

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

L.G. Ayala¹, M. B. Abreu¹, A.C.J. Neto¹, B.C. Bergamini¹, M.B. Ávila², W.A. Zin², A Giannella-Neto¹ e A.R.S. Carvalho¹⁻²

1. Programa de Engenharia Biomédica/COPPE, UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil.
2. Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil.

e-mail: lilianaguerrero@ufrj.br

Resumo: O uso de modos ventilatórios espontâneos vem se tornando cada vez mais comum em pacientes com síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA). Contudo, na fase aguda, o uso de bloqueadores neuromusculares (BNM) parece reduzir a mortalidade. O objetivo de nosso trabalho foi avaliar impacto do modo de ventilação assisto/controlado (AC) sobre o trabalho da ventilação, oxigenação e resposta inflamatória em ratos com SDRA moderada em diferentes planos anestésicos com e sem BNM. Houve um aumento significativo do trabalho da ventilação ($p < 0.001$), melhor oxigenação, menor concentração de IL-6 e maior de IL-10 nos animais com anestesia superficial e sem BNM quando comparados com o grupo com anestesia profunda e em uso de BNM. A ventilação em modo AC com anestesia superficial e ausência de BNM parece melhorar a oxigenação arterial minimizando o quadro inflamatório agudo neste modelo experimental de SDRA em ratos.

Palavras-chave: Síndrome de Angústia Respiratória Aguda, Bloqueador Neuromuscular, Pressão Esofágica.

Abstract: The use of spontaneous ventilation modes is becoming increasingly common in patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS). However, in the acute phase, the use of neuromuscular blockers (NMB) appears to reduce mortality. The aim of our study was to evaluate the impact of assist/control mode of ventilation (AC) on the work of ventilation, oxygenation, and inflammatory response in rats with moderate ARDS in different anesthetic plans with and without NMB. There was a significant increase in the work of ventilation ($p < 0.001$), improved oxygenation, lower concentration of IL-6 and IL-10 increased in animals with superficial anesthesia without NMB compared to the group with deep anesthesia and use of NMB. Ventilation in AC mode with superficial anesthesia and NMB appears to improve blood oxygenation by minimizing the acute inflammation in this experimental model of ARDS in rats.

Keywords: Acute Respiratory Distress Syndrome, Neuromuscular Blockers, Esophageal Pressure.

Introdução

A SDRA é uma condição caracterizada por comprometimento severo da oxigenação e muitas têm sido as estratégias ventilatórias desenvolvidas para seu suporte. Em casos em que é difícil “sincronizar o paciente ao ventilador” o uso de BNM surgiu como ferramenta de tratamento. No entanto, seu uso em pacientes críticos têm sido associado a polineuropatia e alterações da musculatura geral [1]. O controverso estudo publicado por PAPAZZIAN *et al.* (2010) [2] mostrou que o uso de cisatracúrio em pacientes com SDRA melhorou a oxigenação e diminuiu o número de dias em VM sem apresentar diferença significativa nos casos de debilidade muscular. No obstante, até hoje, não existe consenso enquanto ao uso de BNM em UTI [3]. Uma técnica para estimar o trabalho ventilatório é a medição da pressão esofágica (Pesof). Esta última é um reflexo da pressão pleural e permite determinar se existe contração ativa do diafragma. O objetivo de nosso trabalho foi avaliar impacto do modo de ventilação assisto/controlado (AC) sobre o trabalho da ventilação, oxigenação e resposta inflamatória em ratos com SDRA moderada em diferentes planos anestésicos com e sem BNM.

Materiais e métodos

Animais e preparação– Trabalho aprovado pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais do Centro de Ciências da Saúde da UFRJ (IBCCF 198). Foram estudados 46 ratos Wistar machos, peso 300-400g, divididos em 6 grupos: 1) LOW (sedação baixa sem BNM); 2) HIGH (sedação alta com BNM); 3) LOW ATR (sedação baixa com BNM); 4) HIGH ATR (sedação alta com BNM) e 5) CONTROLE. Os animais foram anestesiados com isoflurano balanceado em O₂ (50%) e ar medicinal. A dose ajustada foi 1,4 e 2,8% para o grupo com sedação baixa e alta, respectivamente. Adicionalmente, os ratos com sedação baixa e alta receberam midazolam a dose 0,5 e 2,5 mg/kg/h, respectivamente. O bloqueio neuromuscular foi dado por bensilato de atracúrio a dose de 10 mg/kg/h.

Protocolo Experimental– Logo da indução de anestesia os ratos foram intubados e conectados ao ventilador Inspira ASV (Harvard Apparatus, USA),

parâmetros de base (modo VCV, VT: 8 ml/Kg, FR: 70 rpm, PEEP: 3 cmH₂O [gerada por coluna d'água], FiO₂: 50%, I:E: 1:2) por um período de estabilização de 15'. Neste período o cateter esofágico era posicionado. Passado o período de estabilização, induzia-se a lesão pulmonar seguindo o modelo de DIXON *et al.* (2009) [4]. Depois de 5' se realizava uma manobra de recrutamento alveolar (MRA) e iniciava o período de VM de 2 horas com parâmetros de base.

Modelo de lesão– A lesão pulmonar foi induzida com a instilação, através do tubo traqueal, de 15 mg/kg de LPS de *Escherichia coli* 0111:B4 (Sigma-Aldrich®), diluídos em SSN e administrados em 3 volumes separados de 0,1 ml. Após a injeção de LPS se injetavam 3 ml de bolo de ar e se realizava uma manobra de lesão pulmonar induzida pelo ventilador durante 15" (VT:2.5*VT, FR: 32 rpm, PEEP: 10 cmH₂O, FiO₂: 50%, I:E: 1:2). Um período de estabilização de 5' precedia a instilação da seguinte dose de LPS [3].

Gasometria arterial e Pressão Arterial– Ao finalizar as 2 horas de VM a carótida foi canulada e uma amostra de sangue arterial foi coletada e processada usando o *i-STAT Portable Clinical Analyzer*. Após gasometria, sinais de pressão arterial (PA) foram adquiridos durante 15'. Animais com PAM<60mmHg foram eliminados do estudo. No fim do protocolo os animais foram sacrificados e se realizou excisão do pulmão.

Análise bioquímica– As concentrações das citocinas IL-6 e IL-10 foram analisadas no pulmão com o teste de imuno-absorbância ligado a enzima (ELISA) usando placas Ref. 3590 (COSTAR®, USA).

Coleta e processamento dos sinais - Pressão de via aérea (Pboca) e fluxo foram medidos durante as 2 de VM usando um pneumotacógrafo (*HeaterControl-SN* 843-372-HANS RUDOLPH INC.) conectado a um transdutor (UT-PDP-75, SCIREQ®) e a um transdutor de pressão diferencial (UT-PDP-02, SCIREQ®). A Pesof foi medida com um cateter de polietileno conectado a um transdutor (UT-PL-100, SCIREQ®, USA) e a PA usando um transdutor (UT-PL-400, SCIREQ®, USA) conectado ao cateter inserido na carótida. Estes sinais foram filtrados, amplificados, convertidos digitalmente com uma frequência de amostragem de 200 Hz e salvos usando o “*Data Acquisition System*” (DAS) [5] que opera em LabVIEW versão 8.2 (*National Instruments*, USA). Todos os sinais foram importados e processados pelo programa “*Mecânica*” [6] desenvolvido em ambiente MATLAB® versão 2009ª (*Mathworks*®, USA).

Estimativa do trabalho ventilatório a partir do Sinal de Pesof - Foi realizado usando MATLAB versão 2009a (*Mathworks*®, USA). Calculou-se a densidade de potência espectral através do espectrograma (*Hamming* 400, *Overlap*50%) e uma análise visual mostrou maior concentração de energia na banda de 0 – 8 Hz. Nesta banda, se calculou a integral numérica da densidade de potência espectral e esta representou uma estimativa da energia do sinal de Pesof e, portanto, do trabalho ventilatório.

Análise estatística - As variáveis numéricas são apresentadas como média $\pm$ desvio padrão. O teste de *One-Way ANOVA* foi usado para comparar as médias por grupos das variáveis ventilatórias e da energia do sinal de Pesof. Para a análise *Post-hoc* foi usado o teste de Tukey. *Nested ANOVA* foi usado fixando a variável “Bloqueio neuromuscular” para comparar as médias das variáveis da gasometria arterial e das citocinas pro e anti-inflamatórias. A correlação de Pearson foi testada entre as citocinas e a energia do sinal de Pesof.

Resultados

Quatro ratos foram eliminados por hipotensão e 6 por óbito. Os ratos eliminados foram substituídos para completar seis ratos estudados por grupo. A Tab.1 apresenta a média das principais variáveis ventilatórias calculadas durante as 2 horas de VM. A pressão pico e média foi menor no grupo LOW em comparação com os outros grupos ($P<0,05$). A PEEP foi maior no grupo LOW em comparação com os grupos LOW ATR e HIGH ATR por erro no ajuste da coluna d'água ($P<0,05$).

Tabela 1. Variáveis ventilatórias por grupos

Grupo	Ppico (cmH ₂ O)	Pmedia (cmH ₂ O)	PEEP (cmH ₂ O)
LOW	12,55 $\pm$ (0,80)†	5,63 $\pm$ (0,46)†	3,49 $\pm$ (0,47)††
HIGH	15,02 $\pm$ (0,47)	6,39 $\pm$ (0,36)	2,95 $\pm$ (0,25)
LOW ATR	15,76 $\pm$ (0,98)	6,36 $\pm$ (0,31)	2,71 $\pm$ (0,23)
HIGH ATR	15,43 $\pm$ (0,61)	6,32 $\pm$ (0,28)	2,75 $\pm$ (0,22)

† $p<0,05$ em relação aos outros grupos. †† $P<0,05$ em relação aos grupos LOW ATR e HIGH ATR. LOW: grupo LOW; HIGH: grupo HIGH; LOW ATR: Grupo LOW ATR; HIGH ATR: grupo HIGH ATR; Ppico: Pressão pico de via aérea; Pmedia: Pressão média de via aérea; PEEP: pressão positiva ao final da expiração.

A Fig. 1 mostra um sinal característico da Pesof de cada grupo. A média da energia do sinal de Pesof calculada durante as 2 horas de VM foi maior no grupo LOW em comparação com os grupos HIGH, LOW ATR e HIGH ATR ($565 \pm 152\text{cmH}^2\text{O}^2$ versus $199 \pm 74\text{cmH}^2\text{O}^2$, $136 \pm 66\text{cmH}^2\text{O}^2$ e $169 \pm 48\text{cmH}^2\text{O}^2$) ($P=0,004$).

Os 4 grupos tratados: LOW, HIGH, LOW ATR e HIGH ATR, apresentaram concentrações de IL-6 no pulmão significativamente maiores em comparação com o controle ($77\text{e}3 \pm 17\text{e}3$, $153\text{e}3 \pm 26\text{e}3$, $146\text{e}3 \pm 11\text{e}3$ e $146\text{e}3 \pm 28\text{e}3$ versus $0,9\text{e}3 \pm 0,7\text{e}3$ pg/μg, respectivamente). ($P<0,001$). No entanto, a IL-6 foi menor no grupo LOW em comparação HIGH, LOW ATR e HIGH ATR ($p<0,001$). Ao aninhar fixando a variável BNM, encontrou-se maiores de IL-6 nos grupos bloqueados ($P=0,04$). Uma correlação negativa foi encontrada entre os valores de IL-6 com a energia do sinal de Pesof ($r^2= 0,34$; $r = -0,59$; $P=0,002$). Fig. 2.

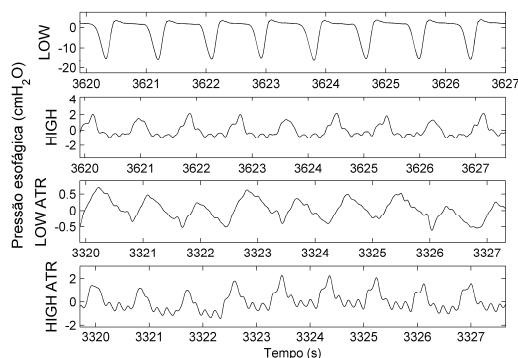


Figura 1: Sinal característico do sinal de pressão esofágica de um rato de cada grupo. LOW: grupo LOW; HIGH: grupo HIGH; LOW ATR: Grupo LOW ATR; HIGH ATR: grupo HIGH ATR.

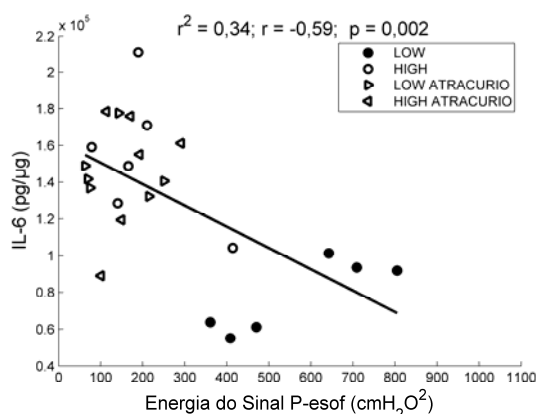


Figura 2. Correlação linear entre IL-6 e energia Pesof

As concentrações de IL-10 nos grupos HIGH, LOW ATR, HIGH ATR e Controle apresentam valores significativamente menores em comparação com o grupo LOW (683 ± 484 , 230 ± 72 , 294 ± 139 e 682 ± 500 versus 1459 ± 627 pg/μg, respectivamente) ($p=0,002$). Uma análise aninhada mostrou diferença estatística nos níveis de IL-10 entre os grupos em que foi e não foi administrado o relaxante neuromuscular ($P=0,0002$). Uma correlação positiva foi encontrada entre a IL-10 e a energia do sinal de Pesof ($r^2=0,36$; $r=0,60$; $p=0,002$). Ver Fig. 3.

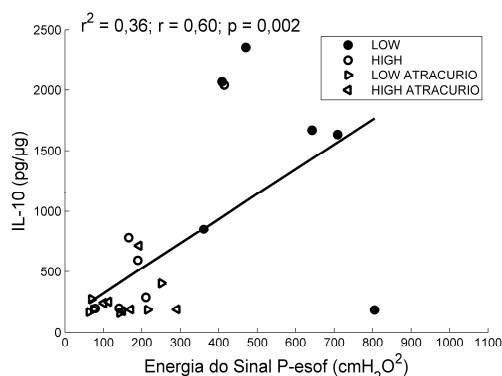


Figura 3. Correlação linear entre IL-10 e energia Pesof.

Os valores do índice PaO_2/FiO_2 foram maiores no grupo LOW em comparação com os grupos LOW ATR e HIGH ATR ($P<0,05$). O pH não apresentou diferença estatística significativa entre os grupos ($P=0,4$) (Fig. 5). Os valores de $PaCO_2$ e HCO_3 foram maiores no grupo LOW em comparação com o grupo HIGH ATR ($p<0,05$).

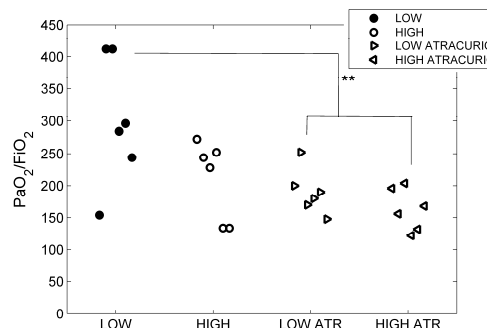


Figura 4. Índice PaO_2/FiO_2 por grupos. ** $p<0,05$ do grupo LOW com grupos LOW ATR e HIGH ATR.

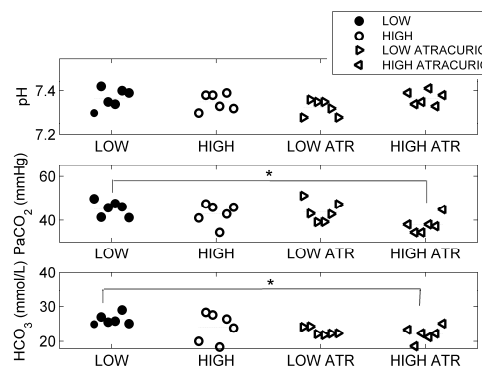


Figura 5. Valores de $PaCO_2$, HCO_3 e pH por grupos. * $p<0,05$ do grupo LOW com grupo HIGH ATR.

Discussão

Estes resultados concordam com estudos prévios que encontraram melhor oxigenação, ao manter respiração espontânea durante a VM da SDRA [7,8]. Nossos dados mostraram menor pressão de pico e média com maiores índices de oxigenação no grupo com baixa sedação e contração ativa do diafragma, o que evidencia maior recrutamento alveolar. Isto pode ser explicado pelo fato de que esforços espontâneos promovem maior deslocamento do diafragma nas áreas dependentes, mal aeradas (mas bem perfundidas), melhorando a relação ventilação/perfusão [9]. Adicionalmente, a melhor distribuição do fluxo sanguíneo pulmonar demonstrada durante a respiração espontânea pode ter contribuído também com estes resultados [10]. Por outro lado, estudos em humanos confirmam os efeitos positivos em quanto à oxigenação, mecânica ventilatória e menos dias de internação na UTI, ao permitir respirações espontâneas durante a VM [11,12]. No entanto, estes resultados são válidos só para a fase aguda da SDRA

leve-moderada. Casos de SDRA severo com grande dificuldade respiratória, provavelmente não poderão ser mantidos com esta estratégia, pelo risco de aumentar ainda mais a demanda de oxigênio. Neles deve ser avaliada a necessidade de alta dose de sedação. Adicionalmente, permanece a critério do clínico a pertinência do uso de BNM, levando em conta as vantagens de manter na maior proporção possível a contração do diafragma [13]. Por outro lado, considerando o modelo aninhado dos dados, os grupos mantidos só com sedação e sem BNM tiveram melhores resultados. Isto nos faz pensar que mesmo em pacientes em que o esforço respiratório é alto, mantê-los com a dose de sedação necessária para o acoplamento ventilatório traz maiores vantagens que usar BNM. Outros resultados interessantes são as menores quantidades de IL-6 com aumento da IL-10 no pulmão dos ratos do grupo LOW. Resultados similares foram reportados em um estudo publicado previamente [14]. Estes resultados podem ser explicados pela melhor distribuição de ar no pulmão dos ratos com respiração espontânea, já que a hiperinflação regional (que pode ter ocorrido nos grupos não recrutados) gera mais lesão pulmonar [15]. Todavia, estes dados devem ser analisados com precaução, e estudos adicionais devem ser realizados avaliando a resposta inflamatória e mecânica ventilatória depois de 24-48 horas da lesão pulmonar e da ventilação mecânica com respiração espontânea.

Uma limitação do nosso estudo foi a maior PEEP calculada no grupo LOW, que foi 16% superior ao considerado como programado. Foi esta PEEP responsável pelos melhores resultados? Os dados reportados na literatura mostram que os valores de PEEP necessários para produzir melhoras significativas na mecânica pulmonar e na oxigenação (tanto em modelos animais quanto em humanos com SDRA) são bastante superiores aos valores programados na VM convencional (pelo menos 50% superiores) [16,17]. Por conseguinte, seriam necessários valores maiores para recrutar o pulmão. Consideramos que este fator contribuiu em uma proporção muito baixa com o maior recrutamento e que foi a contração ativa do diafragma que promoveu os melhores resultados.

Conclusão

Manter baixa sedação durante a ventilação mecânica mesmo em modo A/C permite um maior trabalho do diafragma. Adicionalmente, permitir respiração espontânea na SDRA leve-moderada e durante a fase aguda apresenta melhores resultados em termos de oxigenação e menor resposta inflamatória.

Agradecimentos

Agradecemos à CAPES, CNPq e FAPERJ pelo apoio financeiro.

Referências

- [1] HRAIECH S, FOREL JM, PAPAIZIAN L. The role of neuromuscular blockers in ARDS: benefits and risks. *Current opinion in critical care*. 2012; 18(5):495–502.
- [2] PAPAIZIAN L. Neuromuscular Blockers in Early Acute Respiratory Distress Syndrome. *New England Journal of Medicine*. 2010; 363(12):1107–1116.
- [3] ALHAZZANI W. Neuromuscular blocking agents in acute respiratory distress syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Critical Care*. 2013; 17(2):R43.
- [4] DIXON DL, DE SMET HR, BERSTEN AD. Lung mechanics are both dose and tidal volume dependent in LPS-induced lung injury. *Respiratory physiology & neurobiology*. 2009; 167(3):333–340.
- [5] PINO AV, KAGAMI LT, JANDRE FC, GIANNELLA-NETO A. “Um programa de aquisição e processamento de sinais para engenharia pulmonar”. IFMBE Proceedings. 2004; 5(1):765–768.
- [6] PINO AV, COSTA JCGD, JANDRE FC. “Mecânica – Um programa para análise do Sistema Respiratório”. XVIII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica. CD-ROM; 2002 São José dos Campos, São Paulo, Brasil.
- [7] WRIGGE H. Spontaneous breathing improves lung aeration in oleic acid-induced lung injury. *Anesthesiology*. 2003; 99(2):376–384.
- [8] NEUMANN P. Spontaneous breathing affects the spatial ventilation and perfusion distribution during mechanical ventilator support. *Critical Care Medicine*. 2005; 33:1090–1095.
- [9] FROESE AB; BRYAN AC. Effects of anesthesia and paralysis on diaphragmatic mechanics in man. *Anesthesiology*. 1974; 41(3):242–255.
- [10] CARVALHO AR. Pressure support ventilation and biphasic positive airway pressure improve oxygenation by redistribution of pulmonary blood flow. *Anesthesia and Analgesia*. 2009; 109(3):856–865.
- [11] SYDOW M. Long-term effects of two different ventilatory modes on oxygenation in acute lung injury. Comparison of airway pressure release ventilation and volume-controlled inverse ratio ventilation. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1994; 149(6):1550–1556.
- [12] PUTENSEN C. Long-Term Effects of Spontaneous Breathing During Ventilatory Support in Patients with Acute Lung Injury. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2001; 164(1):43–49.
- [13] SASSOON CSH, ZHU E, CAIOZZO VJ. Assist-Control Mechanical Ventilation Attenuates Ventilator-induced Diaphragmatic Dysfunction. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2004; 170(6).
- [14] SADDY, F. *et al.* Assisted ventilation modes reduce the expression of lung inflammatory and fibrogenic mediators in a model of mild acute lung injury. *Intensive Care Medicine*, v. 36, n. 8, p. 1417–1426, ago. 2010
- [15] SLUTSKY AS; RANIERI VM. Ventilator-Induced Lung Injury. *New England Journal of Medicine*. 2013; 369(22):2126–2136.
- [16] KO SC. Effects of PEEP levels following repeated recruitment maneuvers on ventilator-induced lung injury. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 2008; 52:514–521.
- [17] BRIEL M. Higher vs lower positive end-expiratory pressure in patients with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: Systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2010; 303(9):865–873.