

José Roberto Fioretto<sup>1</sup>, Susiane Oliveira Klefens<sup>1</sup>,  
Rafaelle Fernandes Pires<sup>1</sup>, Cilmery Suemi  
Kurokawa<sup>1</sup>, Mario Ferreira Carpi<sup>1</sup>, Rossano  
César Bonatto<sup>1</sup>, Marcos Aurélio Moraes<sup>1</sup>, Carlos  
Fernando Ronchi<sup>1,2</sup>

## Comparação entre ventilação mecânica convencional protetora e ventilação oscilatória de alta frequência associada à posição prona

*Comparison between conventional protective mechanical ventilation and high-frequency oscillatory ventilation associated with the prone position*

1. Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Botucatu (SP), Brasil.

2. Faculdade de Educação Física e Fisioterapia, Universidade Federal de Uberlândia - Uberlândia (MG), Brasil.

### RESUMO

**Objetivo:** Comparar os efeitos da ventilação oscilatória de alta frequência e da ventilação mecânica convencional protetora associadas à posição prona quanto à oxigenação, à histologia e ao dano oxidativo pulmonar em modelo experimental de lesão pulmonar aguda.

**Métodos:** Foram instrumentados com traqueostomia, acessos vasculares e ventilados mecanicamente 45 coelhos. A lesão pulmonar aguda foi induzida por infusão traqueal de salina aquecida. Foram formados três grupos experimentais: animais sadios + ventilação mecânica convencional protetora, em posição supina (Grupo Controle; n = 15); animais com lesão pulmonar aguda + ventilação mecânica convencional protetora, posição prona (GVMC; n = 15); animais com lesão pulmonar aguda + ventilação oscilatória de alta frequência, posição prona (GVAF; n = 15). Após 10 minutos do início da ventilação específica de cada grupo, foi coletada gasometria arterial, sendo este momento denominado tempo zero, após o qual o animal foi colocado em posição prona, permanecendo

assim por 4 horas. O estresse oxidativo foi avaliado pelo método de capacidade de antioxidante total. A lesão tecidual pulmonar foi determinada por escore histopatológico. O nível de significância adotado foi de 5%.

**Resultados:** Ambos os grupos com lesão pulmonar aguda apresentaram piora da oxigenação após a indução da lesão comparados ao Grupo Controle. Após 4 horas, houve melhora significativa da oxigenação no grupo GVAF comparado ao GVMC. A análise da capacidade antioxidante total no plasma mostrou maior proteção no GVAF. O GVAF apresentou menor escore de lesão histopatológica no tecido pulmonar que o GVMC.

**Conclusão:** A ventilação oscilatória de alta frequência, associada à posição prona, melhora a oxigenação, e atenua o dano oxidativo e a lesão pulmonar histopatológica, comparada com ventilação mecânica convencional protetora.

**Descritores:** Respiração artificial; Lesão pulmonar aguda; Ventilação de alta frequência; Estresse oxidativo; Síndrome do desconforto respiratório agudo; Coelhos

**Conflitos de interesse:** Nenhum.

Submetido em 5 de julho de 2016

Aceito em 11 de maio de 2017

### Autor correspondente:

Carlos Fernando Ronchi  
Universidade Federal de Uberlândia  
Rua Benjamin Constant, 1.286  
CEP: 38.400-678 - Uberlândia (MG), Brasil  
E-mail: ronchi.carlos@yahoo.com

**Editor responsável:** Werther Brunow de Carvalho

DOI: 10.5935/0103-507X.20170067

### INTRODUÇÃO

A ventilação mecânica (VM) constitui um dos pilares do tratamento da síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), sendo capaz de modificar a evolução da doença.<sup>(1)</sup> Embora a VM convencional (VMC) protetora seja efetiva em muitos pacientes, há um número significativo deles que apresenta insuficiência respiratória grave, nos quais a VMC pode não garantir a oxigenação e a ventilação. Nestes casos, quando a proteção pulmonar é mandatória, a ventilação oscilatória de alta frequência (VOAF) passa a ser uma alternativa

terapêutica interessante,<sup>(2)</sup> pois utiliza volume corrente (VC) mais baixo que o volume do espaço morto anatômico e frequência oscilatória acima da fisiológica, evitando elevadas pressões e volumes alveolares típicos da VMC.<sup>(3-5)</sup>

Em decorrência da alta mortalidade observada na SDRA, estratégias terapêuticas adicionais à VM vêm sendo desenvolvidas com destaque para a posição prona.<sup>(6)</sup> O comprometimento pulmonar, na SDRA, é heterogêneo e a lesão varia de acordo com a posição do paciente, sendo mais importante nas áreas dependentes da gravidade, ou seja, na região pulmonar dorsal, quando o paciente está em posição supina.<sup>(7,8)</sup> A posição prona pode melhorar as trocas gasosas por redistribuição da ventilação para áreas pulmonares dorsais melhor perfundidas,<sup>(9,10)</sup> homogeneização da distribuição do VC associado com alterações na mecânica da parede torácica,<sup>(11)</sup> recrutamento alveolar,<sup>(12)</sup> redirecionamento de forças compressivas exercidas pelo peso do coração sobre os pulmões,<sup>(13)</sup> podendo proporcionar melhor remoção de secreções. Recentemente, estudos mostraram que há melhora de sobrevida em pacientes tratados precocemente com a posição prona.<sup>(14)</sup>

Considerando as características protetoras da VOAF e a capacidade de redistribuição da ventilação para áreas pulmonares melhor perfundidas, o que resulta em melhor oxigenação na SDRA, assim como o potencial de recrutamento da posição prona, nossa hipótese é que a somatória dos efeitos benéficos da VOAF e da posição prona melhora de forma mais acentuada a oxigenação, torne a lesão histopatológica mais homogênea e de menor intensidade, e atenua a lesão pulmonar tecidual oxidativa, quando comparada com a VMC associada à posição prona.

O objetivo do estudo foi comparar o efeito da posição prona associada à VOAF e à VMC, avaliando a oxigenação, a histologia e o dano oxidativo pulmonar, em modelo experimental de lesão pulmonar aguda induzida em coelhos.

## MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório Experimental do Centro de Pesquisa Clínica e Experimental do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) e aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu sob o protocolo número 795.

Estudo prospectivo, *in vivo*, realizado com animais de laboratório. Foram utilizados coelhos machos brancos fornecidos pelo Biotério da Faculdade de Medicina - *Campus* de Botucatu, com peso variando de 2,0 a 3,0kg.

A instrumentação dos animais seguiu protocolo já estabelecido pelo grupo.<sup>(15,16)</sup> Resumidamente, após pesagem, os animais foram anestesiados e sedados com solução de cetamina (50mg/kg) e acepromazina (2mg/kg) administradas por via intramuscular. Os animais foram colocados em goteira cirúrgica, receberam oxigênio a 100% por meio de cateter nasal, e foram submetidos à tricotomia cervical e torácica, para colocação de eletrodos de monitoração da frequência cardíaca (FC). Se a FC diminuísse para valores abaixo de 180bpm, atropina era administrada na dose de 0,01mg/kg por via intravenosa na veia auricular. A região anterior do pescoço dos animais foi anestesiada com xilocaína para realização da traqueostomia. Pela traqueostomia, foi introduzido tubo traqueal de maior calibre possível (diâmetro interno de 3,0 a 3,5mm, *Portex, Hythe, UK*), mantido em posição por meio de fita cirúrgica. Imediatamente, iniciou-se a VM com o aparelho de VMC (Inter® 7 plus, Oxy System, São Paulo (SP), Brasil). Os parâmetros iniciais foram: modo volume controlado regulado por pressão, com VC alvo de 6mL/kg; frequência respiratória (FR) de 40 ciclos por minuto, ajustada de acordo com a pressão parcial de dióxido de carbono (PaCO<sub>2</sub>); tempo inspiratório (Ti) de 0,5 segundo; pressão positiva expiratória final (PEEP) de 5cmH<sub>2</sub>O; e fração inspirada de oxigênio (FiO<sub>2</sub>) de 1,0. Estes parâmetros foram mantidos por período de estabilização de 10 minutos, até o momento da indução da lesão pulmonar nos grupos tratados. Depois da traqueostomia, foram dissecadas a artéria carótida e a veia jugular interna. Um cateter vascular de lúmen único foi inserido na carótida comum (22 Gauge Jelco, Introcán® Safety™, B-Braun, Melsungen, Alemanha) e um cateter de duplo-lumén (5Fr, Arrow International Inc., Reading, Philadelphia, EUA) na veia cava superior, através da veia jugular. O cateter arterial foi utilizado para obtenção de gasometrias e para monitoração contínua da pressão arterial média (PAM) com auxílio de um sistema de monitoração de pressão (LogiCal® da Medex, Dublin, USA) conectado a monitor multiparamétrico (Dixtal, Manaus, Brasil). O cateter na veia cava foi utilizado para administração de sedativos em infusão contínua, fluidos de manutenção e drogas vasoativas.

Obtidos os acessos vasculares, a anestesia foi mantida por meio de administração intravenosa contínua de 10mg/kg/hora de cetamina, até a conclusão do experimento. Além disto, os animais foram submetidos ao bloqueio neuromuscular, por meio da administração intravenosa de 0,2mg/kg de pancurônio, sendo o bloqueio mantido com doses adicionais de 0,1mg/kg, conforme necessário para controle dos movimentos respiratórios. Em qualquer

momento do experimento, caso a PAM atingisse valores inferiores a 50mmHg, iniciava-se infusão intravenosa contínua de noradrenalina em dose inicial de 0,2µg/kg/minuto e, não havendo resposta, a dose era aumentada gradativamente, até 1µg/kg/minuto. A temperatura corporal foi monitorada com o auxílio de termômetro digital por via retal, sendo mantida entre 38°C e 40°C, com auxílio de bolsas térmicas, e a volemia foi mantida por meio de infusão contínua de 4mL/kg/hora de solução salina, acrescida de 5% de dextrose.

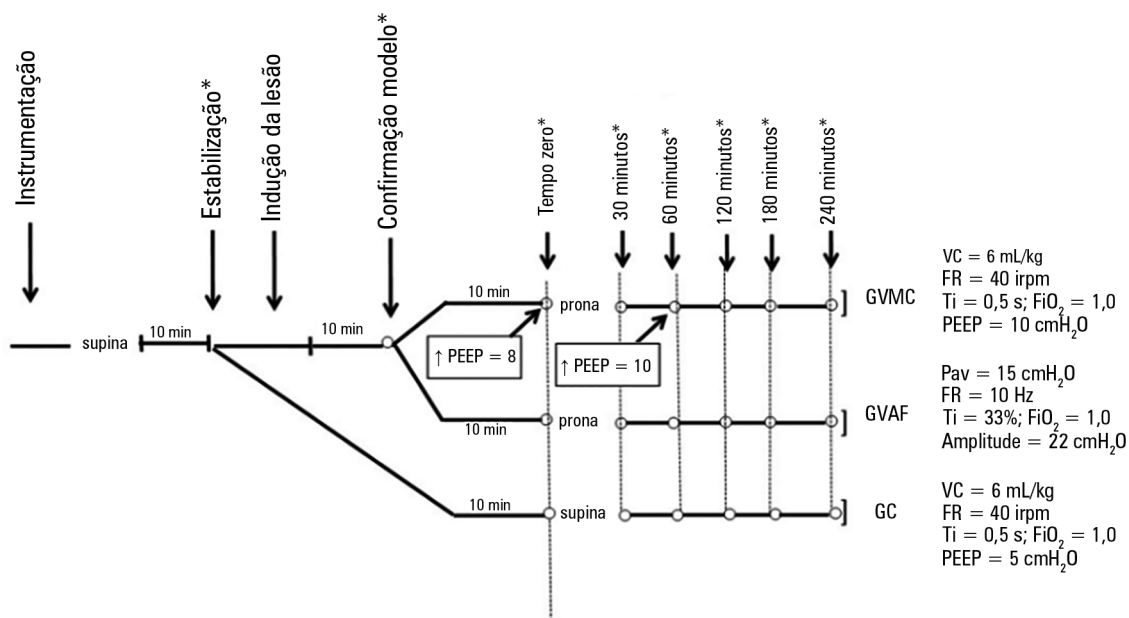
### Instalação do modelo de lesão pulmonar aguda

A lesão pulmonar aguda (LPA) foi induzida conforme técnica previamente descrita.<sup>(15,17-19)</sup> Resumidamente, foram realizadas seis lavagens sucessivas do pulmão com soro fisiológico aquecido a 38°C em alíquotas de 30mL/kg, a uma pressão máxima de 30cmH<sub>2</sub>O, através da cânula traqueal. Cada procedimento de lavagem tinha duração de 60 segundos, sendo 20 segundos reservados para infusão e o tempo restante, para retirada, a qual foi realizada por gravidade e por movimentos externos de compressão torácica. Completada a retirada, o procedimento foi repetido a cada 3 - 5 minutos, até atingir relação PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> < 100mmHg, confirmada após 10 minutos de estabilização. Se o critério não fosse atingido, eram realizadas mais duas lavagens na sequência e, depois de 10 minutos, nova gasometria era obtida, e assim sucessivamente, até atingir

relação PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> < 100mmHg. Atingindo este critério, os animais foram aleatorizados para compor os grupos experimentais.

### Formação dos grupos experimentais e ventilação mecânica

Baseado em estudos prévios realizados com metodologia similar, os animais foram distribuídos em três grupos de 15 coelhos cada um, como segue: animais sadios instrumentados (controle - GC), mantidos em posição supina e submetidos à VMC no modo volume controlado regulado por pressão, com VC de 6mL/kg, FR de 40 ciclos por minuto, Ti de 0,5 segundo, PEEP de 5cmH<sub>2</sub>O e FiO<sub>2</sub> de 1,0; animais com LPA submetidos à VMC protetora em posição prona (grupo ventilação mecânica convencional - GVMC), com os mesmos parâmetros iniciais descritos para o GC. Neste grupo, a PEEP foi aumentada para 8cmH<sub>2</sub>O durante a primeira hora e, em seguida, para 10cmH<sub>2</sub>O, permanecendo assim até o final do experimento. Animais com LPA submetidos à VOAF em posição prona com pressão média de vias aéreas de 15cmH<sub>2</sub>O, FR de 10Hz, Ti de 33%, amplitude de pressão de 22cmH<sub>2</sub>O, FiO<sub>2</sub> de 1,0, no ventilador mecânico SensorMedics 3100A (Viasys Healthcare, Yorba Linda, EUA), sendo a FR e a amplitude ajustadas para manter PaCO<sub>2</sub> em níveis fisiológicos (35 - 45mmHg) formaram o grupo ventilação oscilatória de alta frequência (GVAF) (Figura 1).



**Figura 1** - Protocolo experimental e distribuição dos animais, de acordo com o tipo de ventilação utilizada. GVMC - grupo ventilação mecânica convencional; VC - volume corrente; FR - frequência respiratória; Ti - tempo inspiratório; FiO<sub>2</sub> - fração inspirada de oxigênio; PEEP - pressão positiva expiratória final; Pav - pressão média de vias aéreas; GVAF - grupo ventilação oscilatória de alta frequência; GC - grupo controle. \* Coleta de gasometria.

Depois de 10 minutos do início da ventilação específica de cada grupo, nova gasometria foi obtida, sendo este momento denominado tempo zero (T0), após o qual os animais foram colocados em posição prona. A partir deste momento, eles foram ventilados por 4 horas, sendo coletadas gasometrias arteriais nos momentos 30, 60, 120, 180 e 240 minutos. O tempo de 4 horas foi escolhido, levando-se em conta a viabilidade dos coelhos neste tipo de experimento, com base em experimentos anteriores e, em razão dos estudos citados anteriormente, que demonstraram efeitos precoces, clínicos e experimentais, da posição prona.<sup>(17,18,20)</sup>

### **Manipulação dos pulmões e determinação da lesão tecidual. Histologia pulmonar**

Antes do término do experimento, os animais receberam 1mL de heparina e, em seguida, foram submetidos à eutanásia por meio da administração intravenosa rápida de cetamina. Posteriormente, o tubo traqueal foi ocluído e o tórax, aberto, para excluir a presença de pneumotórax oculto, confirmar a posição dos cateteres vasculares e do tubo traqueal, e coletar amostra para análise histológica e para o lavado broncoalveolar. Nos animais nos quais o lavado broncoalveolar foi realizado (n = 8), o brônquio fonte direito foi ligado por meio de fita cirúrgica; o bloco pulmão/coração, removido; e o pulmão esquerdo, lavado duas vezes, utilizando-se alíquota de 15mL/kg de salina normal, sendo o fluido drenado coletado para análise. Nos animais submetidos à análise histológica (n = 7), o bloco traqueia/pulmão/coração foi removido; os pulmões e a traqueia foram separados do coração; e o pulmão esquerdo dos animais não submetidos à lavagem broncoalveolar foi preenchido com solução de formol a 10%. O preenchimento foi realizado por meio de coluna com equipo de soro com 30cm de comprimento, com um frasco que continha formol conectado a uma de suas extremidades e, na outra, a traqueia do animal. A partir deste sistema, o formol gotejava por gravidade, lentamente, de forma a preencher os espaços alveolares, preservando sua arquitetura. Após período mínimo de fixação de 24 horas, fragmentos eram embebidos em parafina e, então, foram realizados cortes axiais de pulmão, que foram corados com hematoxilina e eosina, e examinados por dois patologistas, de forma cega e independente. Em cada lâmina, o espécime foi dividido em duas zonas distintas, representando as regiões dependentes (dorsais) e não dependentes (ventrais) do pulmão. Dez campos microscópicos foram aleatoriamente selecionados para o exame, sendo cinco em cada região, totalizando 50 análises para cada animal. A lesão histológica tecidual pulmonar foi quantificada por

um escore composto de sete variáveis (inflamação alveolar e intersticial, hemorragia alveolar e intersticial, edema, atelectasia e necrose). A gravidade da lesão foi classificada para cada uma das sete variáveis, da seguinte forma: zero se sem lesão; 1 se lesão em 25% do campo; 2 se lesão em 50% do campo; 3 se lesão em 75% do campo; 4 se lesão difusa. A pontuação máxima possível era de 28 e, a mínima, zero.<sup>(21,22)</sup>

### **Concentração de malondialdeído**

Concentrações de malondialdeído (MDA), marcador do dano oxidativo lipídico, foram medidas no fluido de lavagem pulmonar e no plasma, utilizando o método de Esterbauer et al.<sup>(23)</sup>

### **Estresse oxidativo pulmonar: capacidade antioxidante total**

O estresse oxidativo do tecido pulmonar foi avaliado pelo método da capacidade antioxidante total (CAT) descrito por Aldini et al.<sup>(24)</sup> Resumidamente, o método CAT, validado por Beretta et al.,<sup>(25)</sup> determina a capacidade antioxidante medindo o estresse oxidativo, sendo o único que captura a rede de antioxidantes dos compartimentos lipofílico e hidrofílico e suas interações.<sup>(26)</sup> É baseado na geração de radical lipofílico (MeO-AMVN) e um substrato lipofílico oxidável (BODIPY), que especificamente mede a oxidabilidade do compartimento lipídico relacionado à ação de antioxidantes lipossolúveis e hidrossolúveis, por meio de mecanismo de sinergismo e cooperação.<sup>(27)</sup>

As quantidades de 100µL de plasma de cada amostra e de 100uL do padrão de fosfatidilcolina (PC) (PC1 e PC2) foram pipetadas separadamente. No plasma e nos dois PC, foram adicionados 300µL de *phosphate buffered saline* (PBS) gelado (pH 7,4), tendo sido, em seguida, adicionados 100uL de Bodipy a todas as amostras; após banho-maria foram pipetadas em todas as amostras 420uL de PBS e 80µL de 2,2' - *Azobis* (2-*amidinopropane*) *dihydrochloride* (AAPH). As amostras foram agitadas no vórtex e, em seguida, colocadas na placa para análise, utilizando o aparelho Wallack Victor X2 (Perkin-Elmer, Boston, EUA), pelo programa WorkOut 2.5 (Dazdaq Solutions Ltd.). Todo o procedimento foi realizado sob luz indireta, além das amostras terem sido feitas em triplicata.

### **Análise estatística**

Variáveis com distribuição normal foram comparadas entre os diversos grupos experimentais, por meio de Análise de Variância (ANOVA), com subseqüentes comparações múltiplas entre pares, por meio do teste de Bonferroni.

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

## RESULTADOS

### Hemodinâmica, mecânica pulmonar e trocas gasosas

Não houve diferença estatística comparando os grupos quanto ao peso dos animais e o número de lavagens necessárias para a indução da lesão. Da mesma forma, não houve diferença significativa entre os grupos quanto à relação  $PaO_2/FiO_2$ , ao índice de oxigenação (IO), complacência pulmonar e PAM, comparando os momentos antes e depois da indução da lesão pulmonar. Comparando antes e depois da lesão pulmonar dentro de cada grupo, houve piora significativa da oxigenação e diminuição da complacência pulmonar em ambos os grupos após a indução, como mostra a tabela 1.

Na avaliação do estado hemodinâmico, observou-se que a PAM não foi estatisticamente diferente entre os momentos ao longo do experimento, indicando homogeneização dos grupos e controle rigoroso da variável, utilizando, quando necessária, a administração de drogas vasoativas. A porcentagem de animais que necessitaram de droga vasoativa foi de 20% no GC e 26% no GVAF e no GVMC.

Depois da indução da lesão, os grupos evoluíram com hipoxemia significativa em relação ao início do experimento. Após 4 horas de VMC, o GVAF mostrou melhora significativa da oxigenação quando comparado ao GVMC, apresentando relação  $PaO_2/FiO_2$  semelhante aos momentos antes da indução da lesão e ao GC, como mostra a figura 2.

### Estresse oxidativo - malondialdeído e capacidade antioxidante total

Não houve diferença estatística entre os grupos quando o MDA foi avaliado no plasma e no lavado broncoalveolar (Figura 3).

Quanto à avaliação da CAT no plasma, o GVAF apresentou proteção antioxidante semelhante ao GC e significativamente maior do que o GVMC, como mostrado na figura 4.

### Histopatologia

O GVAF apresentou escore de lesão histopatológica significativamente menor, quando comparado com o GVMC, como mostrado na figura 5.

## DISCUSSÃO

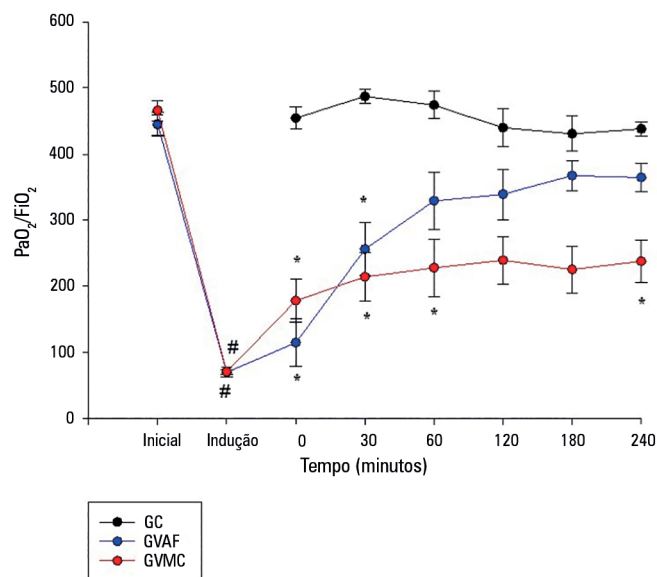
Recentemente, nosso grupo publicou, pela primeira vez na literatura, resultados da comparação entre VMC protetora e VOAF, quanto ao estresse oxidativo total, pelo método CAT, e concluiu que a VOAF atenuou a lesão oxidativa.<sup>(15)</sup>

Poucos foram os trabalhos que avaliaram a associação de VOAF com posição prona.<sup>(28,29)</sup> Estudos clínicos concluíram que a posição prona associada à VMC ou à VOAF melhora a oxigenação em 12 horas, em contraste com a posição supina associada à VOAF, além de diminuir a inflamação pulmonar. Demory et al.<sup>(29)</sup> sugeriram que a

**Tabela 1** - Comparação dos grupos experimentais em relação a pressão parcial de oxigênio/fração inspirada de oxigênio, índice de oxigenação, complacência pulmonar e pressão arterial média, antes e depois da lesão

Variáveis	GC N = 15		GVAF N = 15		GVMC N = 15	
	Valores basais	Antes da LP	Depois da LP	Antes da LP	Depois da LP	
$PaO_2/FiO_2$	444,26 ± 59,45	445,31 ± 54,17	70,23 ± 21,35*	465,86 ± 48,30	68,93 ± 11,60*	
Índice de oxigenação (cmH <sub>2</sub> O/mmHg)	1,95 ± 0,32	2,25 ± 0,80	20,10 ± 12,92*	1,95 ± 0,46	14,23 ± 2,28*	
Complacência (mL/cmH <sub>2</sub> O)	1,73 ± 0,62	2,06 ± 0,49	0,81 ± 0,19*	1,76 ± 0,41	0,74 ± 0,25*	
PAM (mmHg)	60,13 ± 15,61	61,89 ± 14,47	69,55 ± 9,45*	65,2 ± 15,84	68,5 ± 15,05*	

GC - grupo controle; GVMC - grupo ventilação mecânica convencional; GVAF - grupo ventilação oscilatória de alta frequência; LP - lesão pulmonar;  $PaO_2$  - pressão parcial de oxigênio;  $FiO_2$  - fração inspirada de oxigênio; PAM - pressão arterial média. \*  $p < 0,05$  comparando os momentos antes e depois da indução dentro de cada grupo. Distribuição normal: teste *t*. Distribuição não normal: Mann-Whitney Rank.

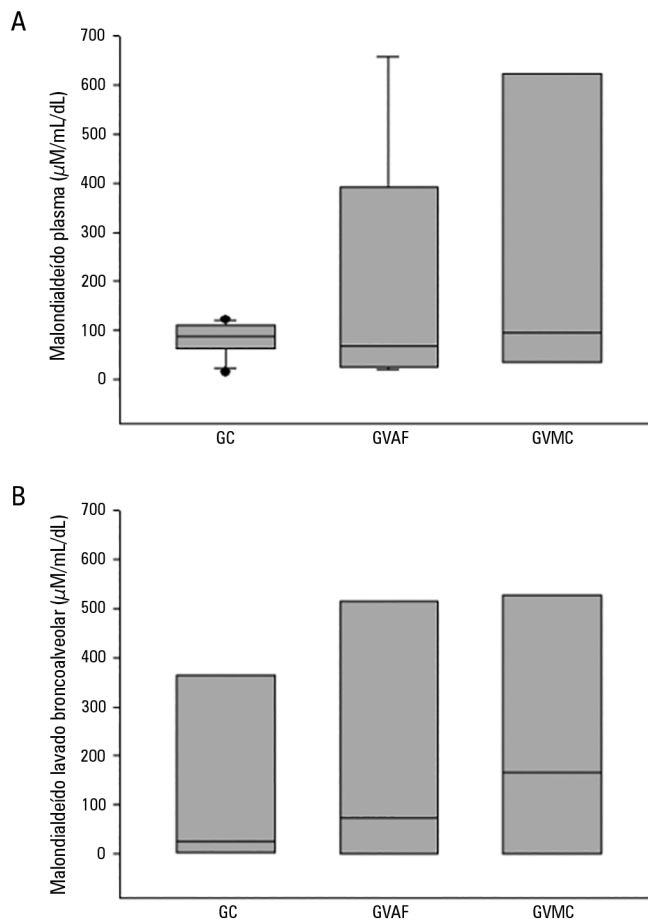


**Figura 2** - Evolução da relação pressão parcial de oxigênio/fracção inspirada de oxigênio no período experimental (até 240 minutos). PaO<sub>2</sub> - pressão parcial de oxigênio; FiO<sub>2</sub> - fracção inspirada de oxigênio; GC - grupo controle; GVAF - grupo ventilação oscilatória de alta frequência; GVMC - grupo ventilação mecânica convencional. \* p < 0,05 dos grupos ventilação oscilatória de alta frequência e ventilação mecânica convencional comparados ao controle; # p < 0,05 em relação ao momento inicial.

VOAF é capaz de manter o recrutamento alveolar induzido pela posição prona, e seu uso após a posição prona permite reduzir a FiO<sub>2</sub> para níveis potencialmente menos tóxicos.

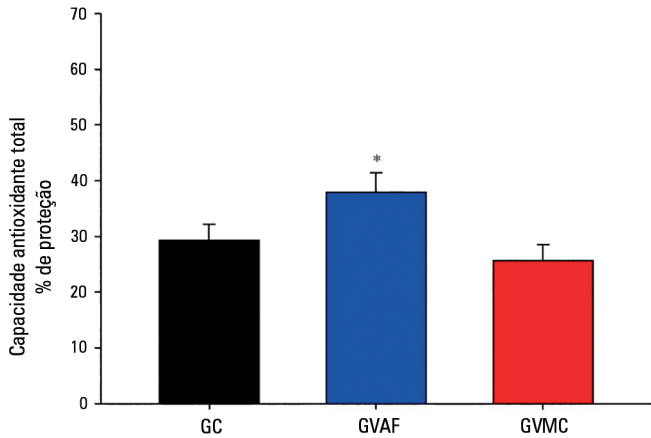
No presente estudo, após 4 horas de experimento, o GVAF mostrou melhora significativa da oxigenação, apresentando valores semelhantes aos anteriores da indução da lesão, o que corrobora estudo anterior do nosso grupo,<sup>(15)</sup> também realizado em coelhos com LPA induzida pela infusão de salina aquecida em animais ventilados com VOAF em posição supina. Este achado confirma nossa hipótese de que, nos casos de hipoxemia grave, a VOAF pode ser alternativa atraente para o retorno da oxigenação de maneira mais eficiente.<sup>(2)</sup>

Em relação ao estresse oxidativo, a concentração de MDA no plasma foi menor no GVAF em relação ao GVMC, porém sem atingir significância estatística. Por outro lado, quando o estresse oxidativo foi avaliado pela CAT, houve maior proteção pulmonar no GVAF em comparação aos animais do GVMC. Este resultado pode ter sido devido às características de avaliação do método CAT, o qual é mais sensível ao aferir a CAT dos dois compartimentos (hidrofílico e lipídico) presentes nas amostras biológicas.<sup>(24)</sup> Ainda, este resultado mostra que houve maior proteção antioxidante pulmonar no GVAF, em comparação aos animais do próprio GC. Acreditamos que este

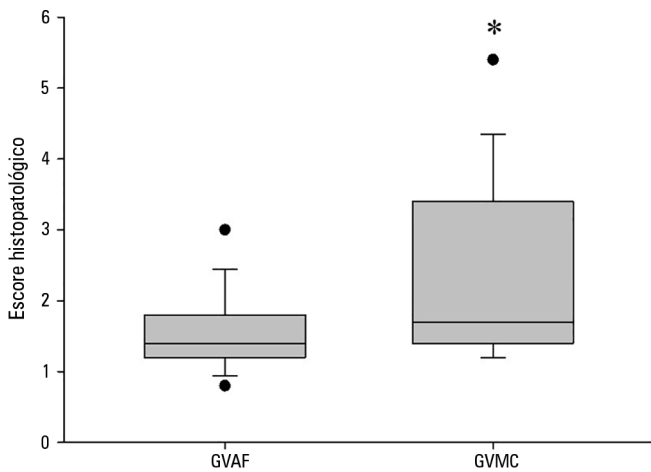


**Figura 3** - Concentração de malondialdeído em cada grupo, no plasma. (A) Grupo ventilação oscilatória de alta frequência [grupo controle: 87,38 (64,20 - 106,34) > grupo ventilação oscilatória de alta frequência: 67,63 (26,40 - 327,60) < grupo ventilação mecânica convencional: 95,92 (34,49 - 599,06); p > 0,05] e no lavado broncoalveolar (B) [grupo controle: 25,75 (2,74 - 291,86) < grupo ventilação oscilatória de alta frequência: 72,63 (0,75 - 449,64) < grupo ventilação mecânica convencional: 167,15 (1,85 - 462,20); p > 0,05]. GC - grupo controle; GVAF - grupo ventilação oscilatória de alta frequência; GVMC - grupo ventilação mecânica convencional. As barras acima e abaixo dos retângulos indicam os percentis 25 e 75 e a barra interna, a mediana.

comportamento do GVAF em relação à CAT tenha ocorrido, pois a VMC por si só pode lesar o pulmão saudável por movimento de abertura e fechamento cíclicos de unidades alveolares, enquanto que a VOAF proporciona maior proteção pulmonar, por manter o volume pulmonar constante.<sup>(27)</sup> Este resultado está em acordo com os achados de Ronchi et al.,<sup>(15)</sup> que também utilizaram este método e obtiveram no grupo ventilado com VOAF valores semelhantes aos do grupo controle e significativamente superiores aos do grupo em VMC dos animais em posição supina. Reforçando nossos achados, em estudo realizado por Mazullo Filho et al.,<sup>(30)</sup> os autores avaliaram 12 pacientes internados na unidade de terapia intensiva, comparando o primeiro e o último dia de utilização da



**Figura 4** - Capacidade antioxidante total no plasma, para cada grupo. GC - grupo controle; GVAF - grupo ventilação oscilatória de alta frequência; GVMC - grupo ventilação mecânica convencional. \* p < 0,05.



**Figura 5** - Escore de lesão histopatológica no tecido pulmonar [grupo ventilação oscilatória de alta frequência: 1,4 (1,2 - 1,8) < grupo ventilação mecânica convencional: 1,7 (1,4 - 3,2); \* p < 0,05]. As bordas inferiores dos retângulos indicam os percentis 25, as linhas horizontais dentro dos retângulos marcam as medianas e as porções superiores indicam os percentis 75. As barras acima e abaixo dos retângulos indicam os percentis 90 e 10, respectivamente, e os círculos preenchidos representam os valores individuais. GVAF - grupo ventilação oscilatória de alta frequência; GVMC - grupo ventilação mecânica convencional.

VMC, e observaram que os pacientes tiveram aumento dos marcadores do estresse oxidativo e redução das enzimas antioxidantes devido ao uso da VMC.

Os achados histopatológicos típicos da SDRA neste modelo incluem edema, infiltrado polimorfonuclear no espaço alveolar, formação de membrana hialina e

congestão capilar,<sup>(21)</sup> os quais foram avaliados por escore histológico que inclui inflamação, hemorragia, edema, atelectasia e necrose.<sup>(22,31)</sup> Demonstramos que o GVAF apresentou redução significativa da lesão histopatológica quando comparado ao GVMC. Corroborando nossos achados, estudo experimental em porcos,<sup>(31)</sup> nos quais a SDRA foi induzida por lavagem com salina, demonstrou que a VOAF, associada à posição prona, determinou redução de escore histopatológico quando comparando com os animais em VMC. Além disso, houve melhora da oxigenação, redução significativa da fração de *shunt* pulmonar e normalização do débito cardíaco, com pressões médias de vias aéreas mais baixas quando a VOAF foi associada à posição supina.

O presente estudo apresenta algumas limitações. Primeiramente, não há modelo animal capaz de reproduzir todas as características da LPA/SDRA em humanos. No entanto, um dos modelos de LPA em animais mais utilizados é a lavagem alveolar com solução salina aquecida, o qual provoca depleção de surfactante ocasionando lesão pulmonar muito semelhante à da SDRA em seres humanos. Além disso, o período de 4 horas de experimento sob FiO<sub>2</sub> de 1,0 pode levar a danos do parênquima pulmonar e interferir no metabolismo oxidativo destes animais. Em contrapartida, o uso da mesma concentração de oxigênio e a definição de parâmetros ventilatório para todos os grupos provavelmente excluía qualquer variação significativa entre os grupos, devido à toxicidade de oxigênio. A escolha do número de animais foi baseada em estudos prévios, não sendo realizado cálculo amostral.

## CONCLUSÃO

A ventilação oscilatória de alta frequência em associação com a posição prona melhora a oxigenação e leva à redução do dano oxidativo medido pela capacidade antioxidante total, além de atenuar a lesão pulmonar histopatológica, quando comparada com a ventilação mecânica convencional protetora associada à posição prona.

## AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa teve apoio financeiro da *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo* (FAPESP) - 2010/06242-8.

## ABSTRACT

**Objective:** To compare the effects of high-frequency oscillatory ventilation and conventional protective mechanical ventilation associated with the prone position on oxygenation, histology and pulmonary oxidative damage in an experimental model of acute lung injury.

**Methods:** Forty-five rabbits with tracheostomy and vascular access were underwent mechanical ventilation. Acute lung injury was induced by tracheal infusion of warm saline. Three experimental groups were formed: healthy animals + conventional protective mechanical ventilation, supine position (Control Group; n = 15); animals with acute lung injury + conventional protective mechanical ventilation, prone position (CMVG; n = 15); and animals with acute lung injury + high-frequency oscillatory ventilation, prone position (HFOG; n = 15). Ten minutes after the beginning of the specific ventilation of each group, arterial gasometry was collected, with this timepoint being called time zero, after which the animal was

placed in prone position and remained in this position for 4 hours. Oxidative stress was evaluated by the total antioxidant performance assay. Pulmonary tissue injury was determined by histopathological score. The level of significance was 5%.

**Results:** Both groups with acute lung injury showed worsening of oxygenation after induction of injury compared with the Control Group. After 4 hours, there was a significant improvement in oxygenation in the HFOG group compared with CMVG. Analysis of total antioxidant performance in plasma showed greater protection in HFOG. HFOG had a lower histopathological lesion score in lung tissue than CMVG.

**Conclusion:** High-frequency oscillatory ventilation, associated with prone position, improves oxygenation and attenuates oxidative damage and histopathological lung injury compared with conventional protective mechanical ventilation.

**Keywords:** Respiration, artificial; Acute lung injury; High-frequency ventilation; Oxidative stress; Acute respiratory distress syndrome; Rabbits

## REFERÊNCIAS

- ARDS Definition Task Force, Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, et al. Acute respiratory distress syndrome. The Berlin Definition. *JAMA*. 2012;307(23):2526-33.
- Arnold JH, Hanson JH, Toro-Figuero LO, Gutiérrez J, Berens RJ, Anglin DL. Prospective, randomized comparison of high-frequency oscillatory ventilation and conventional ventilation in pediatric respiratory failure. *Crit Care Med*. 1994;22(10):1530-9.
- Froese AB, McCulloch PR, Sugiura M, Vaclavik S, Possmayer F, Moller F. Optimizing alveolar expansion prolongs the effectiveness of exogenous surfactant therapy in the adult rabbit. *Am Rev Respir Dis*. 1993;148(3):569-77.
- Fioretto JR, Rebello CM. High frequency oscillatory ventilation in pediatrics and neonatology. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2009;21(1):96-103.
- Rotta AT, Piva JP, Andreolio C, de Carvalho WB, Garcia PC. Progress and perspectives in pediatric acute respiratory distress syndrome. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2015;27(3):266-73.
- Casado-Flores J, Martínez de Azagra A, Ruiz-López MJ, Ruiz M, Serrano A. Pediatric ARDS: effect of supine-prone postural changes on oxygenation. *Intensive Care Med*. 2002;28(12):1792-6.
- Dahlem P, van Aalderen WM, Bos AP. Pediatric acute lung injury. *Paediatr Respir Rev*. 2007;8(4):348-62.
- Gattinoni L, Pesenti A, Bombino M, Baglioni S, Rivolta M, Rossi F, et al. Relationships between lung computed tomographic density, gas exchange, and PEEP in acute respiratory failure. *Anesthesiology*. 1988;69(6):824-32.
- Richard JC, Janier M, Lavenne F, Berthier V, Lebars D, Annat G, et al. Effect of position, nitric oxide, and almitrine on lung perfusion in a porcine model of acute lung injury. *J Appl Physiol*. 2002;93(6):2181-91.
- Cakar N, der Kloot TV, Youngblood M, Adams A, Nahum A. Oxygenation response to a recruitment maneuver during supine and prone positions in an oleic acid-induced lung injury model. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161(6):1949-56.
- Pelosi P, Tubiolo D, Mascheroni D, Vicardi P, Crotti S, Valenza F, et al. Effects of the prone position on respiratory mechanics and gas exchange during acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157(2):387-93.
- Guerin C, Badet M, Rosselli S, Heyer L, Sab JM, Langevin B, et al. Effects of prone position on alveolar recruitment and oxygenation in acute lung injury. *Intensive Care Med*. 1999;25(11):1222-30.
- Albert RK, Hubmayr RD. The prone position eliminates compression of the lungs by the heart. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161(5):1660-5.
- Guérin C, Reigner J, Richard JC, Beuret P, Gacouin A, Boulain T, Mercier E, Badet M, Mercat A, Baudin O, Clavel M, Chatellier D, Jaber S, Rosselli S, Mancebo J, Sirodot M, Hilbert G, Bengler C, Richecoeur J, Gannier M, Bayle F, Bourdin G, Leray V, Girard R, Baboi L, Ayzac L; PROSEVA Study Group. Prone positioning in severe acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2013;368(23):2159-68.
- Ronchi CF, dos Anjos Ferreira AL, Campos FJ, Kurokawa CS, Carpi MF, de Moraes MA, et al. High-frequency oscillatory ventilation attenuates oxidative lung injury in a rabbit model of acute lung injury. *Exp Biol Med* (Maywood). 2011;236(10):1188-96.
- Fioretto JR, Campos FJ, Ronchi CF, Ferreira AL, Kurokawa CS, Carpi MF, et al. Effects of inhaled nitric oxide on oxidative stress and histopathological and inflammatory lung injury in a saline-lavaged rabbit model of acute lung injury. *Respir Care*. 2012;57(2):273-81.
- Imai Y, Nakagawa S, Ito Y, Kawano T, Slutsky AS, Miyasaka K. Comparison of lung protection strategies using conventional and high-frequency oscillatory ventilation. *J Appl Physiol*. 2001;91(4):1836-44.
- Meyer J, Cox PN, Mckerlie C, Bienzle D. Protective strategies of high-frequency oscillatory ventilation in a rabbit model. *Pediatr Res*. 2006;60(4):401-6.
- Lachmann B, Robertson B, Vogel J. In vivo lung lavage as an experimental model of the respiratory distress syndrome. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1980;24(3):231-6.
- Rotta AT, Gunnarsson B, Fuhrman BP, Hernan LJ, Steinhorn DM. Comparison of lung protective ventilation strategies in a rabbit model of acute lung injury. *Crit Care Med*. 2001;29(11):2176-84.
- Mrozek JD, Smith KM, Bing DR, Meyers PA, Simonton SC, Connert JE, et al. Exogenous surfactant and partial liquid ventilation: physiologic and pathologic effects. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;156(4 Pt 1):1058-65.
- Rotta AT, Gunnarsson B, Hernan LJ, Fuhrman BP, Steinhorn DM. Partial liquid ventilation influences pulmonary histopathology in an animal model of acute lung injury. *J Crit Care*. 1999;14(2):84-92.



23. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol.* 1990;186:407-21.
24. Aldini G, Yeum KJ, Russell RM, Krinsky NI. A method to measure the oxidizability of both the aqueous and lipid compartments of plasma. *Free Radic Biol Med.* 2001;31(9):1043-50.
25. Beretta G, Aldini G, Facino RM, Russell RM, Krinsky NI, Yeum KJ. Total antioxidant performance: a validated fluorescence assay for the measurement of plasma oxidizability. *Anal Biochem.* 2006;354(2):290-8.
26. Lamb NJ, Gutteridge JM, Baker C, Evans TW, Quinlan GJ. Oxidative damage to proteins of bronchoalveolar lavage fluid in patients with acute respiratory distress syndrome: evidence for neutrophil-mediated hydroxylation, nitration, and chlorination. *Crit Care Med.* 1999;27(9):1738-44.
27. Derdak S, Mehta S, Stewart TE, Smith T, Rogers M, Buchman TG, Carlin B, Lowson S, Granton J; Multicenter Oscillatory Ventilation For Acute Respiratory Distress Syndrome Trial (MOAT) Study Investigators. High-frequency oscillatory ventilation for acute respiratory distress syndrome in adults: a randomized, controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166(6):801-8.
28. Papazian L, Gannier M, Marin V, Donati S, Arnal JM, Demory D, et al. Comparison of prone positioning and high-frequency oscillatory ventilation in patients with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 2005;33(10):2162-71.
29. Demory D, Michelet P, Arnal JM, Donati S, Forel JM, Gannier M, et al. High-frequency oscillatory ventilation following prone positioning prevents a further impairment in oxygenation. *Crit Care Med.* 2007;35(1):106-11.
30. Mazullo Filho JB, Bona S, Rosa DP, Silva FG, Forgiarini Junior LA, Dias AS, et al. The effects of mechanical ventilation on oxidative stress. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2012;24(1):23-9.
31. Muellenbach RM, Kredel M, Said HM, Klosterhalfen B, Zollhoefer B, Wunder C, et al. High-frequency oscillatory ventilation reduces lung inflammation: a large-animal 24-h model of respiratory distress. *Intensive Care Med.* 2007;33(8):1423-33.