

fisiológica) foi injetado na veia cava inferior e, após 1 minuto, os animais foram exangüinados por seção cirúrgica direta da aorta e veia cava inferior em suas porções abdominais. A traquéia foi, então, ocluída ao final da expiração, com uma PEEP = 5 cmH₂O, com linha de algodão. O tórax foi aberto, a parede torácica anterior foi removida, a porção abdominal do esôfago foi identificada e isolada, sendo presa por uma pinça hemostática. As estruturas do pescoço foram dissecadas, permitindo a liberação das vias aéreas. A pinça que prendia o esôfago foi suavemente tracionada para cima, permitindo separar o conjunto coração-pulmão das demais estruturas aderidas à parede torácica posterior. Com todas as estruturas individualizadas, a traquéia foi seccionada acima do local ocluído pelo fio de algodão e, posteriormente, o esôfago e o coração foram separados dos pulmões e vias aéreas por leve tração, restando apenas os pulmões e as vias aéreas. Os brônquios fontes direito e esquerdo foram ocluídos por um fio de algodão e, após uma seção acima do fio, os pulmões direito e esquerdo foram separados, sendo mantidos no volume expiratório final. Fígado, rins e intestino também foram removidos.

4.1.8 HISTOLOGIA

4.1.8.1 ANÁLISE POR MICROSCOPIA DE LUZ DO PARÊNQUIMA PULMONAR

Os pulmões esquerdos foram resfriados por imersão rápida em nitrogênio líquido (aproximadamente 3 min), retirados e mantidos em solução de Carnoy (etanol 60%, clorofórmio 30% e ácido acético 10%) a -70° C por 24 h. Após esse período, o material foi desidratado progressivamente através de imersão em soluções com concentração crescente de etanol: (1) MC-1 = etanol

70%, clorofórmio 22,5% e ácido acético 7,5%, a -20°C durante 1h; (2) MC-2 = etanol 80%, clorofórmio 15% e ácido acético 5%, a -20°C durante 1h; (3) MC-3 = etanol 90%, clorofórmio 7,5% e ácido acético 2,5%, a -20°C durante 1h; (4) etanol a 100%, a -20°C durante 1h e, em seguida, a -4°C durante 24h.

Após desidratado, o pulmão esquerdo foi embebido em parafina e cortes de parênquima pulmonar (4 μ m de espessura) foram realizados, fixados em lâminas e corados com hematoxilina-eosina para análise morfométrica.

A análise morfométrica dos pulmões foi realizada usando-se uma ocular acoplada a um microscópio de luz convencional (Olympus BX51, *Olympus Latin America-Inc.*, Brasil) contendo um sistema de referência de 100 pontos e 50 linhas (de comprimento conhecido) dispostas em paralelo (Figura 6).

As frações de área do pulmão ocupadas por alvéolos colapsados ou normais ou estruturas hiperinsuladas (ductos alveolares, sacos alveolares ou alvéolos, maiores do que 120 μ m) foram determinadas pela técnica de contagem de pontos (*point-counting*) (CRUZ-ORIVE & WEIBEL 1990) em um aumento de X200. O número de pontos que caíram em área de alvéolo normal, colapsado ou hiperinsuflado foi dividido pelo total de pontos contados em cada campo analisado (normal + colapsado + hiperinsuflado) e expresso sob a forma de percentual. Foram analisados dez campos aleatórios e não coincidentes por lâmina (LEITE-JUNIOR 2008).

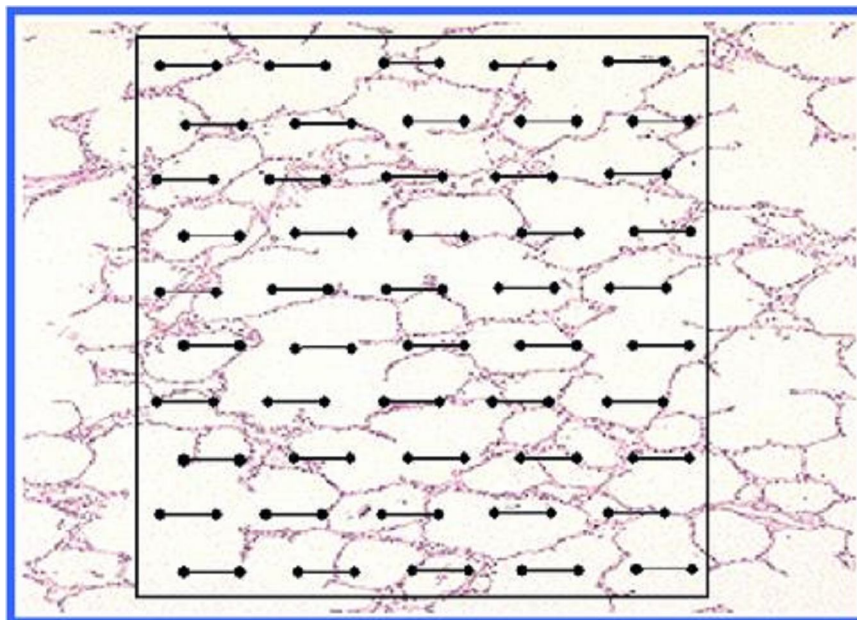


Figura 6 – Representação esquemática do sistema de referência de 100 pontos e 50 linhas, utilizado para análise morfológica dos pulmões.

4.1.8.2 ANÁLISE POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO DO PARÊNQUIMA PULMONAR

Para a análise por microscopia eletrônica foram retirados dois fragmentos de parênquima pulmonar (2x2x2 mm) do pulmão esquerdo. Os fragmentos foram colocados em glutaraldeído 2% em tampão fosfato 0,1M e pH 7,4, por 2 h, sendo posteriormente lavados em solução de sacarose, constituída de 4,5 g de NaCl e 8,9 g de sacarose diluídos em 500 ml de água destilada, até a pós-fixação. A seguir, os fragmentos foram imersos em solução de tetróxido de ósmio (1% em água, contendo 133 mg de sacarose por ml) por 2 h. Após a lavagem em água bidestilada as preparações foram colocadas na geladeira em acetato de uranila 0,5% contendo 133 mg de sacarose, por um tempo que variou de 2 a 24 h. O processo foi continuado, efetuando-se a desidratação em concentrações crescentes de álcool etílico, progredindo

gradativamente até álcool absoluto, sendo, então, o tecido passado em óxido de propileno por 15 minutos (2 vezes). Iniciando a fase de embebição, as amostras foram colocadas em misturas de partes iguais de óxido de propileno e resina (araldite). Os frascos contendo os fragmentos foram colocados para girar (1 rotação a cada 4 minutos, por 1 hora). Posteriormente, as peças foram colocadas por 16 h 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-benzildimetilamina) e 0,1 ml de plastificante (dibutilftaltato). Ao término de 16 h, as amostras foram colocadas em moldes de silicone com nova resina, para polimerização em estufa a 60°C, por 5 dias. Concluída a polimerização, os espécimes foram aparados e cortes semifinos obtidos com o ultramicrótomo Porter Blum MT2 (Reichert ultracult S). 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, 2 blocos, contendo aproximadamente 10 fragmentos cada um, foram submetidos à análise para seleção dos cortes ultrafinos.

Para o estudo ultraestrutural, cortes ultrafinos, com espessura em torno de 90 nanômetros, foram contrastados pelo acetato de uranila a 2% durante 30 minutos e, finalmente, pelo citrato de chumbo por 10 minutos. A observação dos cortes e as eletromicrografias foram realizadas em microscópio eletrônico JEOL (JEOL 1010, 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 (RIVA 2008; PASSARO 2009).

4.1.8.3 ANÁLISE DE CÉLULAS APOPTÓTICAS NO PULMÃO, FÍGADO, RIM E INTESTINO

4.1.8.3.1 DETECÇÃO DE CÉLULAS APOPTÓTICAS (TUNEL)

Para detecção *in situ* de apoptose, em nível de uma única célula, foi usado o método *TUNEL* (*terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTPbiotin nick end-labeling method*) (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemanha). Esse método envolve a adição de trifosfato de deoxiuridina (dUTP) marcado com fluorescência nos fragmentos terminais do DNA por ação catalítica do TdT (GAVRIELI 1992; WIJSMAN 1993). Cortes histológicos feitos a partir de blocos de parafina (4 a 6 μm) foram depositados em lâminas. A seguir, os cortes foram desparafinados em solução xilol e rehidratados com diluições decrescentes de etanol em água. Os cortes foram lavados quatro vezes com água destilada por 2 minutos e imersos em tampão TdT (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemanha). Então, TdT (0,3 U por microlitro) e marcação fluorescente dUTP em tampão TdT foram adicionados aos cortes e as amostras foram incubadas em atmosfera úmida a 37°C durante 60 minutos. Para controles negativos, TdT foi eliminado da mistura reativa. Os cortes foram, então, incubados com anticorpo específico conjugado a peroxidase. Os corantes foram visualizados com um substrato no qual núcleos com fragmentação do DNA se coram de marrom. A reação foi determinada pela lavagem dos cortes em tampão salina fosfato. Os núcleos sem fragmentação

do DNA foram corados de azul como resultado da contra-coloração com hemotoxilina. Controles positivos consistiram da glândula prostática do rato após castração. Três cortes de cada amostra foram examinados. Foram utilizadas amostras de quatro animais por grupo. Os cortes foram inicialmente examinados através de microscopia óptica em aumento pequeno (X100), permitindo a avaliação da área de superfície ocupada por células apoptóticas. A seguir, vários campos por seção de regiões com células apoptóticas foram examinados em um aumento de X400 para se discriminar núcleos alveolares com fragmentação e massas de cromatina condensadas. Células alveolares, que estavam com boa forma, arredondadas e células eosinofílicas foram diferenciadas morfológicamente de outras células não-epiteliais através de microscopia óptica utilizando-se maior aumento. Em adição à técnica de marcação de fragmentos terminais do DNA, cortes adjacentes foram corados com hematoxilina e eosina para quantificação da apoptose. A microscopia de luz foi usada para quantificar apoptose no pulmão, vilos entéricos, fígado e rim. Um escore semi-quantitativo de 5 pontos, baseado na gravidade, foi usado e graduado como negativo = 0 (parênquima pulmonar normal), mínimo = 1 (1-25%), moderado = 2 (26-50%), alto = 3 (51-75%) e grave = 4 (76-100%) de estruturas do parênquima analisadas em 10 campos microscópicos não-coincidentes, para cada animal, num total de 4 animais por grupo (aumento 400X).

4.1.9 EXPRESSÃO GÊNICA DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS, FIBROGÊNICOS E APOPTÓTICOS NO TECIDO PULMONAR

RT-PCR (Transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase) em tempo real quantitativa foi realizada para mensurar a expressão gênica de mediadores inflamatórios, fibrogênicos e apoptóticos no tecido pulmonar.

4.1.9.1 EXTRAÇÃO DE RNA TOTAL DE TECIDO PULMONAR

Uma tira de tecido pulmonar foi cortada da periferia do pulmão direito de cada animal, congelada em nitrogênio líquido, armazenada em criotubo no freezer a -80°C até a análise da expressão pelo método de RT-PCR em tempo real.

As amostras de tecido pulmonar foram homogeneizadas em reagente de TRIzol[®] (Gibco BRL - Life Technologies, Rockville, MD, EUA), permitindo a separação do RNA total. O reagente de TRIzol[®] 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 foi diluído em 20 μl de água tratada com dietilpirocarbonato (DEPC – inativador de RNAses). A concentração das amostras de RNA total foi determinada por espectrofotometria no comprimento de onda de 260 nanômetros e a pureza das amostras foi determinada pela razão entre o comprimento de onda 260 e 280 nanômetros. Somente as amostras com razão maior que 1,7 foram utilizadas. A integridade das amostras foi verificada por meio de eletroforese em gel de agarose a 1%

contendo 0,5 µg/ml de brometo de etídeo. O gel foi submerso em tampão TAE 1X (Tris Acetato de EDTA) e a eletroforese realizada a 100 Volts por aproximadamente 20 minutos.

4.1.9.2 TRANSCRIÇÃO REVERSA SEGUIDA DE REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE EM TEMPO REAL

Para transcrição reversa, 1000 ng de RNA total foi utilizado com 0,5 µg/µL de oligo-dt (Invitrogen, Carlsbad, CA) e um kit de transcriptase reversa (MMLT-V Reverse Transcriptase Kit, Invitrogen, Carlsbad, CA). 4 µl de 5x RT buffer, 2 µl de 0,1 M DDT, 1 µl de 10 mM de deoxinucleotídeos, 1 µl de 50 U/µl de MMLT-V e água DEPC para um volume final de 20 µl. Este procedimento ocorreu à 37°C por 50 minutos, seguido de 70°C por 15 minutos para inativação da enzima. Após a transcrição reversa obteve-se o DNA complementar (cDNA), um DNA de fita simples que serviu de molde para o PCR. A quantidade de cDNA correspondente a 62,5 ng de RNA foi selecionada e amplificada com pares de oligonucleotídeos específicos para cada gene.

Na tabela 1, estão esquematizados os iniciadores utilizados nas reações de PCR. A posição do iniciador e o tamanho esperado dos produtos de amplificação são dados com base na seqüência de DNAC do gene já clonado para rato (THIERMANN 1992).

Tabela 1. Iniciadores utilizados nas reações de PCR. A posição do iniciador e o tamanho esperado dos produtos de amplificação são dados com base na sequência de DNAc do gene já clonado para rato (THIERMANN 1992).

MOLÉCULA	SEQÜÊNCIA DO PRIMER	POSIÇÃO	TAMANHO
GAPDH			
<i>Sense</i>	5'- GGTGAAGGTCGGTGTGAAC- 3'	530-557	68 pb
<i>Antisense</i>	5'- CGTTGATGGCAACAATGTC -3'	580-597	NM_017008.3
IL-6			
<i>Sense</i>	5'- CTCCGCAAGAGACTTCCAG -3'	75-94	90pb
<i>Antisense</i>	5'- CTCCTCTCCGGACTTGTGA -3'	145-164	NM_012589.1
IL-1β			
<i>Sense</i>	5'- CTATGTCTTGCCGTGGAG -3'	248-267	137 pb
<i>Antisense</i>	5'- CATCATCCCACGAGTCACA -3'	366-384	NM_031512.2
Caspase-3			
<i>Sense</i>	5'- GGCCGACTTCCTGTATGC -3'	626-643	93 pb
<i>Antisense</i>	5'- GCGCAAAGTGACTGGATG -3'	701-718	NM_012922.2
PCIII			
<i>Sense</i>	5'- ACCTGGACCACAAGGACAC -3'	1211-1229	73 pb
<i>Antisense</i>	5'- TGGACCCATTTACCTTTC -3'	1301-1283	NM_032085.1
VCAM-1			
<i>Sense</i>	5'-TGCACGGTCCCTAATGTGTA-3'	1330-1349	100 pb
<i>Antisense</i>	5'-TGCCAATTTCTCCCTTAAA-3'	1410-1429	NM_012889.1
ICAM-1			
<i>Sense</i>	5'-CTTCCGACTAGGGTCCTGAA-3'	670-689	103
<i>Antisense</i>	5'-CTTCAGAGGCAGGAAACAGG-3'	753-772	NM_012967.1

Definição das abreviações: GAPDH = gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase; IL-6= interleucina-6; IL-1 β -interleucina-1 β ; PCIII = procolágeno III; VCAM-1=molécula de adesão vascular-1; ICAM-1=molécula de adesão intercelular-1; pb = pares de base.

Os níveis relativos de RNAm foram mensurados com um sistema de detecção verde SYBR usando ABI 7500 Real-Time PCR (Applied Biosystems,

Foster City, CA, USA). Todas as amostras foram mensuradas em triplicata. A expressão relativa de cada gene foi calculada através de uma relação com um gene de referência, gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase (GAPDH) e expresso como aumento relativo ao grupo normovolêmico não-recrutado (NORMO-NR).

4.1.10 ANÁLISE DA RELAÇÃO PESO ÚMIDO/PESO SECO (W/D)

A relação W/D foi determinada no pulmão direito como previamente descrita (PETERSON 1982). Resumidamente, o pulmão direito foi separado e pesado (peso úmido). A seguir, o pulmão direito foi colocado dentro de um micro-ondas ajustado para uma baixa potência (200W) por 5 minutos. O processo de secagem foi repetido até que a diferença entre as duas mensurações consecutivas no peso seco fosse menor que 0,002g. A última medida foi escolhida como sendo o peso seco. A relação W/D foi calculada como sendo: peso úmido/peso seco.

4.1.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada no programa SigmaStat[®] para Windows[®] (V. 3.1) (Jandel Corporation, San Rafael, CA, EUA). A normalidade dos dados (teste de Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors) e a homogeneidade de variância (teste de mediana de Levene) foram testadas. Quando ambas as condições fossem atingidas, testes paramétricos foram aplicados, caso contrário, testes não-paramétricos foram empregados. A pressão arterial média (PAM), as dimensões de veia cava inferior (VCI) e do átrio direito (AD) foram analisadas utilizando-se Análise de Variância para Amostras Repetidas seguido do teste Tukey. Para comparação

entre duas situações do mesmo grupo, como por exemplo, entre as situações BASAL e FINAL, nos parâmetros de troca gasosa (PaO_2 , PaCO_2 , pHa), elastância estática pulmonar (Est,L) e dados de função cardíaca (DC , VS e FE), o teste t -pareado foi usado. Os dados obtidos ao final do experimento (FINAL), DC , VS , FE , troca gasosa (PaO_2 , PaCO_2 , pHa), Est,L , histologia pulmonar (percentual de áreas normais e colapsadas), relação peso úmido/peso seco (relação W/D) e a expressão pulmonar de mediadores inflamatórios e fibrogênicos foram analisados por Análise de Variância de dupla entrada seguido do teste Tukey. Os valores semi-quantitativos da microscopia eletrônica e de células apoptóticas no pulmão, fígado, rim e intestino foram analisados por Análise de Variância de dupla entrada *on Ranks* seguido pelo teste de Dunn. As correlações entre os dados funcionais e morfológicos foram investigadas através da correlação de Spearman. Os dados paramétricos foram expressos como média (erro padrão da média), enquanto os dados não-paramétricos foram expressos como mediana (intervalo interquartil, percentil 25 a percentil 75). O grau de significância considerado foi de 5% ($p < 0,05$).

4.2 SEGUNDO ESTUDO

O protocolo foi aprovado pelo comitê de ética (ANEXO 2) da Universidade Tecnológica de Dresden da Faculdade de Medicina *Carl Gustav Carus* (Figura 7).

4.2.1 PREPARAÇÃO DO ANIMAL

Trinta porcos (32-38 kg) receberam inicialmente ketamina (Inresa Arzneimittel GmbH, Freiburg, Alemanha) (2-3 mg/kg, intramuscular) e

midazolam (Ratiopharm, Ulm, Alemanha) (0.5-1 mg/kg, intramuscular). A veia da orelha foi puncionada e os animais submetidos à sedação com midazolam ($1.5-6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$, *iv*) e anestesia com ketamina ($5-30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$, *iv*). Realizou-se intubação traqueal com tubo (Rüsch, Kernen-Rommelshausen, Alemanha) de diâmetro interno de 8.0 mm, e os animais foram paralisados com besilato de atracurio ($0,5-1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$) (Hamel Pharma Plus GmbH, Hameln, Alemanha) e ventilados no EVITA XL 4 Laboratório (Dräger, Lübeck, Alemanha) no modo volume-controlado [volume corrente = 10 ml/kg, relação inspiratória/expiratória de 1:1, $\text{FIO}_2 = 1$, pressão positiva ao final da expiração (PEEP) de 5 cmH₂O, e frequência respiratória fixada para alcançar uma PaCO₂ de 35-45 mmHg]. A FiO₂ e a PEEP foram mantidas constantes ao longo da preparação do animal.

Um cateter foi inserido na artéria carótida externa direita (Arrow, Reading, EUA), e outro na artéria pulmonar (Arrow, Reading, EUA) (Opticath, Laboratórios de Abbott, Abbott Park, IL, EUA) através da veia jugular externa direita. Outro cateter foi inserido na veia jugular externa esquerda (Arrow, Reading, EUA) para a infusão da terapia sorteada (vide abaixo). A urina foi coletada com um cateter inserido na bexiga (Tiemann Ballonkatheter, 16 Ch, Rüsch, Kernen-Rommelshausen, Alemanha) através de uma mini-laparotomia. Um cateter (Cardinal Health Germany, Höchberg, Alemanha) foi inserido ao lado da bexiga para mensuração da pressão abdominal. Após a inserção do cateter abdominal, a parede abdominal foi suturada (linha 2-0 Mersilene) a fim de mensurar a pressão abdominal (PAbd).

O V' foi medido através de pneumotacógrafo Fleisch (Fleisch, Lausanne, Suíça) conectado a um transdutor diferencial de pressão (PXL12X5DN,

Sensortechncs, Troy, NY, EUA). A pressão de via aérea (Paw) foi monitorada por um transdutor de pressão (SCX01DNC, SenSym ICT, Milpitas, CA, EUA) conectado ao tubo traqueal. Para medida da Pes foi introduzido um cateter (Cardinal Health Germany, Höchberg, Alemanha) com um balão distal que foi conectado a um transdutor de pressão (SCX01DNC, SenSym ICT). A calibração do V' e a aquisição da Ptr e Pes foram realizadas como descrito em detalhes em um trabalho prévio (GAMA DE ABREU 2005). Um cateter com um termistor na ponta (Pulsiocath PV2015L20A, Pulsion Medical Systems) foi inserido na artéria carotida externa direita. Esse cateter foi acoplado ao módulo do sistema PiCCO[®] (Módulo M1012A#C10, Pulsion Medical Systems, Munich, Alemanha) e conectado ao monitor de pacientes IntelliVue[®] (IntelliVue Patient Monitor MP 50, Philips Medizin Systeme Böblingen GmbH, Böblingen, Alemanha).

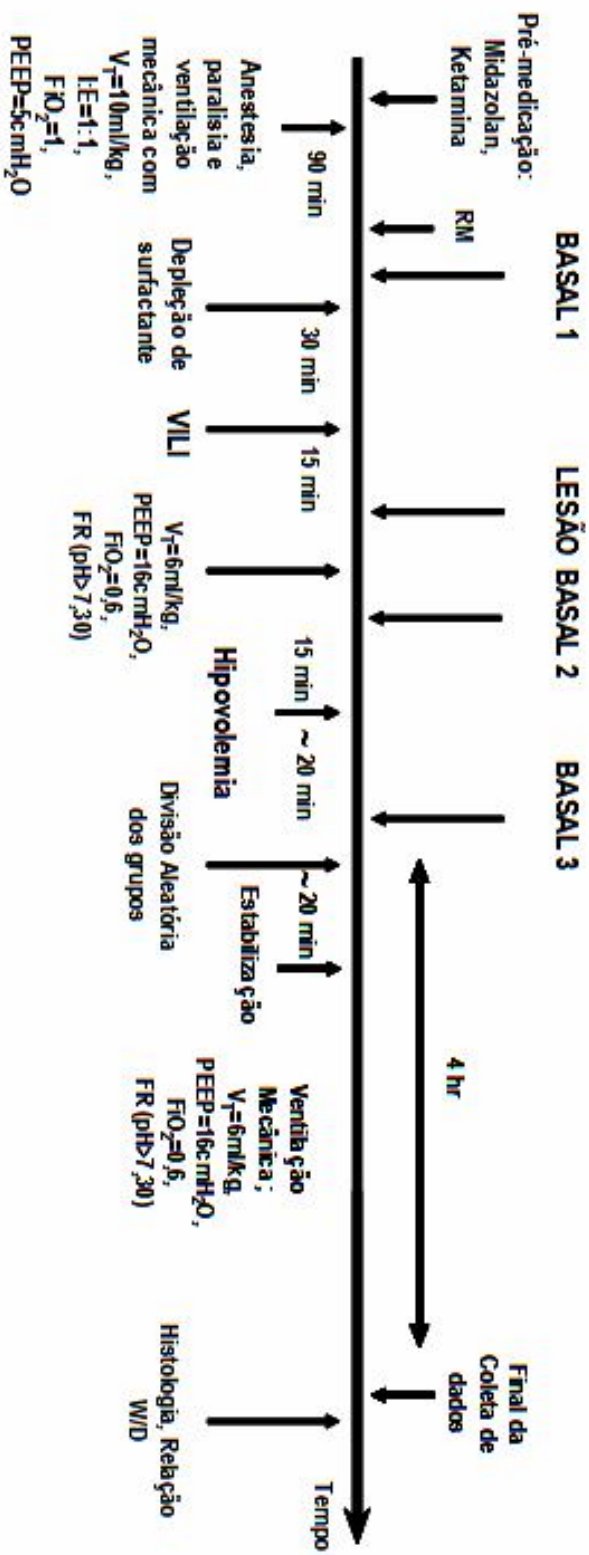


Figura 7. Protocolo Experimental do Segundo Estudo (Alemanha). RM: Manobra de recrutamento; VILI: lesão induzida pela ventilação mecânica; V_T : volume corrente; IE : Relação inspiratória e expiratória; FI_{O_2} : Fração inspirada de oxigênio; $PEEP$: pressão positiva ao final da expiração; FR : Frequência respiratória; Relação W/D: Relação peso úmido/peso seco.

4.2.2 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Após a instrumentação e preparação (Figura 7), os animais foram submetidos a uma manobra de recrutamento (RM) de 30 cmH₂O por 30 segundos seguida por 15 minutos de ventilação mecânica até a estabilização dos parâmetros de troca gasosa e hemodinâmicos (BASAL 1).

A LPA foi induzida por meio de depleção de surfactante (LACHMANN 1980; MARGARSON & SONI 2002) até que a relação PaO₂/FiO₂ alcançasse um valor < 150 mmHg por 30 minutos. Depois da indução da LPA por lavagem, todos os animais foram submetidos ao protocolo de VILI, caracterizado por 5 minutos de ventilação mecânica com os seguintes parâmetros: ΔP = 60 cmH₂O sem exceder um V_T = 40 ml/kg de peso corporal, PEEP = 0 cmH₂O, FR = 10 irpm, FiO₂ = 1. Após os 5 minutos, os animais foram ventilados com os mesmos parâmetros da situação BASAL 1, com o objetivo de alcançar uma relação < 100 mmHg por 15 minutos. Após indução da VILI, os dados funcionais foram coletados (LESÃO). Os animais foram ventilados em uma estratégia ventilatória protetora no modo pressão controlada (PCV) com os seguintes parâmetros: ΔP para atingir um V_T de 6 ml/kg, frequência respiratória (FR) ajustada para manter pH > 7,30, onda de fluxo desacelerada e uma combinação de PEEP = 16 cmH₂O e FiO₂ = 0,6 de acordo com o protocolo do ARDSnet (NIH 2000). Após 15 minutos de estabilização, os dados funcionais foram coletados (BASAL 2). Depois da aquisição dos dados funcionais, todos os animais foram submetidos à drenagem de sangue através da linha arterial por aproximadamente 20 minutos para uma redução de 25% do volume sanguíneo estimado (HANNON 1990). O sangue foi estocado em bolsas Composelect[®] EK (Fresenius, Bad Homburg, Alemanha) na temperatura da sala, para possível uso posterior.

Posteriormente, os dados funcionais foram coletados (BASAL 3) e a infusão basal de ringer acetato foi reduzida para 2 ml/kg/h. A seguir, os animais foram divididos aleatoriamente para um dos três grupos: 1) Ringer Acetato[®] (RA) (Serumwerk Bernburg, Bernburg, Alemanha); 2) Gelafundin (GEL) (Gelafusal 4%[®], Serumwerk Bernburg, Bernburg, Alemanha); 3) Hidroexítíl Starch (HES) (6% em RA, HES 130/0.4, HAES-steril[®] Fresenius Kabi, Bad Homburg, Alemanha). A restauração de fluidos foi realizada até que 70-80% do índice do volume sanguíneo intratorácico (ITBVI) do valor BASAL 2 fosse atingido. O tempo de restauração volêmica foi similar ao tempo de drenagem de sangue, em torno de 20 min. Quando os parâmetros hemodinâmicos foram estabilizados, a taxa de infusão basal de fluidos em todos os grupos foi mantida a menor possível a fim de manter o ITBVI na faixa de 70-80% do valor BASAL 2 em todos os grupos, todavia, não permitindo um valor de PAM abaixo de 60 mmHg. Após essa etapa, os animais foram submetidos à estratégia ventilatória protetora ($V_T = 6$ ml/kg, Pressão de platô < 30 cmH₂O, PEEP = 16 cmH₂O, FiO₂ = 0,6, FR para manter pH > 7,30) por 4 horas.

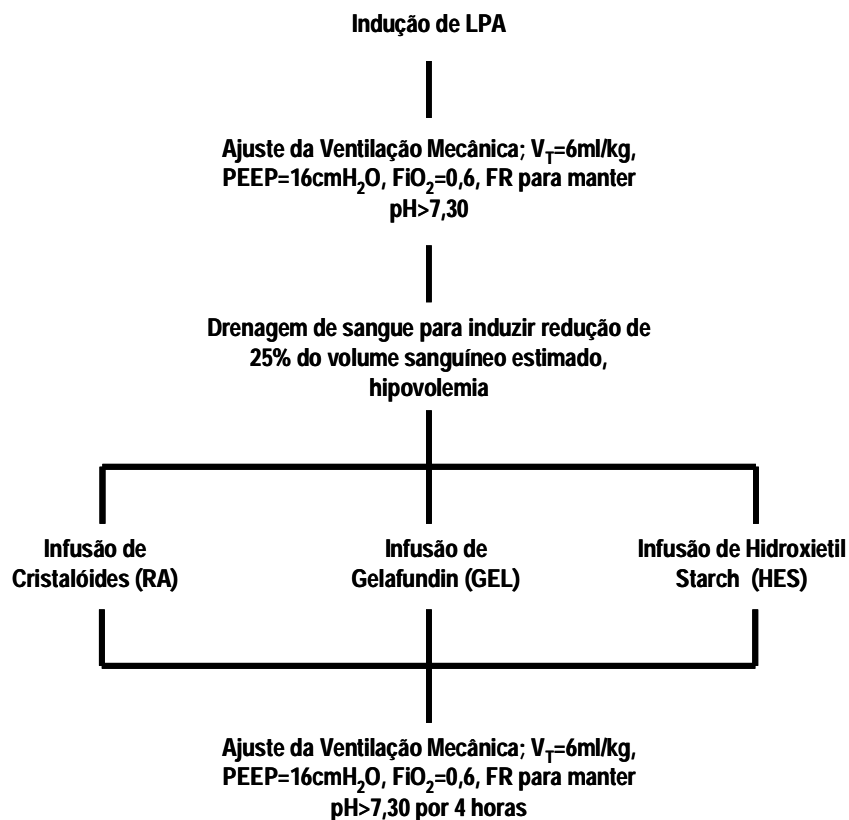


Figura 8. Representação esquemática dos grupos do segundo estudo (Alemanha). LPA: Lesão pulmonar aguda; V_T : Volume Corrente; FiO_2 : Fração inspirada de oxigênio; PEEP: pressão positiva ao final da expiração; FR: frequência respiratória; RA: Ringer Acetato.

4.2.3 ANÁLISE DOS GASES SANGUINEOS

As amostras dos sangues arteriais e venosos mistos foram analisadas usando o ABL 505 (Radiometer, Copenhague, Dinamarca). A saturação de oxigênio e a concentração de hemoglobina foram mensuradas usando um oxímetro OSM 3 (Radiometer) calibrado para sangue de suíno. O percentual de *shunt* (Q_{VA}/Q_T) foi calculado pela seguinte fórmula: $CcO_2 - CaO_2 / CcO_2 - CvO_2$. A oferta (DO_2) e o consumo de oxigênio (VO_2) foram calculados pelas seguintes fórmulas: $10 \times CaO_2 \times DC$, $10 \times DC \times (CaO_2 - CvO_2)$, respectivamente.

4.2.4 PARÂMETROS DE HEMODINÂMICA

As pressões arterial média (PAM), média de artéria pulmonar (PMAP), venosa central (PVC), de oclusão de artéria pulmonar (POAP) e abdominal (PAbd) foram mensuradas. O débito cardíaco (DC) foi calculado com o método de diluição térmica (GAMA DE ABREU 2005). Os índices de água extravascular pulmonar (EVLWI) e de volume sanguíneo intratorácico (ITBVI) foram derivados através do sistema PICCO® (COMBES 2004). Um cateter com um termistor na ponta (Pulsio cath PV2015L20A, Pulsion Medical Systems) foi conectado na artéria carótida externa direita ao sistema PiCCO® (versão 4.1). O DC e as variáveis volumétricas foram mensurados através da técnica de termodiluição transpulmonar. As medidas foram obtidas por injeções de 10 ml de solução salina fria, em uma temperatura < 8°C, pela extremidade distal do cateter venoso central localizado na jugular interna com subsequente detecção pelo termistor implantado na carótida externa direita. O DC foi calculado pelas curvas de termodiluição de acordo com o princípio de Stewart-Hamilton (NEWMAN 1951). A média de três medidas consecutivas de DC foi utilizada. O PICCO® calcula o tempo transitório médio (MTt) e o tempo de descida exponencial (DSt) da curva de termodiluição. O resultado do produto do DC com o MTt é o volume térmico intratorácico (ITTV), enquanto o produto do DC com o DSt é o volume térmico pulmonar (PTV). A diferença entre ITTV e PTV é o volume global no final da diástole (GEDV), que representa o volume de sangue contido nas quatro câmaras cardíacas:

$$\text{GEDV} = \text{ITTV} - \text{PTV} = \text{CO} \times (\text{MTt} - \text{DSt}) \text{ ml} \quad (1)$$

O volume sanguíneo intratorácico (ITBV) é o volume de sangue das câmaras do coração e o volume de sangue dentro dos vasos pulmonares. O

ITBV tem uma relação linear com o GEDV e aquele pode ser calculado deste valor. Essa relação linear entre ITBV e GEDV foi estabelecida em estudos comparando a medida de água extravascular (EVLW) através do método de indicador duplo (Marcador: indocianina verde) e a técnica de indicador térmico (SAKKA 2000). Nesse método, o GEDV é medido utilizando o método térmico enquanto o ITBV é mensurado utilizando o marcador (indocianina verde). Esse marcador se acopla às proteínas plasmáticas e permanece retido no espaço intravascular e seu volume de distribuição entre o local de injeção, por exemplo, uma veia central, e o local de detecção, por exemplo, artéria femoral ou artéria carótida, é igual ao ITBV. Uma relação linear foi estabelecida entre o ITBV e o GEDV e pode ser expressa como:

$$\text{ITBV} = a.\text{GEDV} + b$$

Onde o coeficiente específico $a = 1,25$ e uma constante específica $b = 28,4 \text{ ml/m}^2$ foi encontrada para humanos. Já que há uma relação linear entre GEDV e ITBV, esse pode ser estimado pelo GEDV e, portanto a água extravascular pulmonar pode ser calculada pela diferença entre ITTV e ITBV.

$$\text{EVLW} = \text{ITTV} - \text{ITBV}$$

O índice de água extravascular (EVLWI) é dado pela divisão:

$$\text{EVLWI} = \text{EVLW}/\text{peso corporal (kg)}$$

Portanto, a água extravascular pode ser derivada da técnica de diluição térmica. Os valores de ITBVI (ml/m^2) foram normalizados pela área de superfície corporal pelo método de Du Bois $[(\text{peso}^{0,425}) \times (\text{comprimento}^{0,725}) / 139,2]$ (DUBOIS & DUBOIS 1916).

4.2.5 ANÁLISE DA MECÂNICA RESPIRATÓRIA

As propriedades mecânicas do sistema respiratório foram estimadas de acordo com a equação do movimento ciclo por ciclo utilizando o método dos mínimos quadrados como demonstrado pela seguinte fórmula: $PVA(t) = Rsr.V'(t) + Esr.V(t) + P0$; onde V seria volume, t , o tempo e $P0$, a pressão da via aérea ao final da expiração. A Rsr e a Esr corresponde à resistência e elastância do sistema respiratório, respectivamente. As pressões de pico (PIP) e transpulmonar (PL) foram calculadas *offline* a partir de dados gravados (5 minutos) utilizando rotinas estabelecidas de MatLab (GAMA DE ABREU 2005).

4.2.6 FINAL DO EXPERIMENTO

No final dos experimentos, os animais foram submetidos à infusão intravenosa de heparina 1000 IU/kg. Após essa infusão, eles foram mortos após administração de 2 g de tiopental (Inresa Arzneimittel GmbH, Freiburg, Alemanha) e 50 ml KCl (1M) (Serumwerk Bernburg, Bernburg, Alemanha).

4.2.7 ANÁLISE DA RELAÇÃO PESO ÚMIDO/PESO SECO (W/D)

O peso do lobo direito médio foi mensurado (peso úmido) e submetido ao micro-ondas sob uma baixa potência (200W) a cada 5 minutos. Se duas medidas subseqüentes não apresentassem uma diferença de 0,002g, era assumido o peso seco. A relação foi medida pela divisão peso úmido/peso seco (PETERSON 1982):

$$W/D = \text{Peso Úmido/Peso Seco}$$

4.2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada no programa SigmaStat[®] para Windows[®] (V. 3.1) (Jandel Corporation, San Rafael, CA, EUA). A normalidade dos dados (teste de Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors) e a homogeneidade de variância (teste de mediana de Levene) foram testadas. Quando ambas as condições fossem atingidas, foram aplicados testes paramétricos, caso contrário, testes não-paramétricos foram empregados. Os dados de troca gasosa, hemodinâmica e mecânica pulmonar foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) para amostras repetidas seguidas do teste Tukey. Os dados de relação peso úmido/peso seco foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey. As correlações entre os dados de troca gasosa [PaO_2/FiO_2 , índice de água extravascular (EVLWI)] e a relação W/D foram investigadas através da correlação de Pearson. Os dados paramétricos foram expressos como média (DP). O grau de significância considerado foi de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1 PRIMEIRO ESTUDO

O presente modelo de sepse induzido por CLP resultou em uma taxa de sobrevida de aproximadamente 60% em 48 horas. Nenhum animal morreu durante o período de investigação.

Nos grupos HIPO, NORMO e HIPER, a PAM foi estabilizada em 70 ± 10 mmHg, 100 ± 10 mmHg, e 130 ± 10 mmHg, respectivamente (Tabela 2). As menores dimensões do AD e VCI foram observadas no grupo HIPO e as maiores dimensões foram observadas no grupo HIPER (Tabela 2), caracterizando a diminuição e a elevação do estado volêmico, respectivamente. O volume sistólico, débito cardíaco e a fração de ejeção foram semelhantes na situação BASAL em todos os grupos (Tabela 3). No grupo HIPER, observou-se aumento do volume sistólico, débito cardíaco e da fração de ejeção comparado aos grupos NORMO e HIPO, sem modificações significativas após a aplicação do RM-CPAP (Tabela 3).

Na tabela 4, os valores das pressões parciais de oxigênio (PaO_2), dióxido de carbono ($PaCO_2$) e pH arterial (pHa) além da elastância estática pulmonar (Est,L) são compatíveis na situação BASAL-ZEEP em todos os grupos. Na situação FINAL, a PaO_2 foi significativamente menor no grupo HIPER comparada com as outras situações (HIPO e NORMO) onde a manobra de recrutamento não foi aplicada. Quando a MR foi aplicada, a PaO_2 foi significativamente maior no grupo NORMO comparado ao grupo HIPER. No grupo HIPER, a PaO_2 foi maior no subgrupo submetido à manobra de recrutamento do que naquele não recrutado (NR). Entretanto, nos grupos NORMO e HIPO nenhuma diferença foi encontrada na PaO_2 entre os

subgrupos submetidos à MR ou não. A PaCO₂ e o pH_a não modificaram significativamente nos subgrupos submetidos à MR ou não, independentemente do estado volêmico.

A Est,L foi semelhante na situação BASAL em todos os grupos (Tabela 4). Na situação final (FINAL), observou-se aumento da Est,L no grupo HIPER comparado aos demais sem MR. Após a aplicação da MR, observou-se diminuição da Est,L no grupo HIPO e HIPER. Porém, a Est,L não se modificou após a MR no grupo NORMO.

A fração de colapso alveolar foi significativamente maior no grupo HIPER (42%) comparado aos grupos HIPO (27%) e NORMO (28%). A aplicação da MR diminuiu o colapso alveolar independentemente do estado volêmico. No entanto, o colapso alveolar foi maior no grupo HIPER (26%) comparado ao NORMO (17%) e HIPO (12%). Não houve áreas com hiperinsuflação em nenhum dos grupos (Figura 9 e 10).

A relação W/D foi maior no grupo HIPER do que nos grupos HIPO e NORMO. Após a MR, a relação W/D foi maior nos grupos NORMO e HIPER (Figura 11).

Nos grupos NR, relação W/D teve uma correlação positiva com a fração de área de colapso alveolar ($r=0.906$, $p < 0.001$) e Est,L ($r=0.695$, $p < 0.001$), e negativa com a PaO₂ ($r=-0.752$, $p < 0.001$). Além disso, a fração de área de colapso alveolar teve uma correlação positiva com Est,L ($r=0.681$, $p < 0.001$) e negativa com PaO₂ ($r = -0.798$, $p < 0.001$). Nos grupos submetidos ao RM-CPAP, a relação de W/D teve uma correlação positiva com a fração de área de colapso alveolar ($r=0.862$, $p < 0.001$) e Est,L ($r=0.704$, $p < 0.001$), enquanto não houve correlação com a PaO₂. Além disso, a fração de área de colapso

alveolar teve uma correlação positiva com a Est,L ($r=0.803$, $p < 0.001$), mas não com a PaO_2 .

Tabela 2. Pressão Arterial Média e dimensões de veia cava inferior e átrio direito.

			BASAL	5 min	10 min	15 min	20 min	80 min
PAM (mmHg)	HIPO	NR (n=6)	110±6	107±5	77±4*	70±3*	67±3*	62±3*
		RM-CPAP (n=6)	110±2	97±2	76±2*	71±1*	65±2*	63±1*
	NORMO	NR (n=6)	104±8	101±6	100±6**	103±6**	100±4**	97±4**
		RM-CPAP (n=6)	103±2	103±2	100±2‡	105±3‡	96±3‡	95±2‡
	HIPER	NR (n=6)	106±3	128±2* **#	130±2* **#	131±3* **#	131±2* **#	126±2* **#
		RM-CPAP (n=6)	103±2	126±5* †§	129±4* †§	128±4* †§	124±2* †§	117±5* †§
VCI (mm)	HIPO	NR (n=6)	1,6±0,2	1,5±0,1	1,2±0,1*	1,0±0,1*	1,0±0,1*	0,9±0,0*
		RM-CPAP (n=6)	1,6±0,2	1,4±0,1	1,1±0,1*	0,9±0,1*	0,8±0,0*	0,7±0,0*
	NORMO	NR (n=6)	1,6±0,1	1,7±0,1	1,6±0,1	1,7±0,0**	1,7±0,0**	1,5±0,0**
		RM-CPAP (n=6)	1,5±0,0	1,5±0,0	1,4±0,0	1,6±0,0‡	1,6±0,0‡	1,4±0,0‡
	HIPER	NR (n=6)	1,4±0,0	2,3±0,2* **#	2,6±0,1* **#	2,5±0,3* **#	2,6±0,3* **#	2,6±0,1* **#
		RM-CPAP (n=6)	1,4±0,0	2,1±0,2* †§	2,5±0,1* †§	2,6±0,1* †§	2,6±0,2* †§	2,4±0,2* †§
AD (mm)	HIPO	NR (n=6)	4,0±0,4	3,9±0,6	3,8±0,4	2,8±0,2*	2,3±0,3*	2,7±0,2*
		RM-CPAP (n=6)	4,2±0,1	3,4±0,1	3,1±0,0*	2,9±0,0*	2,5±0,2*	3,0±0,0*
	NORMO	NR (n=6)	3,5±0,0	3,5±0,0	3,7±0,0	3,5±0,0**	3,6±0,0**	3,3±0,0**
		RM-CPAP (n=6)	3,6±0,1	3,5±0,1	3,6±0,0	3,5±0,0‡	3,6±0,0‡	3,5±0,1‡
	HIPER	NR (n=6)	3,9±0,1	4,8±0,5	6,1±0,4* **#	6,5±0,4* **#	7,1±0,4* **#	7,4±0,0* **#
		RM-CPAP (n=6)	4,1±0,1	6,5±0,5* †§	7,2±0,3* †§	7,2±0,3* †§	7,3±0,3* †§	7,1±0,2* †§

Pressão arterial média (PAM) e dimensões de veia cava inferior (VCI) e átrio direito (AD) na situação BASAL, durante a indução de HIPER ou HIPO (BASAL até 20 minutos) e ao final dos experimentos (80 minutos). Os animais em cada situação volêmica foram novamente divididos aleatoriamente para receber a MR (RM-CPAP) ou não (NR). Os valores são média±EPM de 6 ratos em cada grupo. *Significativamente diferente da situação BASAL ($p < 0,05$). †Significativamente diferente do NR ($p < 0,05$). **Significativamente diferente do HIPO-NR ($p < 0,05$). ‡ Significativamente diferente do HIPO-RM-CPAP ($p < 0,05$). #Significativamente diferente do NORMO-NR ($p < 0,05$). §Significativamente diferente do NORMO-RM-CPAP ($p < 0,05$).

Tabela 3. Dados ecocardiográficos

		HIPO		NORMO		HIPER	
		NR (n=6)	RM-CPAP (n=6)	NR (n=6)	RM-CPAP (n=6)	NR (n=6)	RM-CPAP (n=6)
Débito Cardíaco (ml.min ⁻¹)	BASAL	20±10	20±10	20±10	20±10	20±10	40±10†§
	FINAL	10±10	10±10	10±10	20±10	60±10* **#	60±10†§
Volume Sistólico (ml)	BASAL	0,17±0,01	0,13±0,01†	0,13±0,01**	0,13±0,01	0,10±0,05**	0,13±0,01
	FINAL	0,10±0,01*	0,10±0,01	0,10±0,01	0,13±0,01	0,33±0,01**#	0,26±0,01*†‡§
Fração de Ejeção (%)	BASAL	74±1	73±3	78±4	74±4	74±1	68±7
	FINAL	63±4*	65±1*	71±1	73±1‡	86±3* **#	88±3*†§

Dados ecocardiográficos medidos na situação BASAL e após 1 hora de VM (FINAL). Os animais foram divididos aleatoriamente para as situações de hipovolemia (HIPO), normovolemia (NORMO) e hipervolemia (HIPER) com manobra de recrutamento (RM-CPAP) ou não (NR). Os valores são média±EPM de 6 ratos em cada grupo. *Significativamente diferente da situação BASAL ($p < 0,05$). †Significativamente da situação NR ($p < 0,05$). **Significativamente do HIPO-NR ($p < 0,05$). ‡Significativamente diferente do HIPO-RM-CPAP ($p < 0,05$). #Significativamente diferente do NORMO-NR ($p < 0,05$). §Significativamente diferente do NORMO-RM-CPAP ($p < 0,05$).

Tabela 4. Dados de troca gasosa e elastância estática pulmonar.

		HIPO		NORMO		HIPER	
		NR (n=6)	RM-CPAP (n=6)	NR (n=6)	RM-CPAP (n=6)	NR (n=6)	RM-CPAP (n=6)
PaO ₂ (mmHg)	BASAL ZEEP	225±96	190±38	164±40	228±114	147±64	212±88
	FINAL	466±32*	430±69*	485±45*	537±40*	231±20**#	380±42†§
PaCO ₂ (mmHg)	BASAL ZEEP	31±2	30±7	34±4	37±5	35±3	37±7
	FINAL	34±6	32±5	28±9	37±3	39±12	35±11
pHa	BASAL ZEEP	7,30±0,10	7,23±0,01	7,27±0,10	7,25±0,10	7,24±0,10	7,22±0,01
	FINAL	7,11±0,10	7,13±0,01	7,19±0,10	7,21±0,10	7,23±0,10	7,22±0,01
Est,L (cmH ₂ O.ml ⁻¹)	BASAL	3,4±0,3	3,2±0,5	3,0±0,3	3,1±0,3	3,3±0,5	3,3±0,5
	FINAL	3,1±0,4	1,2±0,1*†	2,6±0,1	2,5±0,4‡	4,1±0,7#‡	2,8±0,6†

Pressão parcial de oxigênio arterial (PaO₂, mmHg), pressão parcial de dióxido de carbono (PaCO₂) e pH arterial (pHa) mensurados na situação BASAL ZEEP e após 1 hora de VM após aplicação da RM-CPAP ou não (NR) (FINAL). Elastância estática pulmonar (Est,L) medida na situação BASAL (PEEP=5cmH₂O) e no FINAL. Os animais foram divididos aleatoriamente para as situações de hipovolemia (HIPO), normovolemia (NORMO) e hipervolemia (HIPER) com manobra de recrutamento (RM-CPAP) ou não (NR). Os valores são média±EPM de 6 ratos em cada grupo. *Significativamente diferente da situação BASAL (p < 0,05). †Significativamente diferente do NR (p < 0,05). **Significativamente diferente do HIPO-NR (p < 0,05). ‡Significativamente diferente do HIPO-RM-CPAP (p < 0,05). #Significativamente diferente do NORMO-NR (p < 0,05). §Significativamente diferente do NORMO-RM-CPAP (p < 0,05).

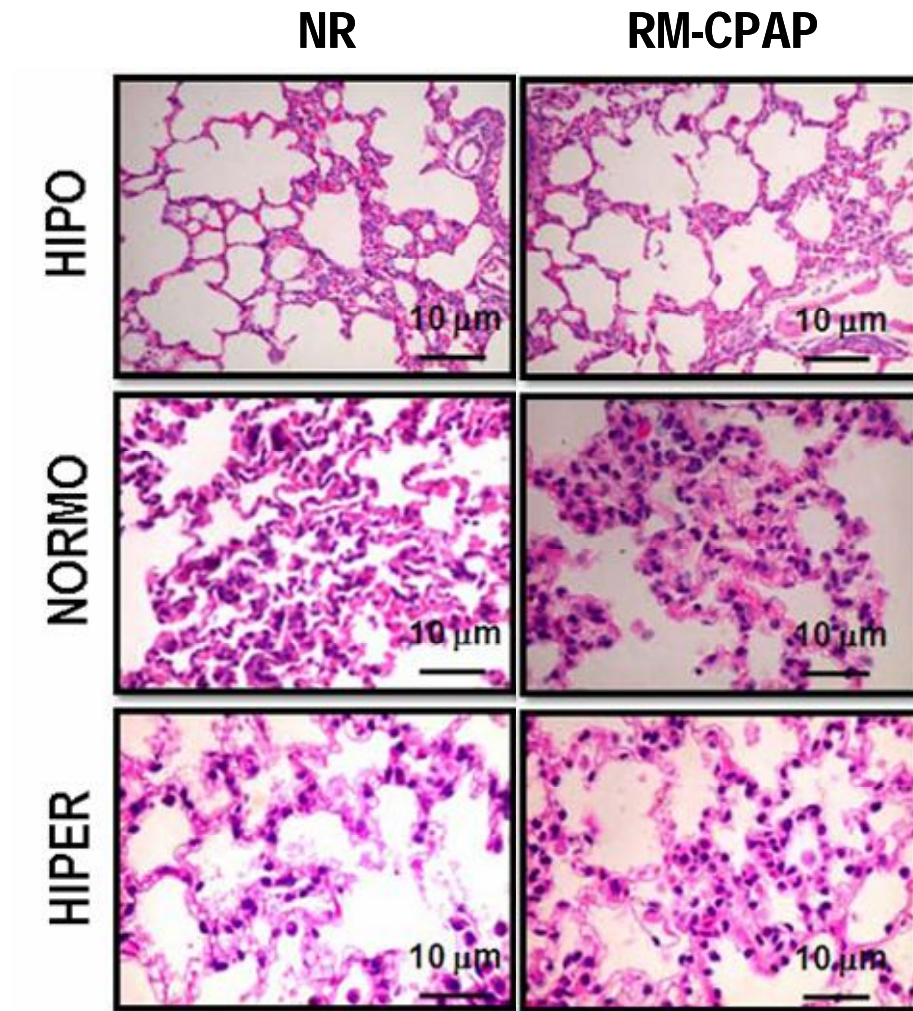


Figura 9. Fotomicrografias representativas de pulmão corado com hematoxilina-eosina. Os animais foram divididos aleatoriamente para as situações de hipovolemia (HIPO), normovolemia (NORMO) e hipervolemia (HIPER) com manobra de recrutamento (RM-CPAP) ou não (NR). Fotografias foram tiradas em um aumento original de 200X.

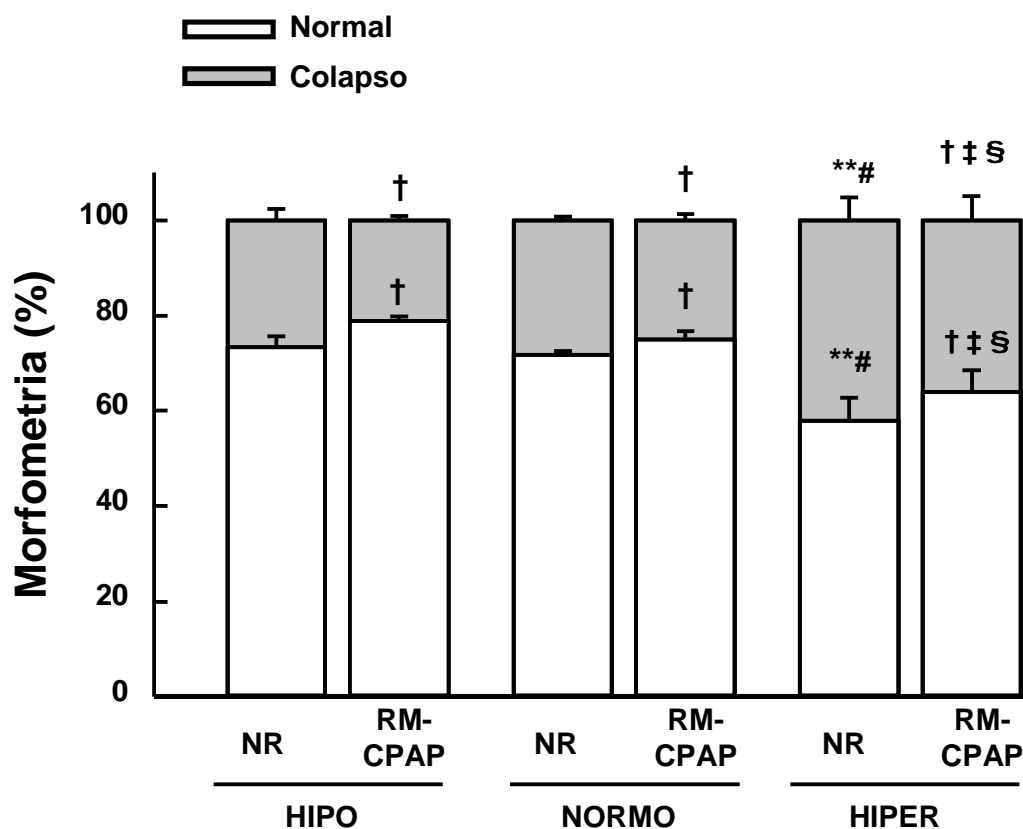


Figura 10. Fração de área ocupada por colapso (cinza) e área normal (branca). Os animais foram divididos aleatoriamente para as situações de hipovolemia (HIPO), normovolemia (NORMO) e hipervolemia (HIPER) com manobra de recrutamento (RM-CPAP) ou não (NR). Os valores são média±EPM de 6 ratos em cada grupo. †Significativamente diferente do NR ($p < 0,05$). **Significativamente diferente HIPO-NR ($p < 0,05$). ‡Significativamente diferente do HIPO-RM-CPAP ($p < 0,05$). #Significativamente diferente do NORMO-NR ($p < 0,05$). §Significativamente diferente do NORMO-RM-CPAP ($p < 0,05$).

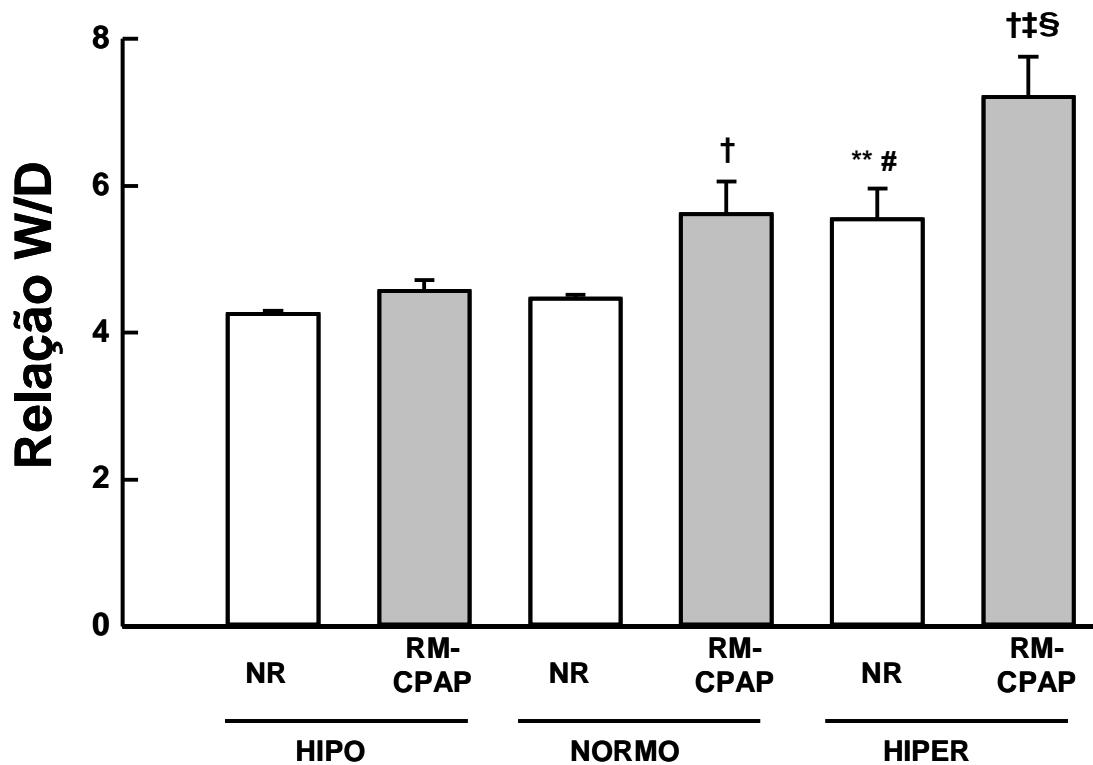


Figura 11. Relação peso úmido/peso seco (W/D) mensurado ao final do experimento. Os animais foram divididos aleatoriamente para as situações de hipovolemia (HIPO), normovolemia (NORMO) e hipervolemia (HIPER) com manobra de recrutamento (RM-CPAP) ou não (NR). Os valores são média±EPM de 5 ratos em cada grupo. †Significativamente diferente do NR ($p < 0,05$). **Significativamente diferente do HIPO-NR ($p < 0,05$). ‡Significativamente diferente do HIPO-RM-CPAP ($p < 0,05$). #Significativamente diferente do NORMO-NR ($p < 0,05$). §Significativamente diferente do NORMO-RM-CPAP ($p < 0,05$).

Os animais com LPA demonstraram lesão de organelas citoplasmáticas nos pneumócitos tipo II (PII) e corpos lamelares aberrantes, como também apoptose de célula endotelial. O desacoplamento da membrana alvéolo-capilar e a injúria de célula endotelial foram maiores no grupo HIPER comparado ao grupo HIPO e NORMO (Tabela 5). Quando a MR foi aplicada no grupo HIPER, observou-se piora do desacoplamento da membrana alvéolo-capilar, como também exacerbação da lesão de PII e do endotélio.

A hipervolemia não levou ao aumento no número de células apoptóticas no pulmão, rim, fígado, e células do intestino delgado no período estudado (1 hora) (Tabela 6). Quando este grupo foi submetido à MR, houve aumento no número de células apoptóticas no pulmão (Tabela 6 e Figura 13). Isso não foi observado nas células hepáticas (Figura 14 e Tabela 6), renais (Figura 15 e Tabela 6) e de intestino delgado (Figura 16 e Tabela 6)

Nos grupos NR, as expressões de RNAm para IL-6, VCAM-1, e ICAM-1 foram maiores nos grupos HIPER (RM-CPAP e NR) comparado com os grupos HIPO e NORMO. As expressões de RNAm para VCAM-1 e ICAM-1 também foram maiores nos grupos HIPO (RM-CPAP e NR) comparado ao NORMO, reduzindo após a aplicação da MR. Além disso, após MR, houve aumento na expressão desses mediadores no grupo NORMO. No grupo HIPER, houve aumento na expressão de RNAm para VCAM-1 após a aplicação do RM-CPAP; entretanto, a expressão de RNAm para ICAM-1 permaneceu inalterada. As expressões de RNAm para IL-6, IL-1 β , PCIII, e caspase-3 aumentaram após a aplicação da MR no grupo HIPER, porém não foi observado aumento na expressão de RNAm desses mediadores nos grupos NORMO e HIPO (Figura 17).

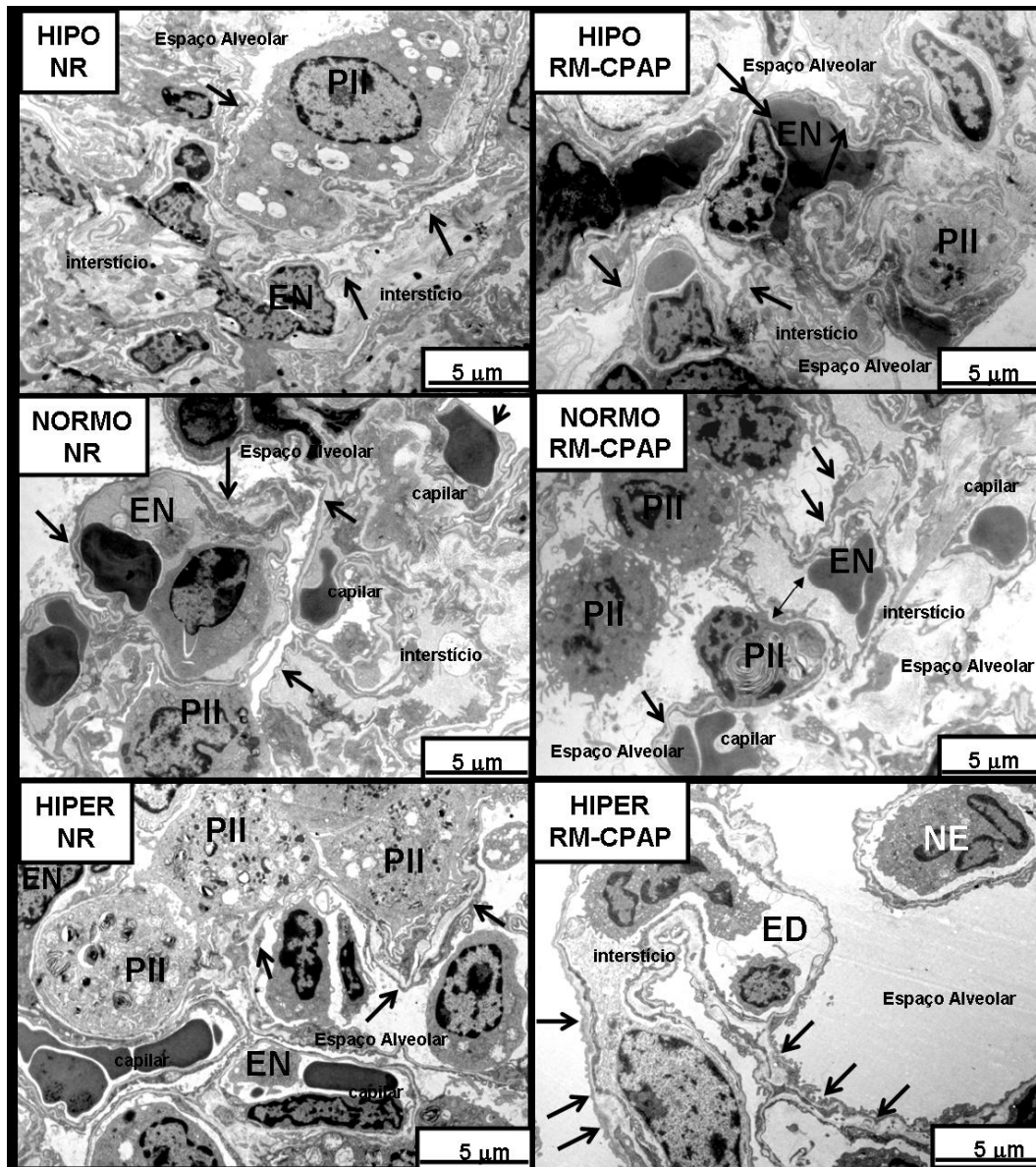


Figura 12. Microscopia eletrônica do parênquima pulmonar. Os animais foram divididos aleatoriamente para as situações de hipovolemia (HIPO), normovolemia (NORMO) e hipervolemia (HIPER) com manobra de recrutamento (RM-CPAP) ou não (NR). PII: pneumócito tipo II; EN: célula endotelial. As células tipo II (PII) como a membrana alvéolo-capilar foram lesadas em todos os grupos. Note que a membrana alvéolo-capilar está com uma injúria menor no grupo HIPO-RM-CPAP (seta) comparado com os outros grupos. No grupo NORMO-RM-CPAP, houve um desacoplamento da membrana alvéolo-capilar (setas). No grupo HIPER-RM-CPAP, note que há desorganização dos componentes celulares alveolares (setas). Fotomicrografias são representativas dos dados obtidos das tiras pulmonares de 6 animais.

Tabela 5. Análise semi-quantitativa da microscopia eletrônica.

	HIPO		NORMO (n=12)		HIPER (n=12)	
	NR (n=6)	RM-CPAP (n=6)	NR (n=6)	RM-CPAP (n=6)	NR (n=6)	RM-CPAP (n=6)
Membrana	2	2	2	3	3 ** #	4 ‡ §
Alvéolo-Capilar	(2-2,5)	(2-3)	(2-2,25)	(2-3)	(3-3,25)	(3,75-4)
Célula Epitelial	2	3	2	3	3	4 ‡ §
Tipo II	(2-2,25)	(2-3)	(2-2,25)	(2-3)	(2,75-4)	(3,75-4)
Célula	2	2	2	3	3 ** #	4 ‡ §
Endotelial	(1,75-2,25)	(2-3)	(2-2,25)	(2,75-3)	(3-4)	(3,75-4)

Achados patológicos foram graduados em sistema de escore semi-quantitativo de 5 pontos: 0=parênquima pulmonar normal, 1=modificações de 1 a 25%, 2= 26 a 50%, 3= 51 a 75% e 4= 76 a 100% de tecido examinado. Os animais foram divididos aleatoriamente para as situações de hipovolemia (HIPO), normovolemia (NORMO) e hipervolemia (HIPER) com manobra de recrutamento (RM-CPAP) ou não (NR). Os valores são mediana (percentil 25-75%) de 6 animais por grupo. **Significativamente diferente do grupo HIPO-NR ($p < 0,05$). ‡ Significativamente diferente do grupo HIPO-RM-CPAP ($p < 0,05$). #Significativamente diferente do grupo NORMO-NR ($p < 0,05$). §Significativamente diferente do grupo NORMO-RM-CPAP ($p < 0,05$).

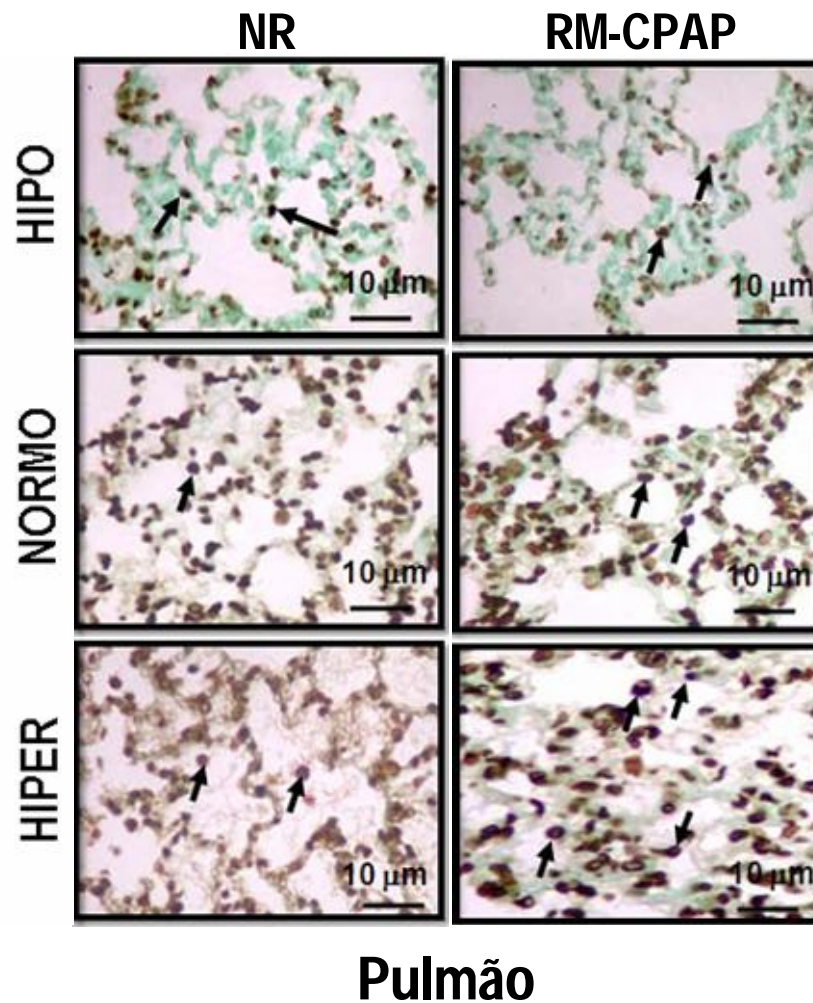
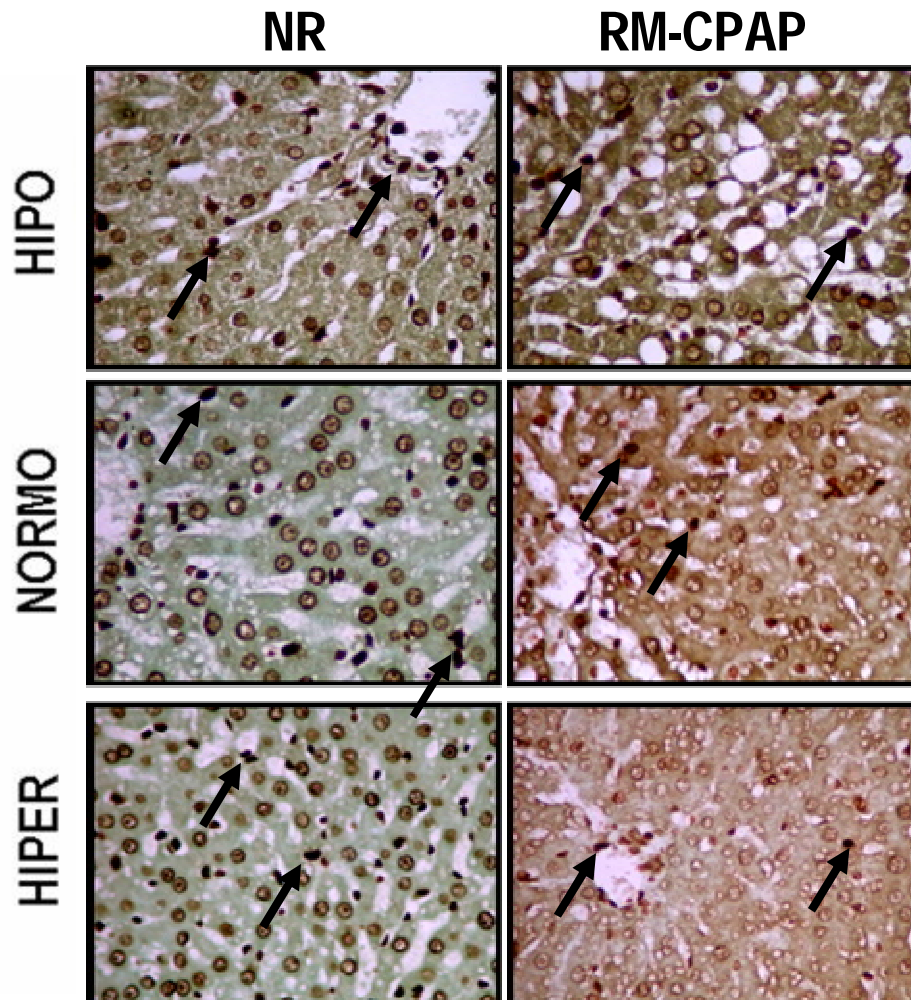


Figura 13. Fotomicrografias representativas de pulmão para análise de células apoptóticas (TUNEL). Os animais foram divididos aleatoriamente para as situações de hipovolemia (HIPO), normovolemia (NORMO) e hipervolemia (HIPER) com manobra de recrutamento (RM-CPAP) ou não (NR). Note que no grupo HIPER, teve um número maior de células apoptóticas comparado com os grupos NORMO e HIPO (setas). Fotografias foram tiradas em um aumento original de 200X.



Fígado

Figura 14. Fotomicrografias representativas de fígado para análise de células apoptóticas (TUNEL). Os animais foram divididos aleatoriamente para as situações de hipovolemia (HIPO), normovolemia (NORMO) e hipervolemia (HIPER) com manobra de recrutamento (RM-CPAP) ou não (NR). Fotografias foram tiradas em um aumento original de 200X.

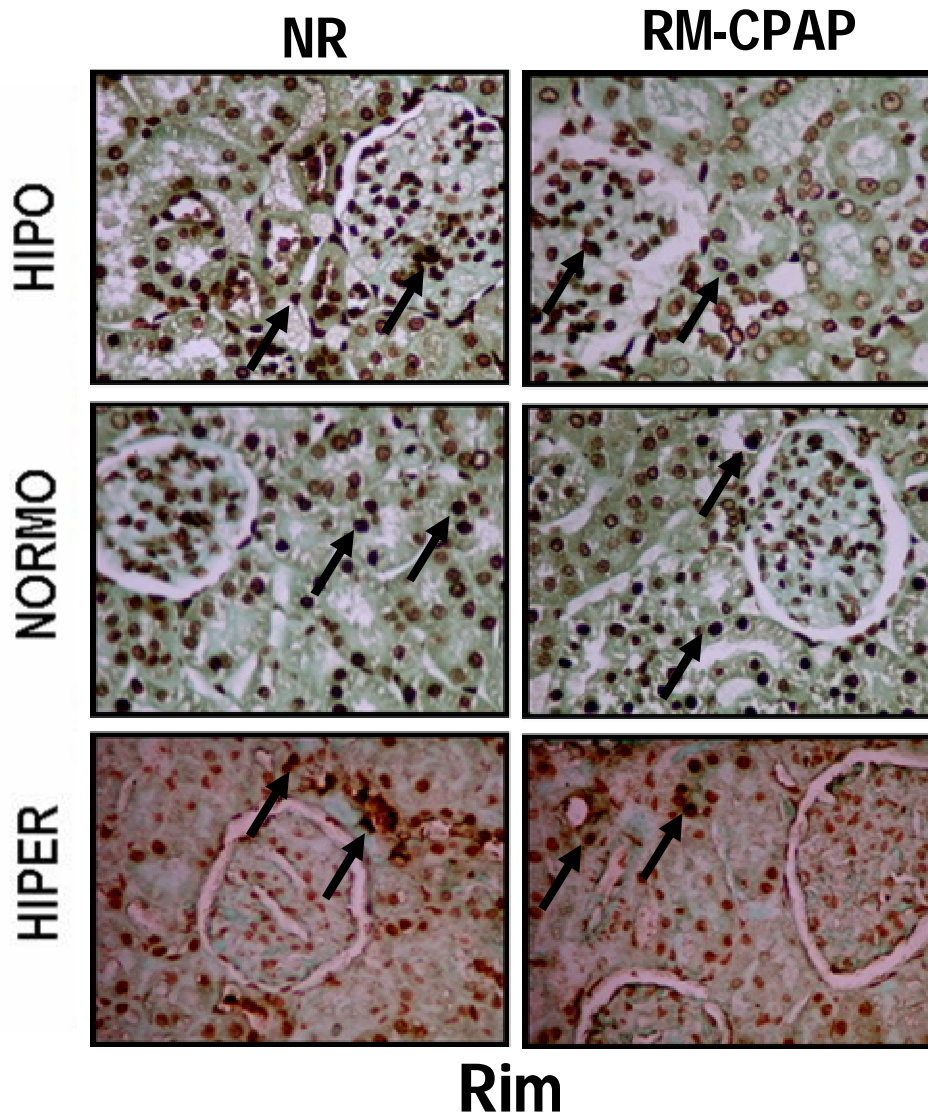


Figura 15. Fotomicrografias representativas de rim para análise de células apoptóticas (TUNEL). Os animais foram divididos aleatoriamente para as situações de hipovolemia (HIPO), normovolemia (NORMO) e hipervolemia (HIPER) com manobra de recrutamento (RM-CPAP) ou não (NR). Fotografias foram tiradas em um aumento original de 200X.

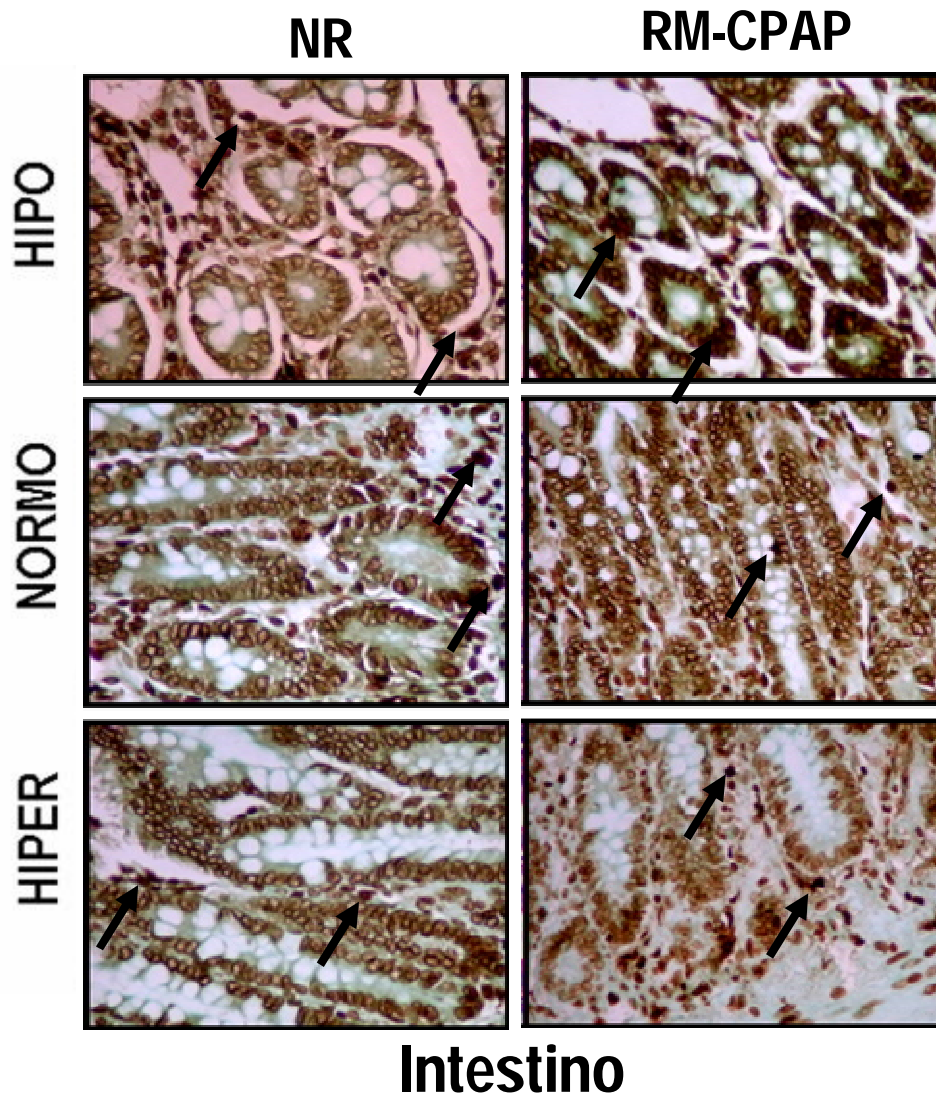


Figura 16. Fotomicrografias representativas de intestino para análise de células apoptóticas (TUNEL). Os animais foram divididos aleatoriamente para as situações de hipovolemia (HIPO), normovolemia (NORMO) e hipervolemia (HIPER) com manobra de recrutamento (RM-CPAP) ou não (NR). Fotografias foram tiradas em um aumento original de 200X.

Tabela 6. Análise semi-quantitativa de células apoptóticas.

	HIPO		NORMO		HIPER	
	NR (n=6)	RM-CPAP (n=6)	NR (n=6)	RM-CPAP (n=6)	NR (n=6)	RM-CPAP (n=6)
Pulmão	2 (2-3)	2 (2-2,25)	2 (1,75-3)	2 (2-3)	3 (2-3,25)	4‡§ (3-4)
Rim	2 (2-3)	3 (2-3,25)	3 (1,75-3)	3 (2-3)	3 (2,75-3,25)	4 (3-4)
Fígado	2 (2-2,25)	2 (2-3)	2 (2-3)	2 (2-3)	2 (2-3)	3 (2,75-3,25)
Intestino delgado	3 (2-3)	3 (2,75-3,25)	3 (2-3)	3 (2,75-3)	3 (3-4)	4 (2,75-4)

Análise semi-quantitativa de células apoptóticas no pulmão, rim, fígado e intestino delgado. Os achados apoptóticos foram graduados como negativo = 0, leve = 1, moderado = 2, alto = 3 e grave = 4 em 10 campos microscópicos não coincidentes (aumento de 400X). Posteriormente, um escore médio foi calculado (0 = parênquima pulmonar normal; 1 = 1-25%; 2 = 26-50%; 3 = 51-75%; 4 = 76-100% das estruturas alteradas). Os animais foram divididos aleatoriamente para as situações de hipovolemia (HIPO), normovolemia (NORMO) e hipervolemia (HIPER) com manobra de recrutamento (RM-CPAP) ou não (NR). Os valores são mediana (percentil 25-75%) de 6 animais por grupo. ‡Significativamente diferente do grupo HIPO-RM-CPAP ($p < 0,05$). §Significativamente diferente do grupo NORMO-RM-CPAP ($p < 0,05$).

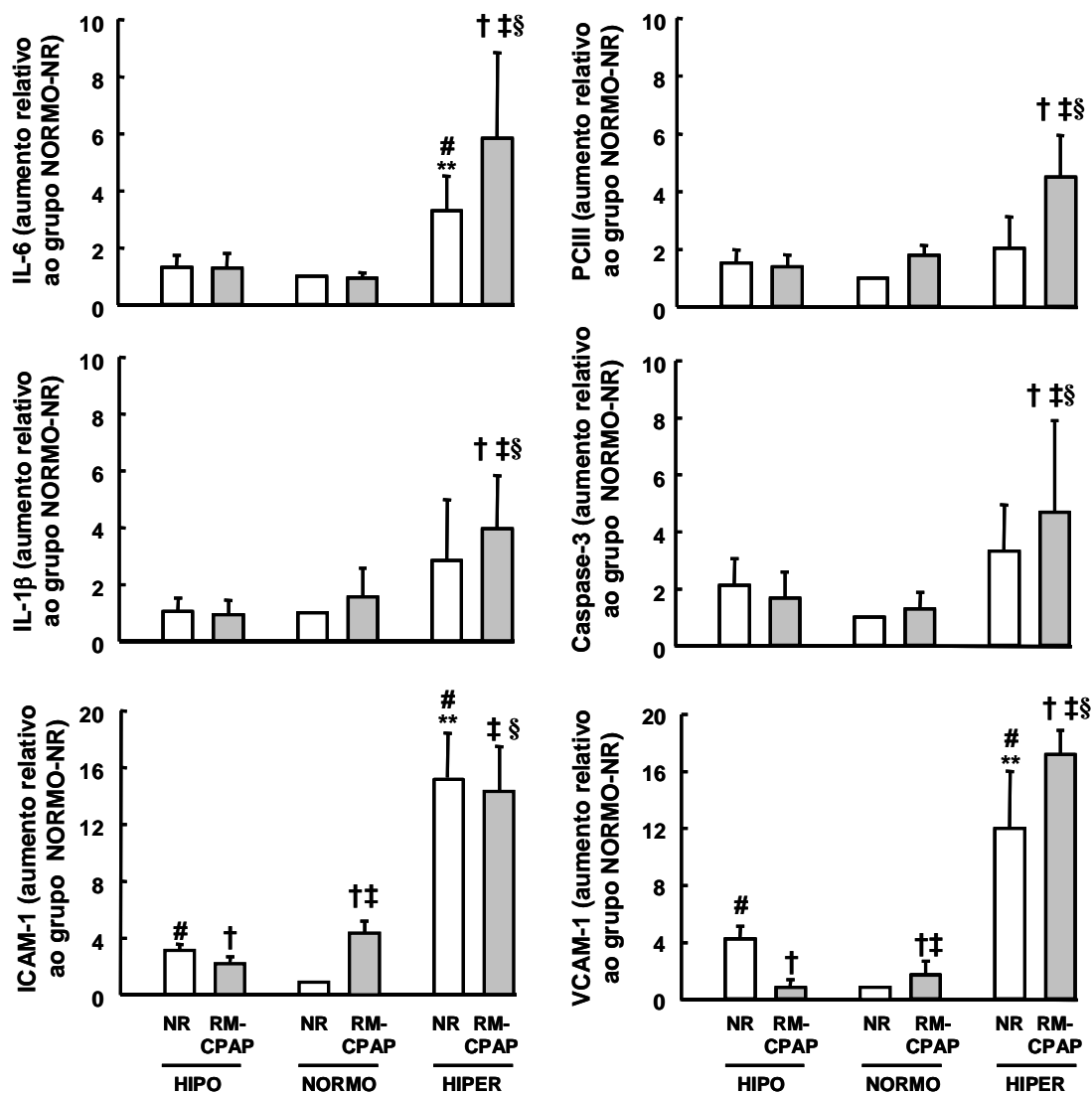


Figura 17. Análise da reação de cadeia de polimease em tempo real das expressões de RNAm para caspase-3, interleucina (IL)-6, IL1-β, pró-colágeno tipo III (PCIII), molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1), e molécula de adesão vascular 1 (VCAM-1). Os animais foram divididos aleatoriamente para as situações de hipovolemia (HIPO), normovolemia (NORMO) e hipervolemia (HIPER) com manobra de recrutamento (RM-CPAP) ou não (NR). O eixo y representa o aumento relativo ao grupo NORMO-NR. Valores são média±EPM de 5 animais em cada grupo. †Significativamente diferente do grupo NR ($p < 0,05$). **Significativamente diferente do grupo HIPO-NR ($p < 0,05$). ‡Significativamente diferente do grupo HIPO-RM-CPAP ($p < 0,05$). #Significativamente diferente do grupo NORMO-NR ($p < 0,05$). §Significativamente diferente do grupo NORMO-RM-CPAP ($p < 0,05$).

5.2 RESULTADOS DO SEGUNDO ESTUDO

Foram realizados 43 experimentos em porcos (32-38 kg), sendo que desses, os cinco primeiros foram para desenvolver o protocolo, três morreram durante a drenagem de sangue, dois durante a depleção de surfactante, dois por pneumotórax duplo e um excluído por parada cardiorrespiratória e infusão liberal de fluidos para estabilização. Com isso, restaram trinta animais sendo 10 animais por grupo (RA, GEL e HES).

Os animais na situação BASAL 1 estavam em condições comparáveis entre os grupos no que tange os parâmetros de troca gasosa, hemodinâmicos e da mecânica pulmonar (Tabelas 7-9). O número médio de lavagem foi 8 ± 4 (média \pm DP). Após a depleção de surfactante e indução da VILI, observou-se redução da PaO_2/FiO_2 ($61,3 \pm 22,8$ mmHg) em relação a situação BASAL 1 ($537,1 \pm 37,6$ mmHg), com concomitante aumento da fração de *shunt* (Q_{VA}/Q_T) de $7,8 \pm 3,4\%$ (BASAL 1) para $24,3 \pm 7,4\%$ (LESÃO) (Tabela 7). Não foram observadas diferenças nos parâmetros hemodinâmicos. Todavia, observou-se aumento do índice de água extravascular (EVLWI) de $9,4 \pm 0,9$ para $15 \pm 2,2$ (Tabela 8). Com relação à mecânica pulmonar, foram observados aumentos significativos das pressões de pico e transpulmonar, elastância de sistema respiratório e pulmão, e resistência de sistema respiratório e pulmão da situação BASAL 1 em comparação à LESÃO (Tabela 9).

Após a inserção dos animais em uma estratégia ventilatória protetora (BASAL 2), observou-se aumento da oxigenação (151%) e redução da fração de shunt (247%) em comparação à situação LESÃO (Tabela 7). Em relação à hemodinâmica, foi observada redução do EVLWI (20%) sem modificações significativas nos outros parâmetros (Tabela 8). Já na mecânica pulmonar,

foram observadas reduções da pressão transpulmonar (61%) e elastância dinâmica do pulmão (79%) sem grandes modificações ao longo do experimento. Após a drenagem de 25% do volume sanguíneo estimado (BASAL 3), observou-se redução do índice do volume de sangue intratorácico [ITBVI, de $592,7 \pm 49,9$ ml/m² (BASAL 2) para $502,6 \pm 66,4$ ml/m² (BASAL 3) ($p < 0,001$)], pressão arterial média [PAM, de 76 ± 11 mmHg (BASAL 2) para 60 ± 10 mmHg (BASAL 3)], débito cardíaco [DC, de $3,7 \pm 0,7$ L/min (BASAL 2) para $3,1 \pm 0,6$ L/min (BASAL 3)] e aumento da frequência cardíaca [FC, de 94 ± 16 bpm (BASAL 2) para 115 ± 25 bpm (BASAL 3)]. Após a divisão aleatória dos animais para os respectivos grupos, observou-se aumento do ITBVI e PAM, porém esses valores não ultrapassaram a situação BASAL 2, mantendo-se 7,93% abaixo do nível de normovolemia e 7,91% acima do nível de hipovolemia. Em outras palavras, não foi evidenciada sobrecarga hídrica em nenhum dos grupos e nem foi observada restrição intensa de fluidos, o que pode ser evidenciado pelos valores de PAM e débito urinário (DU) ($> 0,5$ ml/kg/h) (Tabela 8). Em relação à troca gasosa, observou-se aumento da oxigenação e redução da fração de *shunt*, independente do tipo de terapia (RA, GEL e HES). Além disso, demonstrou-se diminuição dos níveis de hemoglobina em todos os grupos em relação à situação BASAL 3 (Tabela 7) e aumento da pressão abdominal (PAbd) em todos os grupos, independente da terapia (Tabela 8). Além disso, o índice de água extravascular pulmonar (EVLWI) diminuiu em todos os grupos em relação à situação BASAL 2, não sendo diferente entre as terapias. Entretanto, para manter o mesmo nível de ITBVI, o grupo RA recebeu uma quantidade maior de fluidos (2250 ± 764 ml) em

comparação com o GEL (704 ± 159 ml) e ao HES (837 ± 82 ml), sendo a relação destes com RA de 3,22 e 2,67, respectivamente (Tabela 8).

A relação W/D do pulmão (Figura 18), foi maior no grupo RA em comparação aos outros grupos (GEL e HES).

A Figura 19 ilustra as correlações entre os dados funcionais e a relação W/D pulmonar. Não foi observada correlação entre o índice de água extravascular (EVLWI) e a relação de W/D pulmonar ($r = 0,33$, $p=0.07$). Esse, por sua vez apresentou correlação negativa significativa com a troca gasosa ($r = 0,55$, $p = 0,002$). Além disso, o EVLWI apresentou correlação negativa com a troca gasosa ($r = -0,37$, $p = 0,04$).

Tabela 7. Dados da troca gasosa e nível de hemoglobina.

	BASAL 1	LESÃO	BASAL 2	BASAL 3	RA	GEL	HES
PaO₂/FIO₂	537,1±37,6	61,3±22,8*	154±44,4*†	197,4±66,8*†	343,8±99,3*†**#	344,4±104,1*†**#	398,7±82,3*†**#
Q_VA/Q_T (%)	7,8±3,4	24,3±7,4*	9,8±2,6†	7,1±2,6†**	5,3±2,6†**	5,7±2,1†**	3,3±0,8*†**
PacO₂ (mmHg)	40,8±2,3	55,0±9,5*	56,7±6,3*	54±5,8*	51,4±7,3*	52,3±3,7*	57,1±7,0*
S_VO₂ (%)	80,6±9,2	47,9±14,6*	56,5±12,4*	51,3±9,5*	56,1±14,4*	61,8±12,1*†	55,8±8,1*
DO₂ (mlO ₂ /min)	902±241	654±192*	655,7±152,3*567,7±129,9*	249±46,4*	545±186*	544±71*	603±124*
VO₂ (mlO ₂ /min)	211±59	249±72*	227,2±53,6	249±46,4*	221±49	213±80	262±41* **
Hb (g/dl)	9,5±0,7	10,1±1,0	10,3±1,0*	9,7±1,0	8,6±1,0*†**#	8,1±0,9*†**#	8,4±1,3*†**#
pHa	7,44±0,03	7,32±0,06*	7,3±0,05*	7,32±0,05*	7,36±0,06*†**	7,37±0,04*†**#	7,33±0,06*†**#
HCO₃⁻ (mmol/L)	27,41±2,0	24,7±1,9*	24,8±2,4*	25,1±2,0*	26,9±1,8†**#	28,3±2,8†**#	27,4±2,2†**#
BE (meq/L)	3,20±2,22	1,6±2,0*	1,5±2,4*	1,5±2,2*	3,2±1,8†**#	4,6±2,9*†**#	3,9±2,2†**#

PaO_2/FiO_2 : índice de oxigenação; Q_{VA}/Q_T : fração de *shunt*; $PaCO_2$: pressão parcial de dióxido de carbono; S_vO_2 : saturação venosa de oxigenação; DO_2 : oferta de oxigênio; VO_2 : consumo de oxigênio; Hb: nível de hemoglobina; BE: excesso de base. BASAL 1: dados basais após a preparação do animal; LESÃO: dados após a lesão (depleção de surfactante e VILI); BASAL 2: dados após a inserção em estratégia ventilatória protetora; BASAL 3: dados após a indução de hipovolemia. RA: Ringer Acetato; GEL: Gelafundin (Gelafusal 4%); HES: Hidroexítal Starch (6% em RA, HES 130/0.4).. Valores são média±DP de 10 animais por grupo. * Significativamente diferente da situação BASAL 1 ($p < 0,05$). † Significativamente diferente da situação LESÃO ($p < 0,05$). ** Significativamente diferente da situação BASAL 2 ($p < 0,05$). # Significativamente diferente da situação BASAL 3 ($p < 0,05$).

Tabela 8. Parâmetros hemodinâmicos e volume infundido.

	BASAL 1	LESÃO	BASAL 2	BASAL 3	RA	GEL	HES
DC (L/min)	4,4±1,1	4,2±1,0	3,7±0,7*	3,1±0,6†***	3,1±0,9*	3,4±0,4*	3,6±0,6
FC (bpm)	93±19	91±14	94±16	115±25†***	97±19	98±17	104±13
PAM (mmHg)	74±12	82±10*	76±11	60±10*†***	72±12#	68±7#	77±12#
PMAP (mmHg)	19±4	31±5*	30±4*	27±3*	31±4*	31±3*	31±6*
PVC (mmHg)	6±2	7±2	8±2*†	6±1**	9±1*†#	8±1*#	7±1
POAP (mmHg)	9±2	10±2	10±2	9±1	10±2	10±2	9±1
PAbd (mmHg)	5±3	6±2	7±3	7±3	15±4*†***#	15±5*†***#	11±3*†***#
DU (ml)	81±46	385±339*	520±400*	590±420*	997±321*†***#	1058±661*†***#	1217±325*†***#
ITBVI (ml/m²)	608,2±52,0	642,5±62,1	592,7±49,9	502,5±66,4*†***	533,2±61,4†	545,9±63,6†	523,0±43,4*†
EVLWI (ml/kg)	9,4±0,9	15,0±2,2*	12,6±2,1†	11,5±2,2†	10,6±1,9†***	9,6±1,9†***#	9,8±1,6†***
Volume Infundido (ml)	-	-	-	-	2250±764	704±159#	837±82#
Relação Cris/Coi	-	-	-	-	-	3,22	2,67

DC: débito cardíaco; FC: frequência cardíaca; PAM: pressão arterial média; PMAP: pressão média de artéria pulmonar; PVC: pressão venosa central; POAP: pressão de oclusão de artéria pulmonar; PAbd: pressão abdominal; DU: débito urinário; ITBVI: índice de volume sanguíneo intratorácico; EVLWI: índice de água extravascular pulmonar. BASAL 1: dados basais após a preparação do animal; LESÃO: dados após a lesão (depleção de surfactante e VILI); BASAL 2: dados após a inserção em estratégia ventilatória protetora; BASAL 3: dados após a indução de hipovolemia. RA: Ringer Acetato; GEL: Gelafundin (Gelafusal 4%); HES: Hidroexítol Starch (6% em RA, HES 130/0.4). Valores são média±DP de 10 animais por grupo. * Significativamente diferente da situação BASAL 1 ($p < 0,05$). † Significativamente diferente da situação LESÃO ($p < 0,05$). ** Significativamente diferente da situação BASAL 2 ($p < 0,05$). # Significativamente diferente da situação BASAL 3 ($p < 0,05$). ‡ Significativamente diferente do grupo RA ($p < 0,05$).

Tabela 9. Parâmetros da mecânica respiratória.

	BASAL 1	LESAO	BASAL 2	BASAL 3	RA	GEL	HES
FR (irpm)	21±3	21±3	30±0†	30±0†	30±0†	31±2†	30±0†
VT (ml)	288±27	283±26	237,6±22,4*†	236,5±22,2*†	227±27*†	233±17*†	245±21*†
V _E (L, min)	6,1±1,2	5,9±1,0	7,1±0,7*†	7,1±0,7*†	6,8±0,8*†	7,2±0,8*†	7,3±0,6*†
PIP (cmH ₂ O)	19,7±2,6	36,8±4,8*	35,1±2,2*	34,3±2,3	32,7±1,7*†***#	32,6±2,5†***#	31,2±2,6†***#
PL (cmH ₂ O)	10,3±2,6	27,1±4,9*	16,8±3,8*†	16±3,3*†	14,3±1,6*†	14,6±2,0*†	13,1±2,8†
E _s S _I (cmH ₂ O/ml)	36,7±8,1	92,6±18,8*	78,8±12,9*†	74,8±13,2*†	69,3±8,0†***	67,9±10,6†***	57,9±13,9†**
EL (cmH ₂ O/ml)	25,4±8,6	80,0±18,5*	63,7±12,9*†	58,1±12,9*†	54,4±6,8*†	54,9±10,9*†	45,1±12,3*†
R, S _I (cmH ₂ O/ml/s)	8,5±1,3	16,3±6,3*	10,3±2,3†	9,5±2†	8,5±1,6*†***#	8,6±1,4*†***#	8,2±2,2*†***#
RL (cmH ₂ O/ml/s)	7,0±1,3	15,2±6,2*	9,1±2,2†	8,4±1,9†	7,6±1,5†***#	7,5±1,3†***#	7,1±2,2†***#

FR: frequência respiratória; V_T : volume corrente; V'_E : volume minuto; PIP: pressão de pico de sistema respiratório; PL: pressão transpulmonar; E_{sr} , elastância de sistema respiratório; EL: elastância dinâmica de pulmão; R_{sr} : resistência de sistema respiratório; RL: resistência de pulmão. BASAL 1: dados basais após a preparação do animal; LESÃO: dados após a lesão (depleção de surfactante e VILI); BASAL 2: dados após a inserção em estratégia ventilatória protetora; BASAL 3: dados após a indução de hipovolemia. RA: Ringer Acetato; GEL: Gelafundin (Gelafusal 4%); HES: Hidroexítel Starch (6% em RA, HES 130/0.4). Valores são média \pm DP de 10 animais por grupo. * Significativamente diferente da situação BASAL 1 ($p < 0,05$). † Significativamente diferente da situação LESÃO ($p < 0,05$). ** Significativamente diferente da situação BASAL 2 ($p < 0,05$). # Significativamente diferente da situação BASAL 3 ($p < 0,05$).

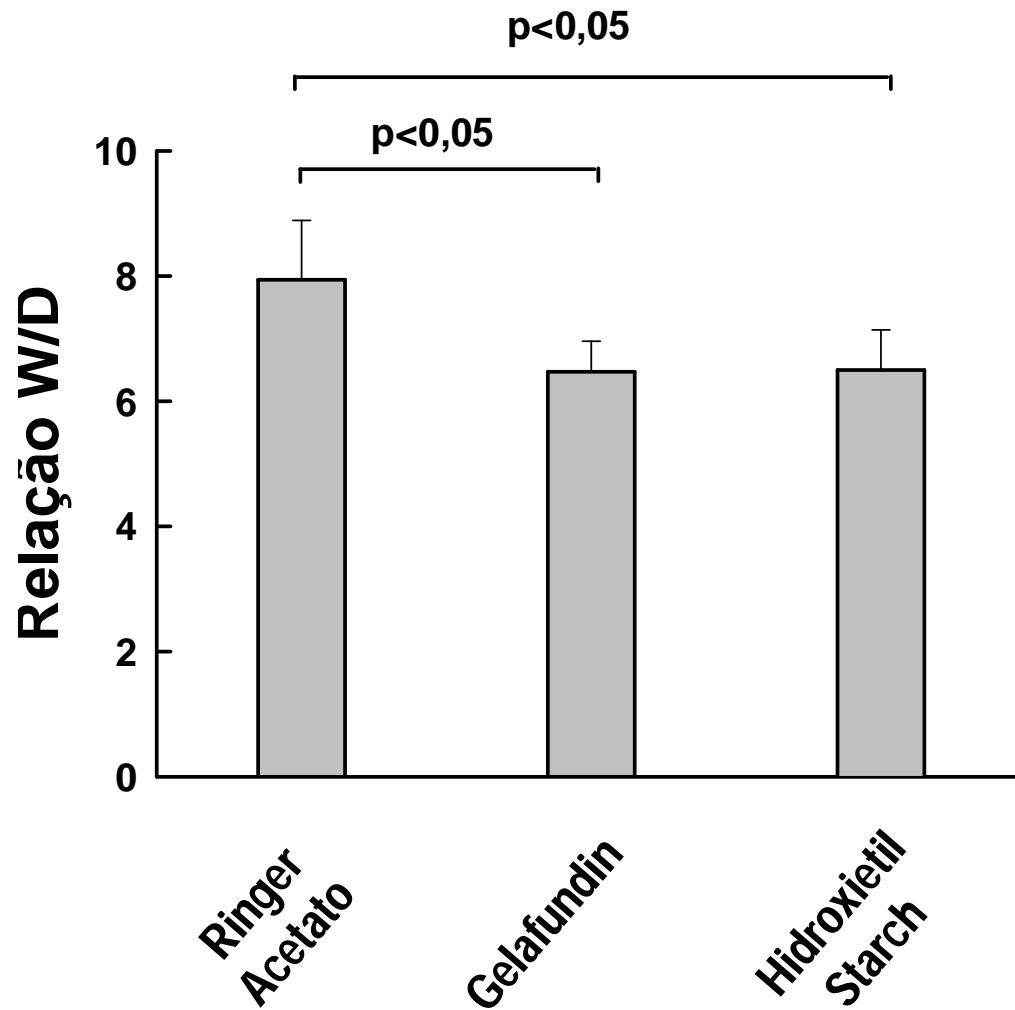


Figura 18. Relação peso úmido/peso seco (W/D). Valores representam média±DP de 10 animais por grupo.

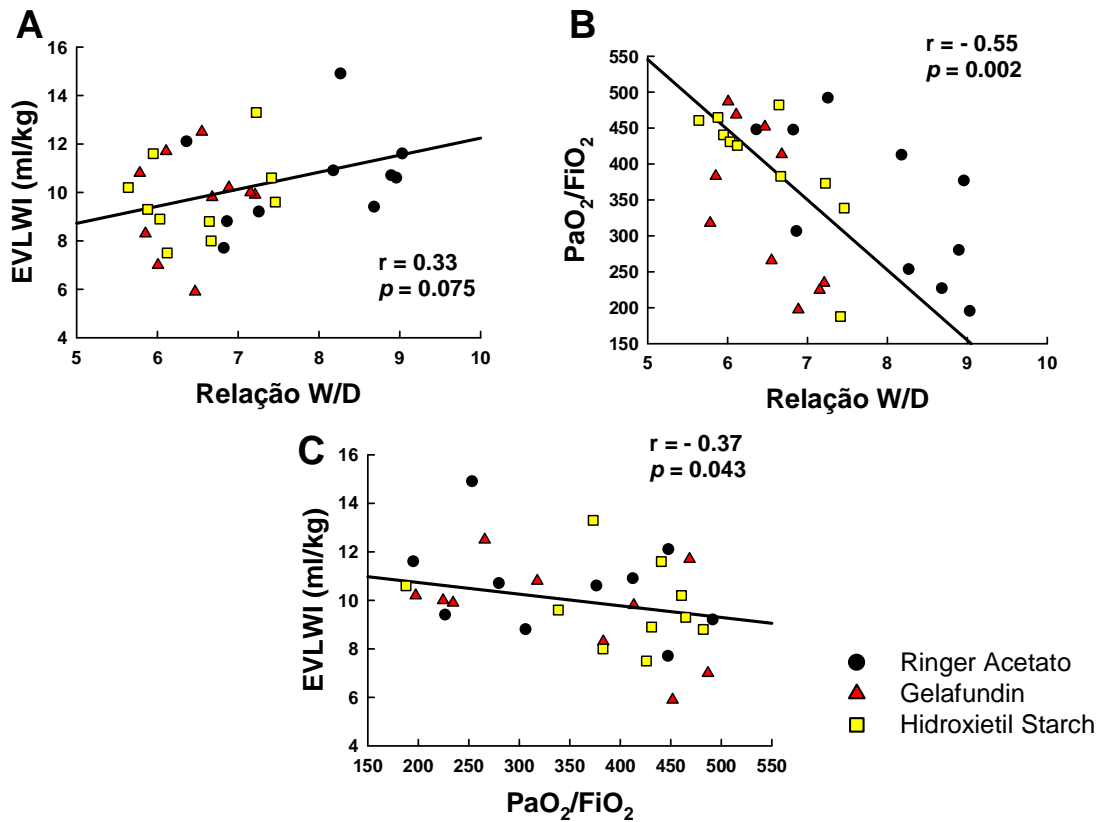


Figura 19. Correlação entre os dados funcionais. A: Correlação entre o índice de água extravascular (EVLWI) e a relação peso úmido/peso seco (W/D) pulmonar. B: Correlação entre o índice de oxigenação (PaO_2/FiO_2) e a relação peso úmido/peso seco (W/D) pulmonar. C: Correlação entre o índice de água extravascular (EVLWI) e o índice de oxigenação (PaO_2/FiO_2). Cada símbolo corresponde ao fluido administrado. Valores absolutos de 10 animais por grupo, totalizando 30 animais; r = índice de correlação, p = nível de significância.

DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

6.1 DISCUSSÃO DO PRIMEIRO ESTUDO

No primeiro estudo, foram examinados os efeitos da manobra de recrutamento (MR) em modelo experimental de LPA induzido por ligadura e perfuração de ceco (CLP) em diferentes níveis de volemia. Foi observado que: 1) a hipervolemia aumentou a relação de W/D pulmonar e colapso alveolar levando a diminuição da oxigenação e Est,L. Além disso, a hipervolemia foi associada com danos alveolar e endotelial e aumento na expressão de RNAm para IL-6, VCAM-1 e ICAM-1 no tecido pulmonar; 2) A MR reduziu o colapso alveolar independentemente do estado volêmico. Nos animais hipervolêmicos, a MR melhorou a oxigenação acima dos níveis observados somente com o uso da PEEP, mas a sua aplicação foi associada com piora do dano alveolar e maior resposta inflamatória e fibrogênica; e 3) o estado volêmico prévio associado ou não à MR não causou lesão em órgãos periféricos no período estudado (1 hora).

6.1.1 ASPECTOS METODOLÓGICOS

Esse é o primeiro estudo a investigar os efeitos da associação entre a MR e o estado volêmico na LPA induzida por sepse. Foi utilizado um modelo experimental de sepse induzido por CLP, o qual é reprodutível e ocasiona lesão de órgãos comparável à observada na sepse cirúrgica humana (REMICK 2000; RITTIRSCH 2009).

O estado volêmico foi avaliado durante o experimento por meio de ecocardiografia. Nesse contexto, tem sido demonstrado que a ecocardiografia fornece importantes informações sobre a pré-carga e função cardíaca (MITAKA 1989; YOUN 1999).

Além disso, foi utilizada fração de oxigênio inspirada de 0,3 ao longo do estudo, a fim de minimizar possíveis efeitos iatrogênicos sobre o parênquima pulmonar (DOS SANTOS & SLUTSKY 2006). Entretanto, com a finalidade de evitar possíveis efeitos no desacoplamento da relação ventilação/perfusão que pudessem confundir a interpretação dos dados de troca gasosa, optou-se por aumentar a FiO_2 para 1, cinco minutos antes da coleta de sangue (KULKARNI 2007). Todos os animais foram submetidos à estratégia ventilatória protetora para minimizar possíveis interações entre a ventilação mecânica convencional (12 ml/kg), estado volêmico e a MR.

As expressões gênicas de IL-6 e IL-1 β no tecido pulmonar foram determinadas em função do importante papel destes marcadores na patogênese da LPA/SDRA e VILI (FANELLI 2009). Enquanto a IL-6 se correlaciona com a gravidade da LPA/SDRA (PANACEK 2004), a IL-1 β está associada ao grau da VILI (DOS SANTOS & SLUTSKY 2006). Por outro lado, a expressão de RNAm para pró-colágeno tipo III foi determinada por ser o primeiro colágeno no curso da fibrogênese pulmonar (ROCCO 2001; DE CARVALHO 2007). Ademais, foi mensurado o nível da expressão de mRNA para caspase-3, que se apresenta elevado em presença de apoptose (SLEE 1999), já que está envolvida na via final da indução de apoptose. Finalmente, os efeitos dos estados volêmicos e da MR na expressão de RNAm para ICAM-1 e VCAM-1 foram determinados uma vez que essas moléculas de adesão estão envolvidas no acúmulo de neutrófilos no tecido pulmonar, exercendo um papel crucial na patogênese da VILI (MIYAO 2006).

6.1.2 EFEITOS DA VOLEMIA NO PULMÃO E EM ÓRGÃOS DISTAIS

Durante o curso da sepse grave é recomendada a ressuscitação

precoce e rápida de fluidos (DELLINGER 2008). Porém, na LPA/SDRA ainda não se sabe o melhor manejo da administração de fluido. Recomenda-se administração conservadora de fluidos, após 48 horas, na LPA/SDRA na tentativa de se diminuir o edema pulmonar e a duração da VM, e aumentar a sobrevida (WIEDEMANN 2006). Entretanto, a restrição de fluido acarreta diminuição do débito cardíaco e a piora da perfusão aos órgãos distais, sendo ambas revertidas com um manejo liberal de fluidos. Nossos dados mostram que a hipervolemia conduziu a um maior grau de lesão pulmonar, mas não em órgãos periféricos no período estudado (1 hora). A hipervolemia foi associada com um desacoplamento mais acentuado da membrana alvéolo-capilar, como também lesão de células endoteliais. Por outro lado, a restrição de fluidos não agravou o dano aos órgãos periféricos. Alguns mecanismos poderiam explicar os efeitos adversos da hipervolemia na lesão pulmonar: 1) aumento das pressões hidrostáticas; e 2) aumento no fluxo e no volume de sangue capilar. Durante a hipervolemia, o aumento do edema pulmonar foi determinado pela alteração da permeabilidade da membrana alvéolo-capilar que é um achado comum em sepse (VAN DER HEIJDEN 2009), associado à alta pressão hidrostática induzida pela infusão maciça de fluidos. Na presença de edema pulmonar, há aumento da pressão hidrostática ao longo do gradiente ventro-dorsal, que pode promover redução das áreas normalmente aeradas, contribuindo para maior relação estiramento/tensão e estresse de cisalhamento ocasionado pela abertura e fechamento cíclicos das unidades alveolares (GATTINONI & PESENTI 2005).

Os grupos hipervolêmicos apresentaram baixa oxigenação e alta elastância estática do pulmão. A redução da oxigenação pode ser atribuída à

piora do edema pulmonar e atelectasia. O aumento na Est,L sugere elevação do estresse/estiramento em áreas pulmonares aeradas durante a insuflação. Além disso, como foi utilizado o mesmo volume corrente em todos os grupos, a hipervolemia induziu maior colapso alveolar reduzindo a área efetiva de ventilação e induzindo maior estresse de cisalhamento. Nesse contexto, uma vez que não foram observadas áreas com hiperinsuflação o principal determinante do aumento do estresse pulmonar foi o processo cíclico de abertura e colapso de alvéolos (DOS SANTOS & SLUTSKY 2000).

O débito cardíaco, volume sistólico e a fração de ejeção foram maiores durante a hipervolemia. O aumento do fluxo sanguíneo pulmonar também pode danificar diretamente os pulmões. Em um modelo de VILI, Lopez-Aguilar e colaboradores (LOPEZ-AGUILAR 2006) mostraram que a intensidade da perfusão pulmonar contribuiu para a formação de edema pulmonar, distribuição inhomogênea da ventilação e dano histológico. Nos animais hipervolêmicos, observou-se aumento na expressão de RNAm para IL-6 no tecido pulmonar. Isso poderia ser explicado pelo alto fluxo de sangue induzido pela hipervolemia. Por outro lado, a expressão de RNAm para PCIII não se modificou, provavelmente pela ausência de áreas hiperinsufladas (STEIMBACK 2009). Adicionalmente, as expressões de RNAm para VCAM-1 e ICAM-1 foram maiores no grupo HIPER, o que sugere ativação endotelial devido ao estiramento mecânico vascular. Apesar do aumento da lesão pulmonar e ativação do processo inflamatório, a hipervolemia não foi associada com aumento de lesão em órgãos distais. Similarmente, a hipovolemia e normovolemia, não acarretaram lesão pulmonar adicional. Essa observação corrobora a assertiva prerrogativa de que os pulmões são particularmente

sensíveis a sobrecarga de fluidos (NEGRINI 2003), exacerbando o dano membrana alvéolo-capilar, promovendo liberação de mediadores na circulação e lesão de órgãos periféricos. Porém, quando a estratégia ventilatória protetora é instaurada, a descompartimentalização do processo inflamatório é limitada (PLOTZ 2004).

6.1.3 INTERAÇÕES ENTRE MANOBRAS DE RECRUTAMENTO E VOLEMIA

O conceito de V_T baixo e pressão limitada de via aérea tem sido relacionado à diminuição da mortalidade em pacientes com LPA/SDRA (PUTENSEN 2009). Entretanto, há controvérsia sobre o uso rotineiro da MR. Se por um lado a MR pode melhorar a oxigenação por outro lado induz efeitos adversos tais como: lesão epitelial (RIVA 2008) e instabilidade hemodinâmica (FAN 2008). As MRs também podem ser úteis para a titulação da PEEP, depois de uma desconexão inadvertida do paciente do ventilador mecânico, após a aspiração de via aérea (BARBAS 2005) ou quando associadas com outras manobras como, por exemplo, posição prona (OCZENSKI 2005).

Nos animais analisados, a MR reduziu a fração de área de colapso alveolar e elevando a fração de áreas normais, independentemente do grau de volemia. Nesse contexto, estudos experimentais e clínicos demonstraram que o aumento da aeração está associado com a melhora da mecânica pulmonar (GATTINONI 2006; HENZLER 2006; CARVALHO 2008). A MR aumentou a oxigenação durante a hipervolemia, provavelmente por ocasionar elevação na quantidade de tecido recrutável, contribuindo para a efetividade da MR em reverter atelectasias e diminuir o *shunt* intrapulmonar. Gattinoni e colaboradores (GATTINONI 2006) demonstraram efeitos benéficos da MR mais

pronunciados em pacientes com maior edema pulmonar e atelectasias. Já nos grupos HIPO e NORMO, a falta de correlação observada entre as áreas colapsadas e a oxigenação depois da aplicação da MR poderia ser explicada pela redistribuição da perfusão pulmonar (CRESSONI 2008; CARVALHO 2009), já que a abertura das unidades alveolares acarretaram maior redução de perfusão. Após a aplicação da MR, a Est,L diminuiu no grupo HIPO, sendo que essa resposta não foi observada nos grupos NORMO e HIPER. A melhora da Est,L no grupo HIPO poderia ser explicada pelo recrutamento alveolar. Considerando o grupo NORMO, essa ausência de resposta frente à MR pode ser devido ao aumento do edema intersticial, com conseqüente elevação da Est,L.

A MR aumenta o *clearance* de fluidos alveolares (CONSTANTIN 2007) resultando em maior fração de alvéolos aerados e diminuição da extensão da lesão pulmonar (KOH 2005). Nossos dados sugerem que a aplicação da MR nos grupos HIPO e NORMO não acarretou lesão adicional ao epitélio e ao endotélio pulmonares ou aumento na expressão de mediadores inflamatórios e fibrogênicos. Além disso, as MRs induziram aumento na expressão de RNAm para VCAM-1 nos grupos NORMO e HIPER, mas não de ICAM-1 que foi maior no grupo HIPER, independentemente da aplicação da MR. Por outro lado, no grupo HIPO após a MR, houve diminuição na expressão de RNAm para VCAM-1 e ICAM-1, refletindo provavelmente redução do estresse de estiramento. A MR, aumenta, transitoriamente, o estresse pulmonar (HENZLER 2006), lesando o capilar alveolar, bem como ativando os processos inflamatório e fibrogênico (RIVA 2008; STEIMBACK 2009). Porém, o potencial da MR em danificar o pulmão ainda é um assunto em debate (FAN 2008). Na

hipervolemia, nossos resultados sugerem que apesar da melhora funcional, a MR acarreta desacoplamento da membrana alvéolo-capilar, lesão ao pneumócito tipo II e células endoteliais, como também uma ativação das respostas inflamatória e fibrogênica. Como previamente discutido, a hipervolemia *per se* pode piorar a lesão pulmonar, especialmente no nível da membrana alvéolo-capilar. Nossos resultados sugerem que os efeitos deletérios da hipervolemia na lesão pulmonar são potencializados pelo aumento da relação de estiramento/tensão induzido pela MR. O incremento na expressão dos diferentes mediadores inflamatórios após a aplicação da MR na hipervolemia não pode ser explicado através do estresse de cisalhamento determinado pelo processo de abertura e fechamento cíclicos das unidades alveolares. Na realidade, a atelectasia reduziu após a aplicação da MR na situação de hipervolemia. Assim, o aumento na expressão de genes relacionados à inflamação no pulmão pode ser resultante da MR *per se*. Existem dados contraditórios no que tange o potencial da MR na descompartimentalização da inflamação (TALMOR 2007; HALBERTSMA 2010). Nossos resultados sugerem que a combinação da MR com a situação de hipervolemia não venha a acarretar lesão em órgãos periféricos. Não obstante, nós não podemos extrapolar esses resultados para períodos maiores de VM e/ou à aplicação de outras manobras de recrutamento dos pulmões. Ademais, aplicações freqüentes de MR poderiam acelerar e exacerbar nossos resultados. Por outro lado, MR com aumento gradual da pressão de via aérea poderia acarretar menor tensão e, com isso, reduzir o respectivo impacto biológico. Certamente, esse assunto merece uma investigação adicional. Nós observamos maior lesão em pneumócito tipo II e maior expressão gênica para

PCIII quando os pulmões foram recrutados na situação de hipervolemia. Nesse contexto, a reexpansão rápida de unidades pulmonares colapsadas pode expor os alvéolos a um estresse de tensão e estiramento estimulando o macrófago a sintetizar fibras de colágeno (GARCIA 2004). Nossos resultados estão de acordo com estudos prévios que demonstraram expressão exagerada de RNAm para PCIII em pulmões submetidos à pressões elevadas de vias aéreas (DE CARVALHO 2007).

6.1.4 LIMITAÇÕES DO PRIMEIRO ESTUDO

Este estudo tem algumas limitações: 1) nós usamos um modelo de sepse induzida por CLP. Assim, nossos resultados não podem ser estendidos aos outros modelos experimentais de sepse, nem diretamente extrapolados para o âmbito clínico; 2) a mortalidade de nosso modelo de sepse foi relativamente alta (40%). Assim, nós não podemos excluir por completo que tenha ocorrido um tipo de seleção natural e uma população “tolerante a sepse”, sendo a população selecionada ao acaso. Porém, se a hipervolemia foi capaz de produzir e potencializar a lesão pulmonar após a aplicação da MR neste subgrupo, observar-se-ia um efeito mais pronunciado até mesmo dentro de uma população menos “tolerante a sepse”; 3) o tempo de observação foi relativamente curto (1 hora), impedindo a extrapolação de nossos resultados aos períodos longos de VM. O período de uma hora foi escolhido baseado em nossa experiência com este modelo e levando em conta o tempo necessário para elucidar alterações nas respostas inflamatórias e fibrogênicas devido à VM em ratos (PASSARO 2009; SADDY 2010). No presente estudo, podemos especular que os níveis de proteína das citocinas inflamatórias seriam maiores

nos pulmões com hipervolemia (especialmente depois da MR) podendo alcançar os órgãos distais em função da descompartimentalização se o período de observação fosse estendido; 4) a hipervolemia foi alcançada por infusão de Gelafundin (Gelafusin®). Possivelmente, outros resultados poderiam ser observados com outros tipos de colóides e/ou cristalóides e 5) a MR foi executada como insuflação contínua (CPAP). Recentes estudos relatam diminuição da lesão pulmonar e menor adversidade hemodinâmica com outros tipos de MR (STEIMBACK 2009; RIVA 2009; RZEZINSKY 2009). Porém, a insuflação contínua é a manobra mais utilizada na prática clínica (FAN 2008).

6.2 DISCUSSÃO DO SEGUNDO ESTUDO

No segundo estudo, foram examinados os efeitos de três tipos de fluidos na restauração volêmica conservadora em modelo experimental de LPA induzida por depleção de surfactante e lesão induzida pelo ventilador mecânico (VILI) em curso de hipovolemia moderada. De acordo com os resultados, foi observado: 1) ausência de sobrecarga ou restrição hídrica nos grupos estudados; 2) maior administração de fluidos no grupo RA em relação aos grupos GEL e HES, objetivando-se a manutenção do volume sanguíneo intratorácico (ITBVI); 3) aumento significativo da relação W/D pulmonar no grupo RA comparado com GEL e HES considerando-se o mesmo nível de ITBVI e 4) não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros funcionais (oxigenação e mecânica pulmonar) entre os grupos estudados.

6.2.1 ASPECTOS METODOLÓGICOS DO SEGUNDO ESTUDO

No presente estudo utilizou-se modelo de LPA que associou a depleção de surfactante (LACHMANN 1980) à VILI. Esse modelo apesar de não estar

estabelecido na literatura, fornece dados morfofuncionais similares àqueles observados em humanos com LPA/SDRA. O estiramento provocado pelo V_T alto após uma situação de depleção de surfactante pode potencialmente induzir rupturas na membrana alvéolo-capilar, ocasionando aumento da permeabilidade vascular, uma característica comum encontrada em pacientes com LPA/SDRA internados em UTI (BERNARD 2005; VAN DER HEIJDEN 2009). Além disso, esses pacientes comumente necessitam de fluidos para a correção de hipotensão associada à LPA, ou em função da VM com pressão positiva. Entretanto, para atingir esse objetivo, é necessária uma monitorização hemodinâmica adequada. Diferentes métodos para a monitorização hemodinâmica têm sido adotados no manejo de pacientes críticos (PINSKY 2007). Atualmente, existem várias alternativas para a monitorização hemodinâmica em pacientes com LPA/SDRA, sendo o sistema PiCCO[®], que se baseia na termodiluição, um dos mais precisos (SAKKA 1999). Nesse contexto, estudos experimentais sugerem que o índice de volume sanguíneo intratorácico (ITBVI) obtido pelo sistema PiCCO[®] seria o melhor parâmetro de estimativa do volume circulatório sanguíneo comparado com as outras variáveis comumente utilizadas (PVC e POAP) (LICHTWARCK-ASCHOFF 1996; SAKKA 2000; DELLA ROCCA 2002a; DELLA ROCCA 2002b).

A despeito do método utilizado para acessar tais variáveis, o manejo de fluidos nesses pacientes com LPA/SDRA é assunto controverso (SCHUSTER 1995; RIVERS 2006). Se por um lado, o manejo restritivo de fluidos pode melhorar a oxigenação arterial e a mecânica pulmonar, acelerar o processo de desmame da VM e melhorar os índices relacionados à morbidade na UTI (FACTT 2006); por outro, tal estratégia pode piorar ou induzir a instabilidade

hemodinâmica e DMOS (RIVERS 2006). Entretanto, em pacientes com LPA/SDRA com choque circulatório nas primeiras horas (<48 horas), se beneficiam de uma reposição maciça de fluidos em um curto espaço de tempo (~5,0L nas primeiras 6 horas) (RIVERS 2001). Com base na *surviving sepsis campaign* (DELLINGER 2008), permanece a indicação pela reposição maciça de fluidos, quando há a presença de hipoperfusão periférica, caracterizada por hipotensão e níveis de lactato plasmático > 4 mmol/L. Por outro lado, quando estes parâmetros não estão alterados, indica-se a administração conservadora de fluidos por uma conduta similar àquela adotada pelo estudo FACTT. Levando em consideração o manejo de fluidos tanto em situação precoce quanto a médio prazo (48 horas), faz-se necessária uma monitorização hemodinâmica eficaz bem como a determinação do tipo e quantidade de fluidos a ser empregado.

6.2.2 CONTROVÉRSIA CRISTALÓIDE X COLÓIDE

Com o objetivo de estabilizar a hemodinâmica e manter a perfusão periférica em níveis seguros, utilizam-se cristalóides e colóides. Sabe-se que o primeiro tem uma tendência em reduzir a pressão colóido-osmótica (PCO), promover extravasamento de fluidos para os pulmões, principalmente em situações de alta permeabilidade vascular, resultando na formação de edema pulmonar (ROBERTS 2004) e contribuindo para a descompartimentalização do processo inflamatório (CAMACHO 2001). Já os colóides, podem aumentar a pressão colóido-osmótica e podem reduzir o extravasamento de fluidos para os pulmões, diminuindo o edema pulmonar (CHOI 1999). Além disso, uma maior quantidade de cristalóides é necessária para atingir a mesma estabilização

hemodinâmica, comparada com os colóides, podendo aumentar o risco de formação de edema (MOON 1996). Similarmente, o presente estudo evidenciou maior quantidade de RA em comparação ao GEL (3,22 vezes maior) e HES (2,67 vezes maior) visando à manutenção do ITBVI entre os grupos. Vários estudos experimentais abordaram a controvérsia cristalóide vs. colóide. Nesse contexto, Di Filippo e colaboradores (DI FILIPPO 2006) demonstraram que ratos com LPA submetidos à infusão com HES (130/0.4, 6%) apresentaram melhora da hipoxemia e diminuição da resposta inflamatória e oxidativa da lesão pulmonar, comparada a infusão de ringer acetato ou gelatina modificada. Resultados similares, no que concernem as vantagens terapêuticas da molécula de HES foram encontrados em modelo de isquemia e reperfusão em ratos (VARGA 2008). Ademais, apesar de focar na influência de moléculas hipertônicas e hiperoncóticas sob a formação de agregados com HES (130/0.4, 6%) ou gelafundin (4%), Haas e colaboradores (HAAS 2008) compararam esses fluidos em modelo de choque hemorrágico em porcos e demonstraram que essas duas estratégias possibilitaram restauração volêmica efetiva após a indução do choque circulatório. Além disso, esses dois fluidos distintos não induziram sobrecarga de volume. O presente estudo, também está inserido em um conceito conservador de restauração hídrica, mantendo-se o mesmo índice de volume sanguíneo intratorácico (ITBVI) nos três grupos. Entretanto, o aumento na quantidade de fluidos no grupo RA resultou em incremento significativo da relação peso úmido/peso seco (Figura 18). Apesar de não ter sido evidenciado aumento no índice de água extravascular, este não acarretou modificações na mecânica pulmonar e oxigenação. Todavia, observou-se correlação negativa significativa da oxigenação com o índice de água

extravascular (EVLWI) ($r=-0,37$, $p=0,043$) e a relação W/D pulmonar ($r=-0,55$, $p=0,002$) (Figura 19). Por outro lado, não foi observada correlação significativa do EVLWI e a relação W/D pulmonar, considerado padrão ouro para índice de edema. Dois fatores poderiam explicar a ausência nessa correlação. O primeiro fator pode ser o alto grau de edema e injúria pulmonar induzido pelo presente modelo de lesão pulmonar (depleção de surfactante + VILI). Todos os valores da relação W/D pulmonar estavam acima de 6, um nível já considerado muito alto (MISEROCCHI 2001), sugerindo grave edema pulmonar limitando a mensuração precisa da água extravascular utilizando-se o sistema PiCCO[®]. O segundo fator seria a estratégia ventilatória adotada durante o presente estudo. Logo após a indução da LPA, os animais cursaram com instabilidade dos parâmetros fisiológicos, como pode ser observada nas Tabelas 7-9 (LESÃO). Para garantir a sobrevivência do animal durante o experimento, foi adotada uma estratégia ventilatória protetora com redução do volume corrente para 6 ml/kg de peso corporal e aumento da PEEP para 16 cmH₂O. O aumento substancial da PEEP pode influenciar a distribuição da perfusão pulmonar limitando a acurácia da medida do ITBVI e da EVLWI pelo PiCCO[®].

O potencial papel protetor da pressão colóido-osmótica (PCO) pode diminuir dependendo da alta permeabilidade da membrana alvéolo-capilar na LPA/SDRA e mesmo os colóides, com suas propriedades biofísicas (LOBO 2010), podem induzir edema intersticial e alveolar (MARGARSON & SONI 2002; MARX 2003; FINFER 2004). Durante a VM com pressão positiva, a drenagem linfática pode ser prejudicada (LATTUADA & HEDENSTIERNA 2006) e grandes moléculas de colóide podem diminuir ainda mais o fluxo linfático, piorando o edema alveolar (IKOMI 1995; PELOSI 2008). Nesse

contexto, Heijden e colaboradores (VAN DER HEIJDEN 2009) não observaram diferenças significativas no edema pulmonar e na gravidade da lesão pulmonar em pacientes sépticos e não sépticos em estado de hipovolemia submetidos a cristalóides ou colóides. Entretanto, foi observado um maior efeito de expansão volêmica com colóide do que com cristalóides. Isso sugere que a PCO atuou em um nível sistêmico e minimizou o extravasamento de fluidos comparado com a infusão de cristalóide. O alto extravasamento de líquidos nos pacientes sujeitos a infusão de cristalóide comparado com aqueles submetidos a colóides aparentemente não modificou o edema pulmonar, já que o índice de água extravascular (EVLWI) não modificou. Entretanto, a possibilidade de que o EVLWI tenha sido subestimado devido à perda de indicador térmico nas áreas pulmonares lesadas não pode ser completamente excluída. O EVLWI é um parâmetro derivado de várias considerações (EFFROS 2008), incluindo queda monoexponencial (uniforme), ausência de recirculação e uma relação conhecida entre dois outros parâmetros, o índice de volume sanguíneo intratorácico (ITBVI) e o índice de volume global ao final da diástole (GEDVI). Em diversos modelos experimentais (CARLILE & GRAY 1984; ROCH 2004) e em estudos clínicos (GROENEVELD & VERHEIJ 2006), têm-se demonstrado extensa variabilidade das medidas de EVLWI. Mesmo assim, vários estudos têm utilizado as medidas de EVLWI como parâmetro de prognóstico no manejo de ensaios clínicos, (SCHULLER 1991; MITCHELL 1992) sendo que tais estudos forneceram evidências marcantes para a condução do estudo FACTT (WIEDEMANN 2006). Ademais, a vasoconstrição hipóxica e a gravidade do modelo de LPA podem ter potencialmente influenciado os valores de EVLWI. Sabe-se que os porcos, por exibir pouca ventilação colateral comparada com

outras espécies, exibem uma vasoconstrição hipóxica intensa quando deparada com hipóxia alveolar grave (KURIYAMA 1984). Logo, essa resposta exagerada pode comprometer uma das considerações propostas por Newman para as medidas de termodiluição transpulmonar (NEWMAN 1951), que seria o volume constante das câmaras. Além disso, a gravidade do modelo pode ter contribuído para subestimar os valores de EVLWI, acarretando um extenso edema pulmonar, que por sua vez, ocasionaria uma maior troca de calor da salina gelada com as células inflamatórias presentes no espaço extravascular (BOCK & LEWIS 1990).

Em uma situação sem os componentes da inflamação pulmonar tais como alta permeabilidade vascular, recrutamento de células inflamatórias e edema alveolar, Lobo e colaboradores (LOBO 2010) decidiram estudar a influência desses fluidos (cristalóides, gelafundin, e hidroxietil starch) em indivíduos normais, no que tange a capacidade de expansão volêmica. Eles demonstraram que os colóides apresentaram uma capacidade maior de expansão volêmica em comparação com os cristalóides e que não foi observada diferença entre os colóides, onde 21% e 16% das moléculas de gelafundin e hidroxietil starch, respectivamente, escaparam para o espaço extravascular. Tradicionalmente, associa-se às moléculas de baixo peso molecular uma tendência maior de atravessar o endotélio vascular quando comparada com moléculas de alto peso molecular (LAMKE & LILJEDAHN 1976). A molécula de starch é 4,4 vezes maior que a molécula de gelafundin, no que se refere ao peso molecular. Entretanto, outro componente que parece estar envolvido nesse mecanismo de extravasamento de fluidos seria o diâmetro da molécula e sua relação com o poro capilar (OLIVER 1992). Em uma

situação fisiológica, o capilar é composto por poros menores e maiores que medem de 2,5 nm e 10 nm, respectivamente. Os raios hidrodinâmicos da gelafundin e starch são de 4,1 nm e 6,1 nm, respectivamente. Isso quer dizer que mesmo em uma situação normal, há a passagem de moléculas sintéticas através dos vasos, pois, ambas, apesar de possuírem grandes diferenças no peso molecular, os raios hidrodinâmicos não são tão distintos. De fato, isso foi observado, em indivíduos submetidos ao desafio de diferentes colóides (LOBO 2010), onde as moléculas de gelafundin apresentaram o mesmo grau de extravasamento vascular do que as de starch. Retornando, para uma situação de alta permeabilidade e inflamação, essa diferença entre colóides poderia ser ainda mais atenuada.

6.2.3 PERSPECTIVAS FUTURAS

Alguns resultados desse estudo encontram-se em fase final de análise, como por exemplo:

- Análise da expressão de mediadores inflamatórios (TNF- α , IL-1 β , IL-6 e TGF- β);
- Análise da pressão colóido-osmótica (PCO) plasmática;
- Perfil de coagulação [Fibrinogênio, tempo de agregação plaquetária (TAP), tempo de tromboplastina parcial (PTT) ativada];
- Creatinina plasmática e *clearance* de creatinina;
- Níveis plasmáticos de albumina, lactato, sódio, potássio, cloro, metaloproteinase 9 (MMP-9).

CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

No primeiro estudo, em um modelo de LPA induzido por sepse, o uso da MR durante a hipervolemia, reduziu o colapso alveolar e melhorou a oxigenação e elastância estática do pulmão, porém acarretou injúria da membrana alvéolo-capilar, aumento de edema pulmonar e maior expressão de mediadores inflamatórios e fibrogênicos. Nossos dados sugerem que a hipervolemia, mas não a normovolemia ou a hipovolemia, pode induzir como também potencializar a lesão pulmonar depois da aplicação da MR, apesar de não afetar os órgãos periféricos. Logo, o estado volêmico ou o balanço hídrico positivo deve ser levado em consideração durante a aplicação das manobras de recrutamento.

No segundo estudo, observou-se no modelo de LPA induzido por depleção de surfactante e VILI que a restauração volêmica conservadora não resultou em sobrecarga de fluidos apesar da necessidade maior de Ringer Acetato em comparação com Gelafundin e hidroxietil starch, mantendo níveis similares de volume sanguíneo intratorácico (ITBVI). Embora, não tenha sido demonstrada na função pulmonar entre os grupos estudados, constatou-se maior relação peso úmido/peso seco no grupo RA, mesmo em níveis similares de ITBVI, observou-se aumento significativo da relação W/D pulmonar no grupo RA comparado com GEL e HES.

REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS

- 1 Frutos-Vivar, F., et al. Epidemiology of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. **Curr Opin Crit Care**, 10: 1-6, 2004.
- 2 MacCallum, N. S., Evans T. W. Epidemiology of acute lung injury. **Curr Opin Crit Care**, 11: 43-49, 2005.
- 3 Zambon, M., Vincent J. L. Mortality rates for patients with acute lung injury/ARDS have decreased over time. **Chest**, 133: 1120-1127, 2008.
- 4 Phua, J., et al. Has mortality from acute respiratory distress syndrome decreased over time?: A systematic review. **Am J Respir Crit Care Med**, 179: 220-227, 2009.
- 5 Dudek, S. M., Birukov K. G. Apoptosis in ventilator-induced lung injury: More questions to ask? **Crit Care Med**, 33: 2118-2119, 2005.
- 6 Matthay, M. A., et al. Future research directions in acute lung injury: Summary of a national heart, lung, and blood institute working group. **Am J Respir Crit Care Med**, 167: 1027-1035, 2003.
- 7 Rocco, P. R., Pelosi P. Pulmonary and extrapulmonary acute respiratory distress syndrome: Myth or reality? **Current opinion in critical care**, 14: 50-55, 2008.
- 8 Bernard, G. R. Acute respiratory distress syndrome: A historical perspective. **Am J Respir Crit Care Med**, 172: 798-806, 2005.
- 9 Matthay, M. A., Zimmerman G. A. Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: Four decades of inquiry into pathogenesis and rational management. **Am J Respir Cell Mol Biol**, 33: 319-327, 2005.

- 10 Suratt, B. T., Parsons P. E. Mechanisms of acute lung injury/acute respiratory distress syndrome. **Clin Chest Med**, 27: 579-589; abstract viii, 2006.
- 11 Amato, M. B., et al. Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. **N Engl J Med**, 338: 347-354, 1998.
- 12 Cepkova, M., Matthay M. A. Pharmacotherapy of acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. **J Intensive Care Med**, 21: 119-143, 2006.
- 13 Meade, M. O., et al. Ventilation strategy using low tidal volumes, recruitment maneuvers, and high positive end-expiratory pressure for acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: A randomized controlled trial. **JAMA**, 299: 637-645, 2008.
- 14 Mercat, A., et al. Positive end-expiratory pressure setting in adults with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: A randomized controlled trial. **JAMA**, 299: 646-655, 2008.
- 15 NIH. 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, 2000.
- 16 Villar, J., et al. A 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**, 34: 1311-1318, 2006.
- 17 Hodgson, C., et al. Recruitment manoeuvres for adults with acute lung injury receiving mechanical ventilation. **Cochrane Database Syst Rev**, CD006667, 2009.

- 18 Fan, E., et al. Recruitment maneuvers for acute lung injury: A systematic review. **Am J Respir Crit Care Med**, 178: 1156-1163, 2008.
- 19 Frank, J. A., et al. Differential effects of sustained inflation recruitment maneuvers on alveolar epithelial and lung endothelial injury. **Crit Care Med**, 33: 181-188; discussion 254-185, 2005.
- 20 Vlahakis, N. E., Hubmayr R. D. Cellular stress failure in ventilator-injured lungs. **Am J Respir Crit Care Med**, 171: 1328-1342, 2005.
- 21 Riva, D. R., et al. Recruitment maneuver in pulmonary and extrapulmonary experimental acute lung injury. **Crit Care Med**, 36: 1900-1908, 2008.
- 22 Borges, J. B., et al. Reversibility of lung collapse and hypoxemia in early acute respiratory distress syndrome. **Am J Respir Crit Care Med**, 174: 268-278, 2006.
- 23 Schuster, D. P. Fluid management in ards: "Keep them dry" or does it matter? **Intensive Care Med**, 21: 101-103, 1995.
- 24 Rivers, E. P. Fluid-management strategies in acute lung injury--liberal, conservative, or both? **N Engl J Med**, 354: 2598-2600, 2006.
- 25 Jia, X., et al. Risk factors for ards in patients receiving mechanical ventilation for > 48 h. **Chest**, 133: 853-861, 2008.
- 26 Rosenberg, A. L., et al. Review of a large clinical series: Association of cumulative fluid balance on outcome in acute lung injury: A retrospective review of the ardsnet tidal volume study cohort. **J Intensive Care Med**, 24: 35-46, 2009.
- 27 Bernard, G. R., et al. Report of the american-european consensus conference on ards: Definitions, mechanisms, relevant outcomes and clinical

trial coordination. The consensus committee. **Intensive Care Med**, 20: 225-232, 1994.

28 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. Acute respiratory distress syndrome. **Am J Respir Crit Care Med**, 157: 1332-1347, 1998.

29 Wiedemann, H. P., et al. Comparison of two fluid-management strategies in acute lung injury. **N Engl J Med**, 354: 2564-2575, 2006.

30 Gunther, A., et al. Surfactant alteration and replacement in acute respiratory distress syndrome. **Respir Res**, 2: 353-364, 2001.

31 Pelosi, P., et al. Pulmonary and extrapulmonary acute respiratory distress syndrome are different. **Eur Respir J Suppl**, 42: 48s-56s, 2003.

32 Ware, L. B., Matthay M. A. The acute respiratory distress syndrome. **N Engl J Med**, 342: 1334-1349, 2000.

33 Opal, S. M. Endotoxin desynchronizes biological clocks. **Crit Care Med**, 38: 977-978, 2010.

34 Worthen, G. S., et al. Mechanics of stimulated neutrophils: Cell stiffening induces retention in capillaries. **Science**, 245: 183-186, 1989.

35 Erzurum, S. C., et al. Mechanisms of lipopolysaccharide-induced neutrophil retention. Relative contributions of adhesive and cellular mechanical properties. **J Immunol**, 149: 154-162, 1992.

36 Lavkan, A. H., et al. Effects of proinflammatory cytokines and bacterial toxins on neutrophil rheologic properties. **Crit Care Med**, 26: 1677-1682, 1998.

- 37 Skoutelis, A. T., et al. Neutrophil deformability in patients with sepsis, septic shock, and adult respiratory distress syndrome. **Crit Care Med**, 28: 2355-2359, 2000.
- 38 Blackwell, T. S., et al. In vivo antioxidant treatment suppresses nuclear factor-kappa b activation and neutrophilic lung inflammation. **J Immunol**, 157: 1630-1637, 1996.
- 39 Everhart, M. B., et al. Duration and intensity of nf-kappab activity determine the severity of endotoxin-induced acute lung injury. **J Immunol**, 176: 4995-5005, 2006.
- 40 Pillet, J. And thus, the hand revealed its beauty. Moving toward aesthetics. **J Hand Ther**, 10: 258-261, 1997.
- 41 Park, W. Y., et al. Cytokine balance in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. **Am J Respir Crit Care Med**, 164: 1896-1903, 2001.
- 42 Kurdowska, A., et al. Anti-interleukin 8 autoantibody: Interleukin 8 complexes in the acute respiratory distress syndrome. Relationship between the complexes and clinical disease activity. **Am J Respir Crit Care Med**, 163: 463-468, 2001.
- 43 Finkelman, F. D., et al. Anti-cytokine antibodies as carrier proteins. Prolongation of in vivo effects of exogenous cytokines by injection of cytokine-anti-cytokine antibody complexes. **J Immunol**, 151: 1235-1244, 1993.
- 44 Annane, D., et al. Septic shock. **Lancet**, 365: 63-78, 2005.
- 45 Russell, J. A. Management of sepsis. **N Engl J Med**, 355: 1699-1713, 2006.

- 46 Riedemann, N. C., et al. Novel strategies for the treatment of sepsis. **Nat Med**, 9: 517-524, 2003.
- 47 Baron, R. M., et al. Pathobiology of sepsis: Are we still asking the same questions? **Am J Respir Cell Mol Biol**, 34: 129-134, 2006.
- 48 Reutershan, J., Ley K. Bench-to-bedside review: Acute respiratory distress syndrome - how neutrophils migrate into the lung. **Crit Care**, 8: 453-461, 2004.
- 49 Reutershan, J., et al. Alveolar recruitment during prone position: Time matters. **Clin Sci (Lond)**, 110: 655-663, 2006.
- 50 Clark, P. R., et al. Increased icam-1 expression causes endothelial cell leakiness, cytoskeletal reorganization and junctional alterations. **J Invest Dermatol**, 127: 762-774, 2007.
- 51 Steinberg, K. P., et al. Evolution of bronchoalveolar cell populations in the adult respiratory distress syndrome. **Am J Respir Crit Care Med**, 150: 113-122, 1994.
- 52 Sakr, Y., et al. High tidal volume and positive fluid balance are associated with worse outcome in acute lung injury. **Chest**, 128: 3098-3108, 2005.
- 53 Rivers, E., et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. **N Engl J Med**, 345: 1368-1377, 2001.
- 54 Dellinger, R. P., et al. Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. **Intensive Care Med**, 34: 17-60, 2008.
- 55 Murphy, C. V., et al. The importance of fluid management in acute lung injury secondary to septic shock. **Chest**, 136: 102-109, 2009.

- 56 Moon, P. F., et al. Fluid compartments in hemorrhaged rats after hyperosmotic crystalloid and hyperoncotic colloid resuscitation. **Am J Physiol**, 270: F1-8, 1996.
- 57 Oliver, J. D., 3rd, et al. Determination of glomerular size-selectivity in the normal rat with ficoll. **J Am Soc Nephrol**, 3: 214-228, 1992.
- 58 Pelosi, P. The forgotten sides of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. **Curr Opin Crit Care**, 14: 1-2, 2008.
- 59 Halbertsma, F. J., et al. Cytokines and biotrauma in ventilator-induced lung injury: A critical review of the literature. **Neth J Med**, 63: 382-392, 2005.
- 60 Tsuno, K., et al. Histopathologic pulmonary changes from mechanical ventilation at high peak airway pressures. **Am Rev Respir Dis**, 143: 1115-1120, 1991.
- 61 Parker, J. C., et al. Mechanisms of ventilator-induced lung injury. **Crit Care Med**, 21: 131-143, 1993.
- 62 Rubenfeld, G. D. Epidemiology of acute lung injury. **Crit Care Med**, 31: S276-284, 2003.
- 63 Han, B., et al. Ventilator-induced lung injury: Role of protein-protein interaction in mechanosensation. **Proc Am Thorac Soc**, 2: 181-187, 2005.
- 64 dos Santos, C. C., Slutsky A. S. The contribution of biophysical lung injury to the development of biotrauma. **Annu Rev Physiol**, 68: 585-618, 2006.
- 65 Gammon, R. B., et al. Clinical risk factors for pulmonary barotrauma: A multivariate analysis. **Am J Respir Crit Care Med**, 152: 1235-1240, 1995.
- 66 Slutsky, A. S., Tremblay L. N. Multiple system organ failure. Is mechanical ventilation a contributing factor? **Am J Respir Crit Care Med**, 157: 1721-1725, 1998.

- 67 Imai, Y., Slutsky A. S. High-frequency oscillatory ventilation and ventilator-induced lung injury. **Crit Care Med**, 33: S129-134, 2005.
- 68 Marini, J. J. Microvasculature in ventilator-induced lung injury: Target or cause? **Minerva Anesthesiol**, 70: 167-173, 2004.
- 69 Fu, Z., et al. High lung volume increases stress failure in pulmonary capillaries. **J Appl Physiol**, 73: 123-133, 1992.
- 70 Bachofen, H., et al. Experimental hydrostatic pulmonary edema in rabbit lungs. Barrier lesions. **Am Rev Respir Dis**, 147: 997-1004, 1993.
- 71 West, J. B. Invited review: Pulmonary capillary stress failure. **J Appl Physiol**, 89: 2483-2489;discussion 2497, 2000.
- 72 Broccard, A. F., et al. Consequences of vascular flow on lung injury induced by mechanical ventilation. **Am J Respir Crit Care Med**, 157: 1935-1942, 1998.
- 73 Schreiber, T., et al. Effects of a catecholamine-induced increase in cardiac output on lung injury after experimental unilateral pulmonary acid instillation. **Crit Care Med**, 35: 1741-1748, 2007.
- 74 Lopez-Aguilar, J., et al. Contributions of vascular flow and pulmonary capillary pressure to ventilator-induced lung injury. **Crit Care Med**, 34: 1106-1112, 2006.
- 75 Plotz, F. B., et al. Ventilator-induced lung injury and multiple system organ failure: A critical review of facts and hypotheses. **Intensive Care Med**, 30: 1865-1872, 2004.
- 76 Slutsky, A. S. Ventilator-induced lung injury: From barotrauma to biotrauma. **Respir Care**, 50: 646-659, 2005.

- 77 Valenza, F., et al. Prone position delays the progression of ventilator-induced lung injury in rats: Does lung strain distribution play a role? **Crit Care Med**, 33: 361-367, 2005.
- 78 Takenaka, K., et al. Ventilator-induced lung injury is reduced in transgenic mice that overexpress endothelial nitric oxide synthase. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, 290: L1078-1086, 2006.
- 79 Saddy, F., et al. Assisted ventilation modes reduce the expression of lung inflammatory and fibrogenic mediators in a model of mild acute lung injury. **Intensive Care Med**, 2010.
- 80 de Prost, N., et al. Evaluation of two-way protein fluxes across the alveolo-capillary membrane by scintigraphy in rats: Effect of lung inflation. **J Appl Physiol**, 102: 794-802, 2007.
- 81 Nielsen, J., et al. Central hemodynamics during lung recruitment maneuvers at hypovolemia, normovolemia and hypervolemia. A study by echocardiography and continuous pulmonary artery flow measurements in lung-injured pigs. **Intensive Care Med**, 32: 585-594, 2006.
- 82 Vieillard-Baron, A., et al. Influence of superior vena caval zone condition on cyclic changes in right ventricular outflow during respiratory support. **Anesthesiology**, 95: 1083-1088, 2001.
- 83 Permutt, S., et al. Alveolar pressure, pulmonary venous pressure, and the vascular waterfall. **Med Thorac**, 19: 239-260, 1962.
- 84 Halbertsma, F. J., et al. A single recruitment maneuver in ventilated critically ill children can translocate pulmonary cytokines into the circulation. **J Crit Care**, 25: 10-15, 2010.

- 85 Sakka, S. G., et al. Comparison between intrathoracic blood volume and cardiac filling pressures in the early phase of hemodynamic instability of patients with sepsis or septic shock. **J Crit Care**, 14: 78-83, 1999.
- 86 Della Rocca, G., et al. Preload index: Pulmonary artery occlusion pressure versus intrathoracic blood volume monitoring during lung transplantation. **Anesth Analg**, 95: 835-843, table of contents, 2002a.
- 87 Della Rocca, G., et al. Preload and haemodynamic assessment during liver transplantation: A comparison between the pulmonary artery catheter and transpulmonary indicator dilution techniques. **Eur J Anaesthesiol**, 19: 868-875, 2002b.
- 88 Cheatham, M. L., et al. Right ventricular end-diastolic volume index as a predictor of preload status in patients on positive end-expiratory pressure. **Crit Care Med**, 26: 1801-1806, 1998.
- 89 Lichtwarck-Aschoff, M., et al. Central venous pressure, pulmonary artery occlusion pressure, intrathoracic blood volume, and right ventricular end-diastolic volume as indicators of cardiac preload. **J Crit Care**, 11: 180-188, 1996.
- 90 Preisman, S., et al. New monitors of intravascular volume: A comparison of arterial pressure waveform analysis and the intrathoracic blood volume. **Intensive Care Med**, 23: 651-657, 1997.
- 91 Sakka, S. G., et al. Assessment of cardiac preload and extravascular lung water by single transpulmonary thermodilution. **Intensive Care Med**, 26: 180-187, 2000.

- 92 Hofer, C. K., et al. Volumetric assessment of left heart preload by thermodilution: Comparing the picco-volef system with transoesophageal echocardiography. **Anaesthesia**, 61: 316-321, 2006.
- 93 Michard, F., et al. Global end-diastolic volume as an indicator of cardiac preload in patients with septic shock. **Chest**, 124: 1900-1908, 2003.
- 94 McLuckie, A., Bihari D. Investigating the relationship between intrathoracic blood volume index and cardiac index. **Intensive Care Med**, 26: 1376-1378, 2000.
- 95 Combes, A., et al. Estimation of left ventricular systolic function by single transpulmonary thermodilution. **Intensive Care Med**, 30: 1377-1383, 2004.
- 96 Briel, M., et al. Higher vs lower positive end-expiratory pressure in patients with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: Systematic review and meta-analysis. **JAMA**, 303: 865-873, 2010.
- 97 Hotchkiss, J. R., et al. Pulmonary microvascular fracture in a patient with acute respiratory distress syndrome. **Crit Care Med**, 30: 2368-2370, 2002.
- 98 ATS. Evidence-based colloid use in the critically ill: American thoracic society consensus statement. **Am J Respir Crit Care Med**, 170: 1247-1259, 2004.
- 99 Perel, P., Roberts I. Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill patients. **Cochrane Database Syst Rev**, CD000567, 2007.
- 100 Bunn, F., et al. Colloid solutions for fluid resuscitation. **Cochrane Database Syst Rev**, CD001319, 2008.
- 101 Boldt, J. Pro: Hydroxyethylstarch can be safely used in the intensive care patient--the renal debate. **Intensive Care Med**, 35: 1331-1336, 2009.

- 102 Hartog, C., Reinhart K. Contra: Hydroxyethyl starch solutions are unsafe in critically ill patients. **Intensive Care Med**, 35: 1337-1342, 2009.
- 103 Santry, H. P., Alam H. B. Fluid resuscitation: Past, present, and the future. **Shock**, 33: 229-241, 2010.
- 104 Hubbard, W. J., et al. Cecal ligation and puncture. **Shock**, 24 Suppl 1: 52-57, 2005.
- 105 Oliveira, G. P., et al. Intravenous glutamine decreases lung and distal organ injury in an experimental model of abdominal sepsis. **Crit Care**, 13: R74, 2009.
- 106 Milic-Emili, J., et al. Topography of esophageal pressure as a function of posture in man. **J Appl Physiol**, 19: 212-216, 1964a.
- 107 Milic-Emili, J., et al. Improved technique for estimating pleural pressure from esophageal balloons. **J Appl Physiol**, 19: 207-211, 1964b.
- 108 Baydur, A., et al. A simple method for assessing the validity of the esophageal balloon technique. **Am Rev Respir Dis**, 126: 788-791, 1982.
- 109 Cheitlin, M. D., et al. Acc/aha/ase 2003 guideline update for the clinical application of echocardiography: Summary article. A report of the american college of cardiology/american heart association task force on practice guidelines (acc/aha/ase committee to update the 1997 guidelines for the clinical application of echocardiography). **J Am Soc Echocardiogr**, 16: 1091-1110, 2003.
- 110 Bates, J. H., et al. Volume-time profile during relaxed expiration in the normal dog. **J Appl Physiol**, 59: 732-737, 1985a.
- 111 Bates, J. H., et al. Analysis of the behavior of the respiratory system with constant inspiratory flow. **J Appl Physiol**, 58: 1840-1848, 1985b.

- 112 Bates, J. H., et al. Interrupter resistance elucidated by alveolar pressure measurement in open-chest normal dogs. **J Appl Physiol**, 65: 408-414, 1988.
- 113 Kochi, T., et al. Chest wall and respiratory system mechanics in cats: Effects of flow and volume. **J Appl Physiol**, 64: 2636-2646, 1988a.
- 114 Kochi, T., et al. Flow and volume dependence of pulmonary mechanics in anesthetized cats. **J Appl Physiol**, 64: 441-450, 1988b.
- 115 Bates, J. H., et al. The low-frequency dependence of respiratory system resistance and elastance in normal dogs. **Respir Physiol**, 78: 369-382, 1989.
- 116 Cruz-Orive, L. M., Weibel E. R. Recent stereological methods for cell biology: A brief survey. **Am J Physiol**, 258: L148-156, 1990.
- 117 Leite-Junior, J. H., et al. 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, 2008.
- 118 Passaro, C. P., 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**, 37: 1011-1017, 2009.
- 119 Gavrieli, Y., et al. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. **J Cell Biol**, 119: 493-501, 1992.
- 120 Wijsman, J. H., et al. A new method to detect apoptosis in paraffin sections: In situ end-labeling of fragmented DNA. **J Histochem Cytochem**, 41: 7-12, 1993.
- 121 Peterson, B. T., et al. Use of microwave oven for determination of postmortem water volume of lungs. **J Appl Physiol**, 52: 1661-1663, 1982.

- 122 Gama de Abreu, M., et al. Vaporized perfluorohexane attenuates ventilator-induced lung injury in isolated, perfused rabbit lungs. **Anesthesiology**, 102: 597-605, 2005.
- 123 Lachmann, B., et al. In vivo lung lavage as an experimental model of the respiratory distress syndrome. **Acta Anaesthesiol Scand**, 24: 231-236, 1980.
- 124 Margaron, M. P., Soni N. C. Effects of albumin supplementation on microvascular permeability in septic patients. **J Appl Physiol**, 92: 2139-2145, 2002.
- 125 Hannon, J. P., et al. Normal physiological values for conscious pigs used in biomedical research. **Lab Anim Sci**, 40: 293-298, 1990.
- 126 Newman, E. V., et al. The dye dilution method for describing the central circulation. An analysis of factors shaping the time-concentration curves. **Circulation**, 4: 735-746, 1951.
- 127 Remick, D. G., et al. Comparison of the mortality and inflammatory response of two models of sepsis: Lipopolysaccharide vs. Cecal ligation and puncture. **Shock**, 13: 110-116, 2000.
- 128 Rittirsch, D., et al. Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture. **Nat Protoc**, 4: 31-36, 2009.
- 129 Mitaka, C., et al. Two-dimensional echocardiographic evaluation of inferior vena cava, right ventricle, and left ventricle during positive-pressure ventilation with varying levels of positive end-expiratory pressure. **Crit Care Med**, 17: 205-210, 1989.
- 130 Youn, H. J., et al. Two-dimensional echocardiography with a 15-mhz transducer is a promising alternative for in vivo measurement of left ventricular mass in mice. **J Am Soc Echocardiogr**, 12: 70-75, 1999.

- 131 Kulkarni, A. C., et al. Oxygen, the lead actor in the pathophysiologic drama: Enactment of the trinity of normoxia, hypoxia, and hyperoxia in disease and therapy. **Antioxid Redox Signal**, 9: 1717-1730, 2007.
- 132 Fanelli, V., et al. Pulmonary atelectasis during low stretch ventilation: "Open lung" versus "lung rest" strategy. **Crit Care Med**, 37: 1046-1053, 2009.
- 133 Panacek, E. A., et al. Efficacy and safety of the monoclonal anti-tumor necrosis factor antibody f(ab')₂ fragment afelimomab in patients with severe sepsis and elevated interleukin-6 levels. **Crit Care Med**, 32: 2173-2182, 2004.
- 134 Rocco, P. R., et al. Lung tissue mechanics and extracellular matrix remodeling in acute lung injury. **Am J Respir Crit Care Med**, 164: 1067-1071, 2001.
- 135 de Carvalho, M. E., et al. Effects of overinflation on procollagen type iii expression in experimental acute lung injury. **Crit Care**, 11: R23, 2007.
- 136 Slee, E. A., et al. Ordering the cytochrome c-initiated caspase cascade: Hierarchical activation of caspases-2, -3, -6, -7, -8, and -10 in a caspase-9-dependent manner. **J Cell Biol**, 144: 281-292, 1999.
- 137 Miyao, N., et al. Various adhesion molecules impair microvascular leukocyte kinetics in ventilator-induced lung injury. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, 290: L1059-1068, 2006.
- 138 van der Heijden, M., et al. Crystalloid or colloid fluid loading and pulmonary permeability, edema, and injury in septic and nonseptic critically ill patients with hypovolemia. **Crit Care Med**, 37: 1275-1281, 2009.
- 139 Gattinoni, L., Pesenti A. The concept of "baby lung". **Intensive Care Med**, 31: 776-784, 2005.

- 140 Dos Santos, C. C., Slutsky A. S. Invited review: Mechanisms of ventilator-induced lung injury: A perspective. **J Appl Physiol**, 89: 1645-1655, 2000.
- 141 Steimback, P. W., et al. 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, 2009.
- 142 Negrini, D., et al. Interstitial exclusion of albumin in rabbit lung during development of pulmonary oedema. **J Physiol**, 548: 907-917, 2003.
- 143 Putensen, C., et al. Meta-analysis: Ventilation strategies and outcomes of the acute respiratory distress syndrome and acute lung injury. **Ann Intern Med**, 151: 566-576, 2009.
- 144 Barbas, C. S., et al. Mechanical ventilation in acute respiratory failure: Recruitment and high positive end-expiratory pressure are necessary. **Curr Opin Crit Care**, 11: 18-28, 2005.
- 145 Oczenski, W., et al. Recruitment maneuvers during prone positioning in patients with acute respiratory distress syndrome. **Crit Care Med**, 33: 54-61; quiz 62, 2005.
- 146 Gattinoni, L., et al. Lung recruitment in patients with the acute respiratory distress syndrome. **N Engl J Med**, 354: 1775-1786, 2006.
- 147 Henzler, D., et al. Effects of partial ventilatory support modalities on respiratory function in severe hypoxemic lung injury. **Crit Care Med**, 34: 1738-1745, 2006.
- 148 Carvalho, A. R., et al. Ability of dynamic airway pressure curve profile and elastance for positive end-expiratory pressure titration. **Intensive Care Med**, 34: 2291-2299, 2008.

- 149 Cressoni, M., et al. Anatomical and functional intrapulmonary shunt in acute respiratory distress syndrome. **Crit Care Med**, 36: 669-675, 2008.
- 150 Carvalho, A. R., et al. Pressure support ventilation and biphasic positive airway pressure improve oxygenation by redistribution of pulmonary blood flow. **Anesth Analg**, 109: 856-865, 2009.
- 151 Constantin, J. M., et al. Response to recruitment maneuver influences net alveolar fluid clearance in acute respiratory distress syndrome. **Anesthesiology**, 106: 944-951, 2007.
- 152 Koh, W. J., et al. Recruitment maneuvers attenuate repeated derecruitment-associated lung injury. **Crit Care Med**, 33: 1070-1076, 2005.
- 153 Talmor, D., et al. Cytokine release following recruitment maneuvers. **Chest**, 132: 1434-1439, 2007.
- 154 Garcia, C. S., et al. What increases type iii procollagen mrna levels in lung tissue: Stress induced by changes in force or amplitude? **Respir Physiol Neurobiol**, 144: 59-70, 2004.
- 155 Pinsky, M. R. Hemodynamic evaluation and monitoring in the icu. **Chest**, 132: 2020-2029, 2007.
- 156 Roberts, I., et al. Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill patients. **Cochrane Database Syst Rev**, CD000567, 2004.
- 157 Camacho, M. T., et al. Pulmonary and extrapulmonary effects of increased colloid osmotic pressure during endotoxemia in rats. **Chest**, 120: 1655-1662, 2001.
- 158 Choi, P. T., et al. Crystalloids vs. Colloids in fluid resuscitation: A systematic review. **Crit Care Med**, 27: 200-210, 1999.

- 159 Miserocchi, G., et al. Development of lung edema: Interstitial fluid dynamics and molecular structure. **News Physiol Sci**, 16: 66-71, 2001.
- 160 Lobo, D. N., et al. Effect of volume loading with 1 liter intravenous infusions of 0.9% saline, 4% succinylated gelatine (gelofusine) and 6% hydroxyethyl starch (voluven) on blood volume and endocrine responses: A randomized, three-way crossover study in healthy volunteers. **Crit Care Med**, 38: 464-470, 2010.
- 161 Lattuada, M., Hedenstierna G. Abdominal lymph flow in an endotoxin sepsis model: Influence of spontaneous breathing and mechanical ventilation. **Crit Care Med**, 34: 2792-2798, 2006.
- 162 Effros, R. M., et al. Indicator dilution measurements of extravascular lung water: Basic assumptions and observations. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, 294: L1023-1031, 2008.
- 163 Carlile, P. V., Gray B. A. Type of lung injury influences the thermal-dye estimation of extravascular lung water. **J Appl Physiol**, 57: 680-685, 1984.
- 164 Roch, A., et al. Accuracy of the double indicator method for measurement of extravascular lung water depends on the type of acute lung injury. **Crit Care Med**, 32: 811-817, 2004.
- 165 Groeneveld, A. B., Verheij J. Extravascular lung water to blood volume ratios as measures of permeability in sepsis-induced ali/ARDS. **Intensive Care Med**, 32: 1315-1321, 2006.
- 166 Schuller, D., et al. Fluid balance during pulmonary edema. Is fluid gain a marker or a cause of poor outcome? **Chest**, 100: 1068-1075, 1991.

167 Mitchell, J. P., et al. Improved outcome based on fluid management in critically ill patients requiring pulmonary artery catheterization. **Am Rev Respir Dis**, 145: 990-998, 1992.

168 Kuriyama, T., et al. Role of collateral ventilation in ventilation-perfusion balance. **J Appl Physiol**, 56: 1500-1506, 1984.

169 Bock, J. C., Lewis F. R. Clinical relevance of lung water measurement with the thermal-dye dilution technique. **J Surg Res**, 48: 254-265, 1990.

170 Lamke, L. O., Liljedahl S. O. Plasma volume changes after infusion of various plasma expanders. **Resuscitation**, 5: 93-102, 1976.

ANEXO 1

ANEXO 2

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](#)