



Pré-tratamento com dexametasona atenua a lesão pulmonar induzida por ventilação mecânica em modelo experimental

Fernando Fonseca dos Reis^{1,2}, Maycon de Moura Reboredo^{1,2},
Leda Marília Fonseca Lucinda^{1,2}, Aydra Mendes Almeida Bianchi^{1,2},
Maria Aparecida Esteves Rabelo¹, Lídia Maria Carneiro da Fonseca^{1,2},
Júlio César Abreu de Oliveira¹, Bruno Valle Pinheiro^{1,2}

1. Laboratório de Pesquisa em Pneumologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora (MG) Brasil.
2. Centro de Biologia da Reprodução, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora (MG) Brasil.

Recebido: 17 janeiro 2016.
Aprovado: 9 maio 2016.

Trabalho realizado na Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora (MG) Brasil.

RESUMO

Objetivo: Avaliar os efeitos da administração de dexametasona antes da indução de lesão pulmonar induzida por ventilação mecânica (LPIVM) na evolução temporal dessa lesão. **Métodos:** Ratos Wistar foram alocados em um dos três grupos: administração de dexametasona pré-LPIVM (grupo dexametasona); administração de salina pré-LPIVM (grupo controle); e somente ventilação (grupo *sham*). A LPIVM foi realizada por ventilação com volume corrente alto. Os animais dos grupos dexametasona e controle foram sacrificados em 0, 4, 24 e 168 h após LPIVM. Analisamos gasometria arterial, edema pulmonar, contagens de células (totais e diferenciais) no lavado broncoalveolar e histologia de tecido pulmonar. **Resultados:** Em 0, 4 e 24 h após LPIVM, os escores de lesão pulmonar aguda (LPA) foram maiores no grupo controle que no grupo *sham* ($p < 0,05$). A administração de dexametasona antes da LPIVM reduziu a gravidade da lesão pulmonar. Em 4 e 24 h após a indução, o escore de LPA no grupo dexametasona não foi significativamente diferente daquele observado no grupo *sham* e foi menor que o observado no grupo controle ($p < 0,05$). As contagens de neutrófilos no lavado broncoalveolar estavam aumentadas nos grupos controle e dexametasona, com pico em 4 h após LPIVM ($p < 0,05$). Entretanto, as contagens de neutrófilos foram menores no grupo dexametasona que no grupo controle em 4 e 24 h após LPIVM ($p < 0,05$). O pré-tratamento com dexametasona também impediu o comprometimento da oxigenação após a indução visto no grupo controle. **Conclusões:** A administração de dexametasona antes de LPIVM atenua os efeitos da lesão em ratos Wistar. Os mecanismos moleculares dessa lesão e o possível papel clínico dos corticosteroides na LPIVM ainda precisam ser elucidados.

Descritores: Lesão pulmonar induzida por ventilação mecânica; Dexametasona; Síndrome do desconforto respiratório do adulto.

INTRODUÇÃO

Embora necessária em vários tipos de insuficiência respiratória, a ventilação mecânica (VM) pode ser prejudicial, especialmente se seus parâmetros forem ajustados incorretamente, pois isso pode resultar na chamada lesão pulmonar induzida por VM (LPIVM).⁽¹⁾ A LPIVM pode também piorar uma lesão pulmonar já estabelecida, como a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), e atrasar sua cura.⁽²⁾ A relevância clínica da LPIVM foi determinada por estudos com pacientes com SDRA, em que se constatou que o uso de parâmetros protetores durante a VM, principalmente a limitação do volume corrente e da pressão de platô, diminui a mortalidade.^(3,4) Além disso, estudos com pacientes com risco de SDRA mostraram que essas mesmas medidas diminuem a ocorrência da síndrome e são atualmente recomendadas para esses pacientes.^(5,6)

A LPIVM ocorre quando a pressão transpulmonar (isto é, a diferença entre a pressão no alvéolo e a pressão no espaço pleural) ultrapassa níveis seguros e gera volumes correntes elevados. As estruturas pulmonares expostas a essa pressão elevada reagem gerando forças com a mesma intensidade, o que resulta em estresse pulmonar. O volume corrente elevado causa a deformação do alvéolo, cuja descrição é a alteração do valor inicial de uma dimensão linear, o que resulta em tensão pulmonar.^(7,8) A LPIVM pode ocorrer mesmo que os níveis de estresse e tensão estejam menores que o necessário para romper estruturas alveolares, porém suficientemente elevados para liberar citocinas pró-inflamatórias e recrutar neutrófilos, resultando em lesão pulmonar inflamatória.⁽⁹⁾ Essa reação biológica à lesão mecânica é denominada biotrauma, e estudos vêm sendo realizados a fim de determinar os mecanismos envolvidos e testar estratégias (ventilatórias

Endereço para correspondência:

Fernando Fonseca dos Reis. Laboratório de Pesquisa Pulmonar, Universidade Federal de Juiz de Fora, Avenida Eugênio do Nascimento, s/n, Dom Bosco, CEP 36038-330, Juiz de Fora, MG, Brasil.

Tel.: 55 32 99977-6584. E-mail: fernandocajuri@yahoo.com.br

Apoio financeiro: Este estudo recebeu apoio financeiro por meio de bolsas concedidas pela Rede Mineira de Ensaios Toxicológicos e Farmacológicos de Produtos Terapêuticos (Rede Mineira TOXIFAR), pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e pelo Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora.

e farmacológicas) que possam evitar ou atenuar a LPiVM.^(10,11)

Os glicocorticoides exercem efeitos anti-inflamatórios por meio da ligação a seus receptores no citoplasma, formando complexos de glicocorticoides e receptores que migram para o núcleo celular, onde inibem as taxas de transcrição de muitos elementos inflamatórios, inclusive do fator nuclear kappa B.⁽¹²⁾ Isso diminui a produção de citocinas pró-inflamatórias, tais como TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, IFN- γ e GM-CSF.⁽¹³⁾ Por meio da modulação dessas citocinas, os glicocorticoides podem não só suprimir o recrutamento e a ativação de granulócitos, mas também preservar a integridade da barreira alveolocapilar e controlar a permeabilidade vascular. Os glicocorticoides podem também inibir a proliferação de fibroblastos e a deposição de colágeno, as quais são características importantes nas fases avançadas da SDRA.^(14,15)

Apesar dos efeitos potencialmente benéficos dos glicocorticoides contra os mecanismos envolvidos na SDRA e na LPiVM, ainda se debate a utilidade clínica dos mesmos em casos de SDRA e LPiVM.⁽¹⁶⁻²⁰⁾ Por exemplo, no contexto específico dos efeitos dos glicocorticoides na mortalidade, algumas meta-análises mostraram que os glicocorticoides reduzem a mortalidade,^(17,19) ao passo que outras não conseguiram demonstrar um efeito convincente do tratamento com glicocorticoides na SDRA.⁽²⁰⁾ Esses resultados dissonantes podem ser atribuídos ao fato de que ainda não se definiu a melhor dose de corticosteroides, bem como o melhor momento de início da terapia.⁽²¹⁾

Estudos com modelos experimentais de LPiVM obtiveram resultados promissores com glucocorticoides. No entanto, esses estudos avaliaram o efeito da dexametasona apenas na fase aguda da LPiVM.⁽²²⁻²⁵⁾ Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos que a administração de dexametasona antes da indução de LPiVM tem na evolução temporal da lesão. Levantamos a hipótese de que o pré-tratamento com dexametasona não só atenuaria a LPiVM na fase aguda, mas também aceleraria o processo de cura em seguida.

MÉTODOS

Preparação dos animais

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora, no estado de Minas Gerais, Brasil. Os animais foram tratados de acordo com as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Sessenta e três ratos Wistar machos adultos (média de peso: 286 \pm 15 g) foram obtidos junto ao biotério do Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora. Durante a semana anterior ao experimento, grupos de três animais foram alojados em gaiolas de plástico transparente, com tampas de arame de aço inoxidável e fundo coberto de aparas de pinho, em prateleiras fechadas e ventiladas, em ambiente com temperatura controlada, em ciclo claro-escuro de 12 h. Os ratos foram alimentados com ração-padrão (média de 25 g/dia) e água potável à vontade.

Protocolo experimental

Os animais foram divididos em três grupos (Figura 1): dexametasona, formado por ratos que receberam uma injeção intraperitoneal de dexametasona (6 mg/kg) 30 min antes da indução da LPiVM^(24,25); controle, formado por ratos que receberam uma injeção intraperitoneal do mesmo volume de solução salina, também 30 min antes da indução da LPiVM e *sham*, formado por ratos que não receberam nem dexametasona, nem solução salina, foram submetidos a ventilação normal (não lesiva) durante 10 min e foram submetidos aos mesmos procedimentos experimentais realizados nos dois primeiros grupos.

Os ratos foram anestesiados com injeções intraperitoneais de xilazina (8 mg/kg) e cetamina (80 mg/kg). Após a confirmação da profundidade do plano anestésico por meio de pinçamento de uma das patas, os animais foram intubados com um cateter intravenoso calibre 16 e receberam VM no modo controlado por volume com um ventilador para animais de pequeno porte (Inspira ASV; Harvard Apparatus, Holliston, MA, EUA). Para induzir a LPiVM (nos ratos dos grupos dexametasona e controle), os parâmetros ventilatórios foram definidos da seguinte forma: volume corrente = 35 ml/kg; frequência respiratória = 18 ciclos/min; relação inspiração/expiração = 1:2; FiO₂ = 1; *positive end-expiratory pressure* (PEEP, pressão expiratória final positiva) = 0 cmH₂O. Após 1 h dessa VM lesiva, os animais foram extubados e mantidos em observação até que se recuperassem da anestesia.

Após a indução da LPiVM, os animais dos grupos dexametasona e controle foram sacrificados (n = 23 em cada grupo): imediatamente após a indução (0 h, n = 6 em cada grupo); 4 h após a indução (n = 6 em cada grupo); 24 h após a indução (n = 6 em cada grupo) e 168 h (7 dias) após a indução (n = 5 em cada grupo). Em cada um desses momentos, os animais foram novamente anestesiados com injeções intraperitoneais de xilazina (8 mg/kg) e cetamina (80 mg/kg); em seguida, foi realizada uma traqueostomia cirúrgica e foi inserida uma cânula calibre 14. Um cateter arterial foi inserido na carótida esquerda para obter amostras de sangue para a gasometria arterial (ABL90 FLEX; Radiometer, Copenhagen, Dinamarca). Os ratos foram então paralisados com uma injeção intra-arterial de rocurônio (1 mg/kg) e submetidos a VM com os seguintes parâmetros: volume corrente = 6 ml/kg; frequência respiratória = 80 ciclos/min; relação inspiração/expiração = 1:2; FiO₂ = 1; PEEP = 2 cmH₂O. Após 10 min de ventilação, foi realizada uma gasometria arterial. Subsequentemente, foi realizada uma laparotomia; os animais foram sacrificados por meio de exsanguinação e seção do diafragma. A traqueia foi pinçada no fim da expiração, com PEEP de 2 cmH₂O, e os pulmões foram extraídos para análise posterior. Os animais do grupo *sham* (n = 6) não foram sacrificados.

Medições

As amostras de sangue para a gasometria arterial foram obtidas após 10 min de ventilação protetora,

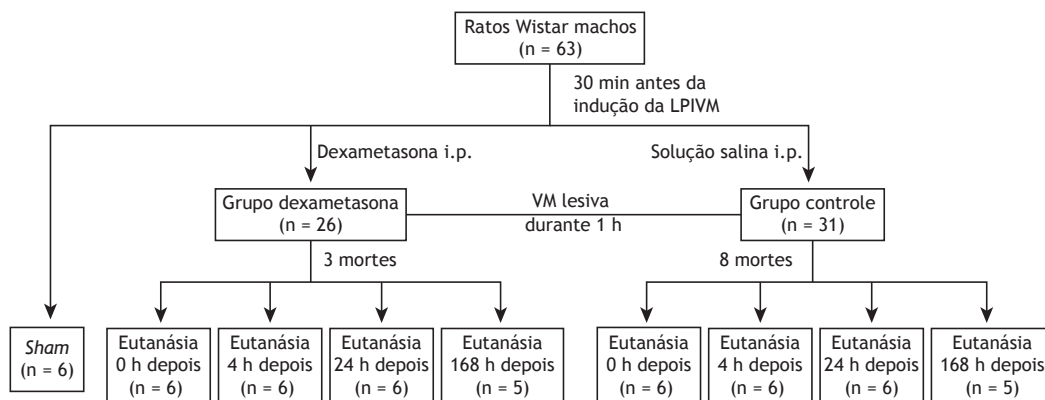


Figura 1. Fluxograma esquemático do desenho do estudo. LPIVM: lesão pulmonar induzida por ventilação mecânica; e VM: ventilação mecânica.

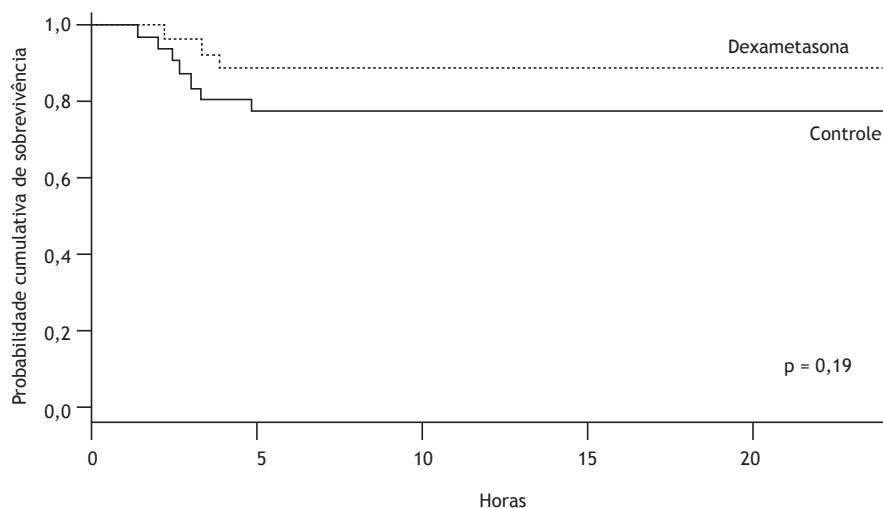


Figura 2. Comparação com o teste de *log-rank* da probabilidade de sobrevivência nas primeiras 24 h após a indução da lesão pulmonar induzida por ventilação mecânica.

imediatamente antes da eutanásia. Os pulmões foram removidos em bloco, e, em seguida, os lobos inferiores direitos foram separados, fixados em formaldeído tamponado a 10% e processados para inclusão em parafina. Os espécimes foram cortados (em seções de 4 µm de espessura) e corados com hematoxilina-eosina. Os exames morfológicos foram realizados por um investigador que desconhecia os grupos, por meio de um microscópio de luz convencional (Carl Zeiss, Hallbergmoos, Alemanha).

A pontuação relativa à lesão pulmonar aguda, que foi o desfecho primário, foi determinada por meio de um sistema de pontuação ponderada, conforme já se descreveu.⁽²⁶⁾ Em resumo, pontos foram atribuídos de forma independente a 20 campos aleatórios com aumento de 400×. Valores de 0, 1 e 2 foram usados para representar a gravidade baseada nos seguintes achados: neutrófilos no espaço alveolar, neutrófilos no espaço intersticial, membranas hialinas, detritos proteicos nos espaços aéreos e espessamento dos septos alveolares. Para gerar uma pontuação relativa à lesão pulmonar aguda, a soma das cinco variáveis

foi ponderada de acordo com a relevância atribuída a cada uma delas. A pontuação resultante foi um valor contínuo entre 0 (normal) e 1 (a lesão mais grave). Além disso, a extensão de cada componente da pontuação relativa à lesão pulmonar aguda foi calculada com base na soma dos valores de gravidade (0, 1 ou 2) para os 20 campos analisados.

Para obter uma amostra de lavado broncoalveolar, o pulmão esquerdo foi lavado três vezes por meio de um tubo traqueal com 4 ml de PBS contendo 10 nM de EDTA. Cada amostra foi centrifugada durante 10 min a 1.500 rpm para separar os componentes celulares dos não celulares. As amostras foram diluídas em solução de Türk (ácido acético a 2%), e os leucócitos totais foram determinados em uma câmara de Neubauer por meio de microscopia de luz. O sedimento celular foi ressuspensão em PBS e corado com May-Grünwald-Giemsa para as contagens diferenciais de células, as quais foram realizadas com um mínimo de 300 células.

A relação entre o peso úmido e o peso seco do pulmão (relação peso pulmonar úmido/seco) foi determinada no lobo superior direito, conforme já se descreveu.⁽²⁷⁾ Em

resumo, o lobo superior direito foi isolado e pesado (peso úmido) em uma balança de precisão (Ohaus Adventurer; Toledo do Brasil, São Bernardo do Campo, Brasil). Em seguida, foi secado em um forno de micro-ondas em baixa potência (200 W) durante 5 min. O processo de secagem foi repetido até que a diferença entre duas medições consecutivas fosse de menos de 0,002 g. O último peso determinado foi considerado o peso seco.

Análise estatística

A normalidade da distribuição dos dados foi testada por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. Os valores foram expressos em forma de média \pm desvio-padrão ou mediana (intervalo interquartil), conforme o caso. Os dados relativos a cada grupo foram analisados por meio de ANOVA seguida de teste de Dunnett ou teste de Kruskal-Wallis seguido de teste de Mann-Whitney, conforme o caso. Os ajustes para medidas repetidas foram realizados com a correção de Bonferroni. As comparações entre os grupos dexametasona e controle em cada momento foram feitas por meio de teste t não pareado ou teste de Mann-Whitney, conforme o caso. O teste de *log-rank* foi usado para comparar os grupos dexametasona e controle quanto à Análise de sobrevivida. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa *Statistical Package for the Social Sciences*, versão 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

RESULTADOS

Sobrevivência

Como a Análise de sobrevivida não foi inicialmente um objetivo deste estudo, os animais não foram acompanhados durante um período pré-determinado especificamente para o estudo desse desfecho. No

entanto, algumas mortes foram observadas nos grupos dexametasona e controle durante o período entre a recuperação da anestesia pós-indução e o momento da eutanásia. Dos 26 animais do grupo dexametasona, 3 (12%) morreram; dos 31 animais do grupo controle, 8 (26%) morreram ($p = 0,19$). Dessas 11 mortes, 10 ocorreram nas primeiras 6 h depois da indução da LPIVM, e uma ocorreu mais de 6 h, porém menos de 24 h depois da indução da LPIVM (Figura 2).

Histologia pulmonar e LBA

Às 0 h, 4 h e 24 h depois da LPIVM, os ratos do grupo controle apresentaram maior lesão pulmonar — segundo a pontuação relativa à lesão pulmonar aguda — do que os do grupo *sham*. Às 168 h, a média da pontuação do grupo controle havia diminuído e não era diferente da observada no grupo *sham*. Não houve diferenças significativas entre o grupo dexametasona e o grupo *sham* quanto à pontuação relativa à lesão pulmonar aguda em nenhum dos momentos avaliados. A lesão pulmonar foi significativamente menor no grupo dexametasona do que no grupo controle 4 h e 24 h depois da LPIVM (Figura 3).

Na análise de cada componente da pontuação relativa à lesão pulmonar aguda, os animais do grupo controle apresentaram um maior número de neutrófilos intersticiais do que os do grupo *sham* 0 h, 4 h e 24 h depois da LPIVM; o maior número de neutrófilos intersticiais foi observado 4 h depois da LPIVM. Essa infiltração de neutrófilos não foi observada nos animais do grupo dexametasona, que apresentaram menor número de neutrófilos intersticiais em comparação com os do grupo controle 4 h e 24 h depois da LPIVM. Houve infiltração neutrofilica alveolar no grupo controle, porém não no grupo *sham*, 4 h e 24 h depois da LPIVM. Essa infiltração foi inibida pela dexametasona: os animais do grupo dexametasona apresentaram menor número de

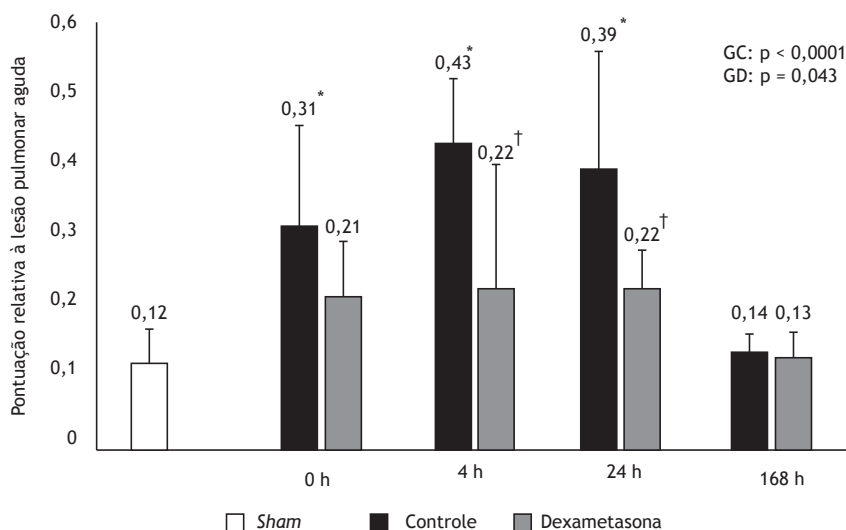


Figura 3. Pontuação relativa à lesão pulmonar aguda, por grupo, bem como por momento após a indução da lesão pulmonar induzida por ventilação mecânica no grupo dexametasona (GD) e no grupo controle (GC). Dados expressos em forma de média \pm dp. Os valores de p indicam a significância global das diferenças entre os momentos e dentro de cada grupo (ANOVA de uma via). * $p < 0,05$ vs. grupo *sham*. † $p < 0,05$ vs. controle no mesmo momento.

neutrófilos alveolares 4 h e 24 h depois da LPIVM do que os animais do grupo controle. Além disso, debrís proteicos foram mais frequentemente observados nos ratos do grupo controle do que nos do grupo *sham* 0 h e 24 h depois da LPIVM (Tabela 1).

No grupo controle, o número de neutrófilos no lavado broncoalveolar aumentou após a LPIVM. O maior número foi observado 4 h depois da LPIVM; porém, 24 h e 168 h depois, a contagem de neutrófilos no lavado broncoalveolar no grupo controle retornara a níveis que não eram estatisticamente diferentes dos observados no grupo *sham*. No grupo dexametasona, a contagem de neutrófilos no lavado broncoalveolar também aumentou após a LPIVM, embora menos, e foi menor no grupo dexametasona que no grupo controle 4 h e 24 h depois da LPIVM. Em comparação com os ratos do grupo controle, os do grupo dexametasona apresentaram menor número de leucócitos no lavado broncoalveolar 4 h depois da LPIVM (Figura 4).

Gasometria arterial

Imediatamente após a LPIVM (0 h após a indução), a PaO_2 no grupo controle foi menor do que a observada no grupo *sham*, embora tenha melhorado progressivamente em cada momento subsequente. Essa deficiência de oxigenação não foi observada no grupo dexametasona (Tabela 2).

Relação peso pulmonar úmido/seco

Não foram encontradas diferenças entre os grupos dexametasona e controle quanto à relação peso pulmonar úmido/seco.

DISCUSSÃO

O principal achado deste estudo foi o fato de que a dexametasona foi capaz de reduzir a resposta inflamatória causada pela LPIVM e, consequentemente, reduzir a lesão pulmonar aguda, além de atenuar os efeitos da lesão na oxigenação. Demonstramos também que LPIVM ocorreu logo após a VM lesiva e melhorou progressivamente após a suspensão do insulto, melhora essa que se manteve durante todo o período de observação.

Nesse modelo de LPIVM, a VM com volumes correntes elevados resultou em lesão pulmonar imediata, caracterizada por elevada pontuação relativa à lesão pulmonar aguda após 1 h dessa ventilação lesiva. A pontuação manteve-se elevada 4 h e 24 h depois da ventilação. Porém, no máximo 168 h depois, já havia se normalizado. Esses achados estão de acordo com os de estudos anteriores, que mostraram que a VM com volumes correntes elevados pode resultar em LPIVM nos primeiros 60-90 min. Nesses estudos, as alterações histológicas foram maiores nas primeiras 48 h após o insulto e normalizaram-se dentro de 7-14 dias.^(23,28)

Estudamos não só a evolução temporal da LPIVM, mas também o impacto que a administração de um anti-inflamatório tem nessa lesão. A decisão de administrar dexametasona 30 min antes da VM lesiva baseou-se em estudos experimentais anteriores, nos quais foram demonstrados seus efeitos anti-inflamatórios na LPIVM.^(24,25) No presente estudo, a pontuação relativa à lesão pulmonar aguda dos animais que receberam dexametasona e a dos animais do grupo *sham* foi comparável em todos os momentos analisados. Além

Tabela 1. Pontuação relativa à lesão pulmonar aguda, por componente, em ratos submetidos a 10 min de ventilação mecânica protetora (grupo *sham*) ou 1 h de ventilação mecânica lesiva (grupos dexametasona e controle, avaliados ao longo do tempo).^a

| Componente Grupo | Momento | | | | p ^b |
|----------------------------------|-------------|-------------------------|-------------------------|------------|----------------|
| | 0 h | 4 h | 24 h | 168 h | |
| Neutrófilos intersticiais | | | | | |
| Controle | 22,8 ± 6,9* | 35,0 ± 5,2* | 30,3 ± 9,0* | 18,0 ± 3,3 | < 0,0001 |
| Dexametasona | 15,8 ± 6,6 | 15,8 ± 8,4 [†] | 18,2 ± 7,2 [†] | 16,8 ± 4,3 | NS |
| <i>Sham</i> | 12,3 ± 4,3 | - | - | - | |
| Neutrófilos alveolares | | | | | |
| Controle | 5,5 (9,5) | 11,5 (4,8)* | 11 (14,3)* | 1 (0,5) | 0,001 |
| Dexametasona | 4 (7,5) | 2 (6,5) [†] | 3 (4) [†] | 1 (1) | NS |
| <i>Sham</i> | 0,5 (2,5) | - | - | - | |
| Membranas hialinas | | | | | |
| Controle | 0 (1) | 0 (0,3) | 0 (1,3) | 0 (0) | NS |
| Dexametasona | 0 (1,3) | 0 (0,5) | 0 (0,8) | 0 (0) | NS |
| <i>Sham</i> | 0 (0) | - | - | - | |
| Detritos proteicos | | | | | |
| Controle | 15 (18,3)* | 9,5 (12,3) | 13 (13,3)* | 0 (0) | 0,001 |
| Dexametasona | 12,5 (7)* | 4 (6) | 9,5 (10,3) | 0 (1) | 0,01 |
| <i>Sham</i> | 2 (4,3) | - | - | - | |
| Espessamento septal | | | | | |
| Controle | 14,5 ± 10,9 | 20,0 ± 6,7 | 16,8 ± 10,0 | 3,2 ± 2,3 | NS |
| Dexametasona | 12,0 ± 5,5 | 18,7 ± 7,8 | 16,5 ± 5,5 | 3,2 ± 3,7 | NS |
| <i>Sham</i> | 10,0 ± 7,5 | - | - | - | |

NS: não significativo. ^aDados expressos em forma de média ± dp ou mediana (intervalo interquartil). ^bSignificância global das diferenças entre os momentos em cada grupo (ANOVA de uma via). *p < 0,05 vs. grupo *sham* (teste de Dunnett). [†]p < 0,05 vs. controle no mesmo momento.

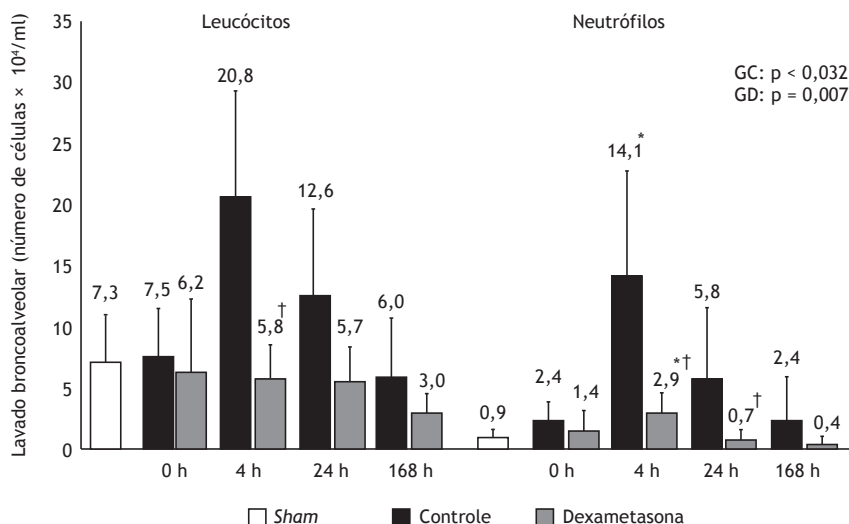


Figura 4. Leucócitos e neutrófilos (número de células × 10⁴/ml) no lavado broncoalveolar, por grupo, bem como por momento após a indução da lesão pulmonar induzida por ventilação mecânica no grupo dexametasona (GD) e no grupo controle (GC). Os valores de p indicam a significância global das diferenças entre os momentos e dentro de cada grupo (ANOVA de uma via). *p < 0,05 vs. grupo sham. †p < 0,05 vs. controle no mesmo momento.

Tabela 2. Gasometria arterial em ratos submetidos a 10 min de ventilação mecânica protetora (grupo sham) ou 1 h de ventilação mecânica lesiva, além da relação peso pulmonar úmido/seco nestes últimos (grupos dexametasona e controle), os quais foram avaliados ao longo do tempo.^a

| Variável | Grupo | Momento | | | | p |
|--------------------------|--------------|-----------------------|-------------|-------------|-------------|-------|
| | | 0 h | 4 h | 24 h | 168 h | |
| PaO ₂ (mmHg) | Controle | 222 ± 98 [*] | 274 ± 87 | 387 ± 31 | 335 ± 71 | 0.003 |
| | Dexametasona | 279 ± 76 | 313 ± 131 | 388 ± 71 | 385 ± 21 | |
| | Sham | 388 ± 26 | - | - | - | |
| | | | | | | |
| PaCO ₂ (mmHg) | Controle | 52 ± 9 | 49 ± 6 | 54 ± 6 | 57 ± 10 | NS |
| | Dexametasona | 51 ± 6 | 44 ± 4 | 52 ± 10 | 51 ± 12 | |
| | Sham | 51 ± 12 | - | - | - | |
| | | | | | | |
| pH | Controle | 7.25 ± 0.05 | 7.28 ± 0.05 | 7.27 ± 0.04 | 7.26 ± 0.09 | NS |
| | Dexametasona | 7.26 ± 0.02 | 7.26 ± 0.04 | 7.27 ± 0.06 | 7.27 ± 0.05 | |
| | Sham | 7.30 ± 0.08 | - | - | - | |
| | | | | | | |
| HCO ₃ (mEq/l) | Controle | 22.6 ± 1.3 | 23.0 ± 3.3 | 23.0 ± 2.0 | 24.1 ± 2.7 | NS |
| | Dexametasona | 21.7 ± 2.5 | 19.3 ± 2.6 | 22.2 ± 2.2 | 24.3 ± 2.6 | |
| | Sham | 21.9 ± 1.0 | - | - | - | |
| | | | | | | |
| Relação PP U/S | Controle | 4.9 ± 0.2 | 4.8 ± 0.7 | 4.5 ± 0.2 | 4.5 ± 0.1 | NS |
| | Dexametasona | 4.9 ± 0.3 | 4.7 ± 0.4 | 4.4 ± 0.1 | 4.9 ± 0.5 | |
| | | | | | | |

NS: não significativo; e PP U/S: peso pulmonar úmido/seco. ^aDados expressos em forma de média ± dp.

^bSignificância global das diferenças entre os momentos em cada grupo (ANOVA de uma via).

*p < 0,05 vs. grupo sham (teste de Dunnett).

disso, a pontuação relativa à lesão pulmonar aguda foi menor no grupo dexametasona que no grupo controle 4 h e 24 h depois da VM lesiva. Essa lesão pulmonar mais leve relacionou-se com melhor oxigenação no fim da VM. Embora nem as vias inflamatórias envolvidas na LPIVM nem o impacto da administração de corticosteroides tenham sido avaliados, a lesão pulmonar mais leve e a menor disfunção pulmonar observadas nos animais tratados com dexametasona estão em conformidade com o que já se sabe sobre a fisiopatologia da LPIVM. Demonstrou-se que a VM com

volumes correntes elevados promove a quimiotaxia e ativação de neutrófilos nos pulmões, por meio de pelo menos dois mecanismos diferentes: ativação do fator de transcrição fator nuclear kappa B, que media a liberação de certas citocinas pró-inflamatórias, tais como TNF-α, IL-6 e IL-8⁽²³⁾; e regulação positiva de CD11b/CD18 induzida pela deformação de neutrófilos à medida que passam através dos capilares pulmonares comprimidos por alvéolos hiperinflados pelos volumes correntes elevados.⁽²⁹⁾ Os corticosteroides conseguem inibir ambas as vias, reduzindo assim o influxo de

neutrófilos nos pulmões e sua ativação, inibindo ou minimizando assim a lesão que induzem.^(25,30) Esses efeitos dos corticosteroides poderiam explicar nossos achados, que mostraram que os animais tratados apresentaram menor número de neutrófilos no lavado broncoalveolar, além de menor infiltração intersticial/alveolar de neutrófilos e, conseqüentemente, lesão pulmonar mais leve.

A maioria dos estudos experimentais dos efeitos dos corticosteroides na LPIVM foi realizada na fase aguda da lesão e mostrou que esses agentes anti-inflamatórios são capazes de diminuir a liberação de citocinas locais/sistêmicas, a infiltração de neutrófilos nos pulmões, as alterações histológicas e o comprometimento funcional induzidos pela LPIVM.^(23,25,28,29) No presente estudo, mostramos que, além desses benefícios agudos, a dexametasona manteve reduzidas a inflamação e a lesão pulmonar durante todo o período de recuperação após a LPIVM.

Em outro modelo experimental de LPIVM, Hegeman et al.⁽²²⁾ mostraram que a dexametasona inibe o influxo de neutrófilos e a expressão de mediadores inflamatórios, além de prevenir a expressão do fator de crescimento endotelial vascular nos pulmões. Os autores constataram que essa expressão relaciona-se com vazamento vascular e regulação da permeabilidade vascular. No entanto, não observaram nenhum efeito protetor da dexametasona contra a disfunção da barreira alveolocapilar; os autores constataram que o tratamento com glicocorticoides não teve nenhum efeito nos níveis de proteína no lavado broncoalveolar ou na relação peso pulmonar úmido/seco.⁽²²⁾ No tocante à relação peso pulmonar úmido/seco, o mesmo resultado foi observado em nosso estudo. Demonstrou-se que a dexametasona pode aumentar a água extravascular pulmonar em animais expostos a hiperóxia, contrabalançando seus efeitos positivos na lesão pulmonar de modo que o efeito global é neutro ou mesmo deletério.⁽³¹⁾

Observamos uma taxa de mortalidade menor nos animais tratados com dexametasona do que nos do grupo controle, embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa. Isso pode ter ocorrido porque o número de animais estudados foi insuficiente, já que a sobrevivência não foi um desfecho planejado. O desenho do estudo não nos permite determinar a causa da morte dos 11 animais. Não obstante, como essas mortes ocorreram nas primeiras horas após a indução da LPIVM, período durante o qual os níveis de inflamação e lesão pulmonar foram mais altos, pode-se supor que se relacionaram com a lesão pulmonar. Também se pode

inferir que a dexametasona teve um efeito positivo na sobrevivência. Outra hipótese possível, baseada nos resultados de outros estudos, é que a LPIVM pode ter gerado uma resposta inflamatória sistêmica, com instabilidade hemodinâmica, que pode ter melhorado por meio da administração da dexametasona.⁽³²⁾ Esse efeito hemodinâmico foi demonstrado por Nin et al.,⁽²⁵⁾ os quais mostraram, em outro modelo experimental de LPIVM, que a administração de dexametasona atenuou a lesão pulmonar e evitou a instabilidade hemodinâmica observadas nos animais que não receberam pré-tratamento.

Escolhemos submeter os ratos a VM com volume corrente de 35 ml/kg com base em estudos anteriores que usaram os mesmos parâmetros para estudar a LPIVM e os efeitos de estratégias terapêuticas.^(25,33,34) Embora esse volume corrente possa parecer bastante distante daquele que se emprega na prática clínica, deve-se ter em mente que, na SDRA, a área alveolar disponível para a ventilação é altamente limitada (o conceito do "pulmão de bebê"), e o volume corrente (que é definido de acordo com o peso corporal ideal) que chega a essas áreas disponíveis pode ser extremamente elevado.⁽³⁵⁾

Nosso estudo tem algumas limitações que devem ser consideradas. As análises realizadas nos diferentes momentos foram realizadas apenas com os animais sobreviventes, o que constitui um viés. Os resultados obtidos em cada momento nos grupos dexametasona e controle foram comparados com os obtidos no grupo *sham*, no qual os animais receberam ventilação durante apenas 10 min com estratégia protetora. Uma comparação mais precisa teria incluído a intubação e a extubação dos animais do grupo *sham*, com eutanásia nos mesmos momentos que nos demais grupos.

O desenho deste estudo, com LPIVM seguida de extubação e observação durante certo período de tempo, não necessariamente se correlaciona com a prática clínica. No entanto, aumenta a compreensão do curso da LPIVM e de como o uso de corticosteroides pode alterar esse curso. Embora tenhamos demonstrado a evolução temporal da LPIVM e sua natureza inflamatória, principalmente por meio da demonstração da capacidade da dexametasona de atenuar a lesão, não avaliamos as vias envolvidas. Em suma, descrevemos aqui o curso da LPIVM induzida por volumes correntes elevados e demonstramos que o pré-tratamento com dexametasona é capaz de atenuar a LPIVM em ratos Wistar. Os mecanismos moleculares e o possível papel clínico da corticoterapia na LPIVM ainda precisam ser elucidados.

REFERÊNCIAS

1. Dreyfuss D, Saumon G. Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157(1):294-323. <http://dx.doi.org/10.1164/ajrccm.157.1.9604014>
2. Pinhu L, Whitehead T, Evans T, Griffiths M. Ventilator-associated lung injury. *Lancet.* 2003;361(9354):332-40. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12329-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12329-X)
3. 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.* 2000;342(18):1301-8. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM200005043421801>
4. Amato MB, Barbas CS, Medeiros DM, Magaldi RB, Schettino GP, Lorenzi-Filho GP, et al. Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome.

- N Engl J Med. 1998;338(6):347-54. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199802053380602>
5. Serpa Neto A, Simonis FD, Schultz MJ. How to ventilate patients without acute respiratory distress syndrome? *Curr Opin Crit Care*. 2015;21(1):65-73. <http://dx.doi.org/10.1097/MCC.000000000000165>
 6. Mechanical Ventilation Committee of the Brazilian Intensive Care Medicine Association; Commission of Intensive Therapy of the Brazilian Thoracic Society. Brazilian recommendations of mechanical ventilation 2013. Part I. *J Bras Pneumol*. 2014;40(4):327-63. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132014000400002>
 7. Gattinoni L, Protti A, Caironi P, Carlesso E. Ventilator-induced lung injury: the anatomical and physiological framework. *Crit Care Med*. 2010;38(10 Suppl):S539-48. <http://dx.doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181f1fc7>
 8. Slutsky AS, Ranieri VM. Ventilator-induced lung injury. *N Engl J Med*. 2013;369(22):2126-36. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra1208707>
 9. Tremblay LN, Slutsky AS. Ventilator-induced injury: from barotrauma to biotrauma. *Proc Assoc Am Physicians*. 1998;110(6):482-8.
 10. De Prost N, Dreyfuss D. How to prevent ventilator-induced lung injury? *Minerva Anestesiol*. 2012;78(9):1054-66.
 11. Uhlig S, Uhlig U. Pharmacological interventions in ventilator-induced lung injury. *Trends Pharmacol Sci*. 2004;25(11):592-600. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2004.09.002>
 12. Barnes PJ. Corticosteroid effects on cell signalling. *Eur Respir J*. 2006;27(2):413-26. <http://dx.doi.org/10.1183/09031936.06.00125404>
 13. Rhen T, Cidlowski JA. Antiinflammatory action of glucocorticoids—new mechanisms for old drugs. *N Engl J Med*. 2005;353(16):1711-23. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra050541>
 14. Sessler CN, Gay PC. Are corticosteroids useful in late-stage acute respiratory distress syndrome? *Respir Care*. 2010;55(1):43-55.
 15. Thompson BT. Glucocorticoids and acute lung injury. *Crit Care Med*. 2003;31(4 Suppl):S253-7. <http://dx.doi.org/10.1097/01.CCM.0000057900.19201.55>
 16. Agarwal R, Nath A, Aggarwal AN, Gupta D. Do glucocorticoids decrease mortality in acute respiratory distress syndrome? A meta-analysis. *Respirology*. 2007;12(4):585-90. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1843.2007.01060.x>
 17. Lamontagne F, Briel M, Guyatt GH, Cook DJ, Bhatnagar N, Meade M. Corticosteroid therapy for acute lung injury, acute respiratory distress syndrome, and severe pneumonia: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Crit Care*. 2010;25(3):420-35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrc.2009.08.009>
 18. Meduri GU, Marik PE, Chrousos GP, Pastores SM, Arlt W, Beishuizen A, et al. Steroid treatment in ARDS: a critical appraisal of the ARDS network trial and the recent literature. *Intensive Care Med*. 2008;34(1):61-9. <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-007-0933-3>
 19. Tang BM, Craig JC, Eslick GD, Seppelt I, McLean AS. Use of corticosteroids in acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med*. 2009;37(5):1594-603. <http://dx.doi.org/10.1097/CCM.0b013e31819fb507>
 20. Peter JV, John P, Graham PL, Moran JL, George IA, Bersten A. Corticosteroids in the prevention and treatment of acute respiratory distress syndrome (ARDS) in adults: meta-analysis. *BMJ*. 2008;336(7651):1006-9. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.39537.939039.BE>
 21. Steinberg KP, Hudson LD, Goodman RB, Hough CL, Lanken PN, Hyzy R, et al. Efficacy and safety of corticosteroids for persistent acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2006;354(16):1671-84. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa051693>
 22. Hegeman MA, Hennus MP, Cobelens PM, Kavelaars A, Jansen NJ, Schultz MJ, et al. Dexamethasone attenuates VEGF expression and inflammation but not barrier dysfunction in a murine model of ventilator-induced lung injury. *PLoS One*. 2013;8(2):e57374. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0057374>
 23. Nin N, Lorente JA, de Paula M, El Assar M, Vallejo S, Peñuelas O, et al. Rats surviving injurious mechanical ventilation show reversible pulmonary, vascular and inflammatory changes. *Intensive Care Med*. 2008;34(5):948-56. <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-007-0959-6>
 24. Nin N, Lorente JA, Fernández-Segoviano P, De Paula M, Ferruelo A, Esteban A. High-tidal volume ventilation aggravates sepsis-induced multiorgan dysfunction in a dexamethasone-inhibitable manner. *Shock*. 2009;31(4):429-34. <http://dx.doi.org/10.1097/SHK.0b013e318188b720>
 25. Nin N, Peñuelas O, de Paula M, Lorente JA, Fernández-Segoviano P, Esteban A. Ventilation-induced lung injury in rats is associated with organ injury and systemic inflammation that is attenuated by dexamethasone. *Crit Care Med*. 2006;34(4):1093-8. <http://dx.doi.org/10.1097/01.CCM.0000205663.92384.E7>
 26. Matute-Bello G, Downey G, Moore BB, Groshong SD, Matthay MA, Slutsky AS, et al. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2011;44(5):725-38. <http://dx.doi.org/10.1165/rcmb.2009-0210ST>
 27. Peterson BT, Brooks JA, Zack AG. Use of microwave oven for determination of postmortem water volume of lungs. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*. 1982;52(6):1661-3.
 28. Curley GF, Contreras M, Higgins B, O’Kane C, McAuley DF, O’Toole D, et al. Evolution of the inflammatory and fibroproliferative responses during resolution and repair after ventilator-induced lung injury in the rat. *Anesthesiology*. 2011;115(5):1022-32. <http://dx.doi.org/10.1097/ALN.0b013e31823422c9>
 29. Ohta N, Shimaoka M, Imanaka H, Nishimura M, Taenaka N, Kiyono H, et al. Glucocorticoid suppresses neutrophil activation in ventilator-induced lung injury. *Crit Care Med*. 2001;29(5):1012-6. <http://dx.doi.org/10.1097/00003246-200105000-00027>
 30. Held HD, Boettcher S, Hamann L, Uhlig S. Ventilation-induced chemokine and cytokine release is associated with activation of nuclear factor-kappaB and is blocked by steroids. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163(3 Pt 1):711-6. <http://dx.doi.org/10.1164/ajrccm.163.3.2003001>
 31. Ramsay PL, Smith CV, Geske RS, Montgomery CA, Welty SE. Dexamethasone enhancement of hyperoxic lung inflammation in rats independent of adhesion molecule expression. *Biochem Pharmacol*. 1998;56(2):259-68. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-2952\(98\)00138-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-2952(98)00138-5)
 32. Imai Y, Parodo J, Kajikawa O, de Perrot M, Fischer S, Edwards V, et al. Injurious mechanical ventilation and end-organ epithelial cell apoptosis and organ dysfunction in an experimental model of acute respiratory distress syndrome. *JAMA*. 2003;289(16):2104-12. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.289.16.2104>
 33. Dreyfuss D, Basset G, Soler P, Saumon G. Intermittent positive-pressure hyperventilation with high inflation pressures produces pulmonary microvascular injury in rats. *Am Rev Respir Dis*. 1985;132(4):880-4.
 34. Eyal FG, Hamm CR, Parker JC. Reduction in alveolar macrophages attenuates acute ventilator induced lung injury in rats. *Intensive Care Med*. 2007;33(7):1212-8. <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-007-0651-x>
 35. Gattinoni L, Pesenti A. The concept of “baby lung”. *Intensive Care Med*. 2005;31(6):776-84. <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-005-2627-z>