

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**FACULDADE DE MEDICINA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PNEUMÓLOGICAS**

**AVALIAÇÃO DE DOIS DIFERENTES NIVEIS DE PEEP NO  
DESEMPENHO PÓS-OPERATÓRIO DOS ENXERTOS  
PULMONARES EM MODELO SUÍNO DE TRANSPLANTE  
PULMONAR UNILATERAL ESQUERDO**

**GABRIEL RIBEIRO MÄDKE**

*Tese de Doutorado do Programa de Pós-graduação em  
Ciências Pneumológicas, da Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul*

*Orientador: Prof. Dr. Cristiano Feijó Andrade  
Co-orientados(a): Prof. Dra. Elaine Aparecida Felix*

**Porto Alegre**

**2011**

## **DEDICATÓRIA**

---

Dedico este trabalho;

Aos meus pais Henrique Octávio Mädke e Neiva Ribeiro Mädke pois dedicaram as suas vidas em função da formação pessoal e profissional de seus filhos sem restrições e abdicando muitas vezes de seus próprios lazeres.

## **AGRADECIMENTOS**

---

Ao meu orientador Cristiano Feijó Andrade pelo tempo a mim dispensado na orientação desta tese.

Agradeço à minha co-orientadora Elaine Aparecida Felix pelo apoio incansável em todas as etapas do meu trabalho, indispensável para que o mesmo pudesse ter sido finalizado.

Agradeço ao meu grande amigo e companheiro Eduardo Pilla que me ajudou em fases difíceis do projeto, sempre me apoiando sem restrições.

Ao amigo Norberto Martins pela ajuda prestada na análise estatística do projeto.

Ao Dr. Paulo Francisco Guerreiro Cardoso por ter sido o principal responsável pelo meu sucesso profissional desde minha vida acadêmica, passando pela residência médica e pós-graduação.

Agradeço ao amigo Pablo Sanchez por ter sido um grande amigo e motivador na minha vida profissional, sempre com bons conselhos em meus projetos de mestrado e doutorado.

À enfermeira Marta e à médica veterinária Fabíola pelo apoio constante na execução prática do projeto.

Aos acadêmicos de medicina Raoni Bins Pereira, Arthur Holand, Rodrigo Mariano e Artur de Oliveira Paludo, e aos médicos Gustavo Grün e Eduardo Fontena, pela ajuda na fase prática do projeto.

Ao amigo Thiago Machuca pela amizade e ajuda em todos os experimentos.

Ao CNPq pelo incentivo financeiro ao trabalho fornecido através do Edital Universal.

Ao amigo Luiz Alberto Forgiarini Junior pela ajuda na finalização desta tese.

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

### Português

**AP** - Artéria pulmonar

**CRF** – Capacidade residual funcional

**C<sub>st</sub>** - Complacência estática pulmonar (ml.cm<sup>-1</sup>H<sub>2</sub>O)

**FiO<sub>2</sub>** - Fração inspirada de oxigênio

**fR** – Frequência respiratória

**HR** – Heart rate

**IL-1** – Interleucina 1

**IL-6** – Interleucina 2

**IL-8** – Interleucina 8

**IL-1β** - Interleucina 1β

**I/R** - Isquemia e reperfusão

**LPIVM** – Lesão pulmonar induzida pela ventilação mecânica

**LPA** – Lesão pulmonar aguda

**LBA** – Lavado bronco-alveolar

**PAM** - Pressão arterial média

**PAP** – Pressão da artéria pulmonar

**PII** - Ponto de inflexão inferior

**PIS** – Ponto de inversão superior

**PaCO<sub>2</sub>** - Pressão parcial de monóxido de carbono

**PaO<sub>2</sub>** - Pressão parcial de oxigênio

**PCV** – Ventilação controlada a pressão

**VCP** - Ventilação controlada a volume

**PFC** - Perfluorocarbono

**PEEP** - Pressão positiva expiratória final

**Pmédia** - Pressão média das vias aéreas

**P<sub>platô</sub>** - Pressão de platô

**P<sub>pico</sub>** - Pressão de pico das vias aéreas

**Relação I:E** – Relação inspiração – expiração

**R<sub>est</sub>** – Resistência das vias aéreas

**SDRA** – Síndrome da distrição respiratória do adulto

**SaO<sub>2</sub>** - Saturação da hemoglobina no sangue arterial (%)

**SOD** - Superoxido dismutase

**TBARS** – Substância reativa ao ácido tiobarbitúrico

**TNF** – Tumoral necrose factor

**VC** – Volume corrente

**VCV** – Ventilação controlada a volume

**VAC Exp** - Volume corrente expiratório

**VLP** – Ventilação Líquida Parcial

**Inglês**

**ADRS** – Acute distress respiratory syndrome

**CAT** - Catalase

**CF** – Cardiac frequency

**C<sub>st</sub>** – Static compliance

**GLM** - General linear models

**IL-8** - interleukin 8

**IR** - Ischemia-reperfusion

**I:E** - inspiratory:expiratory

**MAP** – Mean artery pressure

**PaCO<sub>2</sub>** - Partial carbon dioxide arterial pressure

**PaO<sub>2</sub>** - Partial oxygen arterial pressure

**PAP** - Pulmonary artery pressure

**PEEP** - Positive end expiratory pressure

**PGD** - Primary graft dysfunction

**P<sub>plat</sub>** – Plateau airway pressure

**P<sub>peak</sub>** – Peak airway pressure

**P<sub>(aw)</sub>** – Mean airway pressure

**R<sub>est</sub>** – Airway resistance

**RM** - Recruitment maneuvers

**SOD** - Superoxide dismutase

**TBARS** - Thiobarbituric acid reactive substances

**V<sub>t</sub>** – Tidal volume

**W:D** - Wet-to-dry weight

## RESUMO

---

**Objetivo:** Avaliar os efeitos do uso de dois diferentes níveis de pressão expiratória final positiva (PEEP) em porcos submetidos a transplante pulmonar unilateral através de troca gasosa [pressão parcial de oxigênio ( $\text{PaO}_2$ ) e pressão parcial de dióxido de carbono ( $\text{PaCO}_2$ )], hemodinâmica [frequência cardíaca (FC), pressão arterial média (PAM) e pressão da artéria pulmonar (PAP)], parâmetros ventilatórios [pressão média das vias aéreas ( $P_{\text{média}}$ ); complacência estática ( $C_{\text{st}}$ ) e resistência das vias aéreas ( $R_{\text{est}}$ )], resposta inflamatória [interleuina 8 (IL-8)] e estresse oxidativo [substância reativa ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) and superóxido dismutase (SOD)]. **Material e Métodos:** Doze porcos pesando aproximadamente 30kg foram submetidos a transplante pulmonar esquerdo. Os animais foram randomizados em dois grupos de diferentes valores de PEEP: Grupo 1 (PEEP=5cmH<sub>2</sub>O) e Grupo 2 (PEEP=10cmH<sub>2</sub>O). Dados hemodinâmicos, troca gasosa e mecânica respiratória foram medidos em diferentes tempos após o transplante durante 210 minutos. Foi realizada análise histológica, de IL-8 e estresse oxidativo no tecido pulmonar. **Resultados:** O grupo 2 apresentou aumento significativo da FC ( $p=0,006$ ) e  $C_{\text{st}}$  ( $p=0.001$ ), diminuição da PAM ( $p=0.003$ ) e  $R_{\text{est}}$  ( $p=0.001$ ). Não houve diferença entre os grupos na concentração de TBARS, SOD e IL-8. Contudo, após o período de observação, o grupo 2 mostrou um aumento da concentração de TBARS ( $p=0,001$ ) e IL-8 ( $p=0,05$ ) e o grupo 1 um aumento da SOD ( $p=0,05$ ) comparado com os valores iniciais. **Conclusão:** O uso de altos níveis de PEEP, após o transplante pulmonar unilateral, não resultou em melhora da troca gasosa. Embora apresentasse uma melhora da mecânica respiratória, a PEEP de 10 cmH<sub>2</sub>O teve impacto negativo nos parâmetros hemodinâmicos, e provocou um aumento da resposta inflamatória e estresse oxidativo.

**Palavras-chave:** Transplante pulmonar, ventilação mecânica, pressão positiva expiratória final, porcos.

**ABSTRACT**

---

**Objective:** Evaluate the effects of two different levels of positive end expiratory pressure (PEEP) on pigs submitted to unilateral lung transplantation through blood gas exchange [partial oxygen arterial pressure ( $\text{PaO}_2$ ) and partial carbon dioxide arterial pressure ( $\text{PaCO}_2$ )], hemodynamics [heart rate (HR), mean arterial pressure (MAP) and pulmonary arterial pressure (PAP)], ventilatory parameters [mean airway pressure ( $P_{\text{aw}}$ ); static compliance ( $C_{\text{st}}$ ) and airway resistance ( $R_{\text{est}}$ )], inflammatory response [interleukin 8 (IL-8)] and oxidative stress [thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and superoxide dismutase (SOD)]. **Material and Methods:** Twelve pigs were submitted to left lung transplantation. The animals were randomized into two groups of different PEEP levels: Group 1 (PEEP = 5cmH<sub>2</sub>O) and Group 2 (PEEP = 10cmH<sub>2</sub>O). Hemodynamics, gas exchange and respiratory mechanics were measured prior and after surgery for 210 minutes. Cytokines, oxidative stress and histological score were assessed in lung tissue. **Results:** Group 2 had significantly higher HR ( $p=0.006$ ),  $C_{\text{st}}$  ( $p=0.001$ ) and lower MAP ( $p=0.003$ ) and  $R_{\text{est}}$  ( $p=0.001$ ). There were no differences between both groups in TBARS, SOD and IL-8, concentration after transplant. However, at the end of the observation period, group 2 showed higher TBARS ( $p=0.001$ ) and IL-8 ( $p=0.05$ ) concentration and group 1 presented higher SOD ( $p=0.05$ ) when compared to baseline. **Conclusion:** After unilateral lung transplantation, higher PEEP levels had no effect on gas exchange. Although, 10 cmH<sub>2</sub>O PEEP improved respiratory mechanics, it had a negative impact on hemodynamics and stimulated a high inflammatory response and production of reactive oxygen species.

**Keywords:** lung transplantation, mechanical ventilation, positive end-expiratory pressure, pigs.

**SUMÁRIO**

---

<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	<b>IV</b>
<b>RESUMO</b>	<b>VIII</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>IX</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>4</b>
<b>2.1 TRANSPLANTE PULMONAR</b>	<b>4</b>
<b>2.2 LESÃO DE ISQUEMIA E REPERFUSÃO APÓS O TRANSPLANTE PULMONAR</b>	<b>8</b>
<b>2.3 VENTILAÇÃO MECÂNICA</b>	<b>12</b>
<b>2.3.1 LESÃO PULMONAR INDUZIDA PELA VENTILAÇÃO MECÂNICA</b>	<b>12</b>
<b>2.3.2 RESPOSTA INFLAMATÓRIA ASSOCIADA A VENTILAÇÃO MECÂNICA</b>	<b>16</b>
<b>2.3.3 PRESSÃO POSITIVA EXPIRATÓRIA FINAL</b>	<b>19</b>
<b>2.2.4 RECRUTAMENTO ALVEOLAR</b>	<b>20</b>
<b>3. REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>25</b>
<b>4. JUSTIFICATIVA</b>	<b>36</b>
<b>5. OBJETIVOS</b>	<b>37</b>
<b>5.1 GERAL</b>	<b>37</b>
<b>5.2 ESPECÍFICOS</b>	<b>37</b>
<b>6. ARTIGO CIENTÍFICO</b>	<b>38</b>
<b>7. CONCLUSÕES</b>	<b>59</b>
<b>8. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>60</b>



## 1. INTRODUÇÃO

---

O transplante de pulmão é um procedimento complexo, que altera de forma significativa toda a função respiratória e a hemodinâmica, provocando graves alterações sistêmicas. O transplante pulmonar tem evoluído nas últimas duas décadas de um tratamento experimental para tornar-se a terapia de eleição para as doenças pulmonares em estágio final (1). Apesar dos sucessos com o transplante pulmonar, 15% a 25% dos pacientes evoluem com disfunção precoce do enxerto. Estes pacientes necessitam de suporte ventilatório prolongado e têm uma mortalidade pós-operatória entre 40% e 60%, a qual é dramaticamente maior do que naqueles pacientes que não apresentaram nenhuma complicação (2). Também têm sido sugerido que a gravidade da lesão por isquemia e reperfusão (I/R) após transplante pulmonar está associada com um risco aumentado de rejeição aguda e crônica, bem como a uma incidência aumentada de disfunção precoce do enxerto (3).

As complicações hiperagudas, agudas e crônicas do transplante pulmonar ainda desafiam todos os profissionais que atuam no peri-operatório de pacientes transplantados. Estatísticas de sobrevida variam de acordo com o centro de transplantes e com o tempo de acompanhamento, sendo que, no primeiro ano, situa-se em torno de 75%, no terceiro ano 58% e em cinco anos 44% (4). O maior obstáculo para a sobrevida a longo prazo permanece sendo a rejeição crônica, que pode levar ao comprometimento funcional do enxerto (5,6). Já a sobrevida a curto prazo depende da ocorrência de três eventos adversos que podem ocorrer nas primeiras horas ou dias, após a reperfusão do enxerto: lesão pulmonar induzida pela I/R; insuficiência aguda do enxerto e rejeição hiperaguda (7,8). A lesão de I/R é a principal causa de morbidade e mortalidade nas primeiras semanas após a

realização do transplante pulmonar (9). É caracterizada por um quadro de piora progressiva das trocas gasosas, redução da complacência pulmonar e infiltrado peri-hilar ou difuso ao radiograma de tórax, com padrão semelhante ao da Síndrome da Distrição Respiratória do Adulto (SDRA). O exame histológico mostra dano alveolar inespecífico e edema pulmonar (8). Em 15% dos casos, ocorre lesão pulmonar grave (2). Quanto maior for a gravidade da lesão de I/R, maior será a chance do paciente necessitar de altas frações inspiradas de oxigênio ( $FiO_2$ ), de suporte ventilatório mecânico prolongado, de terapia farmacológica e, em casos extremos, de membrana de oxigenação extra-corpórea (ECMO) (10,11,12). As disfunções pulmonares associadas com a lesão pulmonar aguda (LPA) e a lesão de I/R após transplante pulmonar possuem fatores clínicos e fisiopatológicos em comum. Esta semelhança permite inferir que alternativas terapêuticas eficazes em pacientes com SDRA podem ter aplicabilidade em pacientes submetidos a transplante de pulmão (13,14).

A progressiva melhora da sobrevida pós-transplante permanece encorajando pesquisadores a buscar novas estratégias de prevenção da lesão de I/R. A maioria dos novos estudos versa sobre a avaliação e seleção dos doadores, aperfeiçoamento das técnicas de preservação do enxerto, conhecimento dos mecanismos inflamatórios e imunológicos envolvidos na lesão de I/R, bem como avanços nas técnicas de imunossupressão. Não obstante, a experiência e a padronização das condutas adotadas pela equipe multiprofissional são também fatores preponderantes para o desenvolvimento e aplicabilidade clínica do transplante de pulmão na atualidade (7).

A totalidade dos pacientes submetidos ao transplante pulmonar necessitam de suporte ventilatório no pós-operatório (1).

Pouco se tem investigado em relação ao uso sistemático da ventilação mecânica com pressão positiva com diferentes valores da PEEP no pós-operatório imediato e sua potencial

influência na sobrevivência do paciente submetido ao transplante de pulmão (15). As tentativas de encontrar a melhor forma de ventilar tem por objetivo reduzir o barotrauma, o volumotrauma e, principalmente, o biotrauma, capazes de gerar repercussões sistêmicas que podem contribuir com a morbimortalidade dos pacientes críticos (16). Uma vez que a quase totalidade dos receptores de transplantes permanecem em ventilação mecânica no pós-operatório, por períodos variáveis, de acordo com o tipo de transplante, doença de base e a gravidade da lesão de I/R, o modo ventilatório eventualmente pode apresentar um papel importante na evolução clínica dos transplantados.

Baseados na hipótese de que o modo ventilatório isoladamente não interfere no desempenho do enxerto pulmonar, em modelo experimental de transplante pulmonar unilateral em animal de médio porte, mensurado pela manutenção de adequada troca gasosa e de mecânica, após a reperfusão do enxerto pulmonar (17), propõe-se no presente estudo avaliar e comparar os efeitos da ventilação mecânica controlada à pressão (PCV) com a aplicação de diferentes níveis de PEEP em modelo suíno de transplante pulmonar unilateral esquerdo.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

---

### 2.1 TRANSPLANTE PULMONAR

As primeiras tentativas experimentais de realização de transplante pulmonar isolado remontam os fins da década de quarenta, quando Demikhov em 1947 realizou os primeiros homoenxertos pulmonares em cães (18). Três anos depois, Metras publicou o primeiro relato da técnica de alotransplante pulmonar em cães. Muitos esforços se somaram para a consolidação dos princípios técnicos iniciais que nortearam os transplantes pulmonares, entretanto pouco era conhecido a respeito da fisiologia do enxerto e dos danos causados pela isquemia e reperfusão (19).

O primeiro transplante clínico foi realizado em 1963 por Hardy com sobrevida de 18 dias após o transplante (20). Nos vinte anos seguintes, foram realizadas 22 tentativas de transplante pulmonar clínico em diversos centros sem êxito, com exceção de um único caso relatado por Derom em um paciente portador de silicose que sobrevivera dez meses após um transplante pulmonar unilateral, sucumbindo em virtude de uma pneumonia (21).

As contribuições mais significativas para o desenvolvimento do transplante pulmonar clínico foram fornecidas pela divisão de cirurgia torácica da Universidade de Toronto, Canadá. Em 1978 o primeiro transplante pulmonar unilateral lá realizado em um paciente portador de um severo dano pulmonar causado por queimaduras na via aérea secundárias a inalação de fumaça também seria fadado ao insucesso. O paciente faleceu no 17º dia de pós-operatório devido à necrose e deiscência da anastomose brônquica (22).

Após um longo período de pesquisas, reavaliação dos critérios de seleção dos receptores e da técnica cirúrgica, o mesmo grupo de cirurgiões relatou em 1983 o primeiro transplante pulmonar unilateral realizado com sucesso em um paciente de 58 anos portador de fibrose pulmonar (23). O paciente recebeu alta hospitalar 6 semanas após o transplante e retornou à vida produtiva. Desde então, este tem sido considerado como o “marco zero” para o transplante pulmonar clínico realizado com sucesso. Todas as modificações técnicas, do manuseio clínico, seleção de doadores e receptores advieram desta experiência inicial, iniciando-se inúmeros experimentos relacionados com este tema.

A maioria dos estudos sobre como preservar o enxerto pulmonar dos efeitos da isquemia e reperfusão são experimentais ou modelos clínicos de transplante pulmonar com isquemia fria (24).

Modelos experimentais em animais de pequeno porte têm limitações e dificilmente são diretamente relevantes para aplicações clínicas. São geralmente realizados em ratos ou coelhos e são úteis como “screening” para novos métodos pois são econômicos e os experimentos podem ser realizados com um grande número de animais. Estudos em animais maiores são mais úteis em avaliar períodos de isquemia mais prolongados e são essenciais antes dos ensaios clínicos. O uso de modelos animais de médio porte permite um estudo pré-clínico extenso de intervenções direcionadas à redução da injúria de reperfusão antes da sua aplicação em pacientes (25). Os pulmões suínos são particularmente semelhantes ao humano, tendo 3 lobos pulmonares à direita, um lobo mediastinal e dois lobos pulmonares à esquerda. As dificuldades mais comumente encontradas em modelo de transplante pulmonar, são a irritabilidade miocárdica e a hipertermia maligna, facilmente controladas com o uso apropriado da técnica anestésica. Em 1993 Hammann et al. comprovaram a viabilidade do transplante pulmonar unilateral esquerdo em suínos com

uma série utilizando animais de 20kg, com uma mortalidade de 31,8% decorrente principalmente de hemorragia e edema pulmonar (26). Outro estudo justificou o uso do modelo suíno de transplante pulmonar pela similaridade da lesão de isquemia e reperfusão nestes animais em relação aos humanos (27). Com o objetivo de estudar aspectos relacionados com a lesão de isquemia e reperfusão, têm sido estabelecido modelos de lesão pulmonar aguda em transplante pulmonar experimental utilizando longos períodos de isquemia fria. Já foi demonstrado em um estudo prévio que o este período pode ser de até 24 horas em animais de médio porte como suínos (28).

Desde 1993, nosso grupo desenvolveu e aperfeiçoou o modelo experimental de transplante pulmonar unilateral em cães utilizando doadores após parada cardiocirculatória e tempo de isquemia normotérmica de 3 horas. Estudos prévios utilizando esse modelo experimental permitiu-nos avanços significativos na investigação, desde as técnicas de preservação do enxerto até a aplicação de ventilação líquida parcial (VLP), na busca de reduzir as seqüelas da lesão de I/R (29). Em estudo concluído em 1998, foi avaliada, durante 6 horas após o transplante de pulmão, a eficiência da perfusão pulmonar anterógrada versus a retrógrada na preservação pulmonar neste modelo experimental. Ficou demonstrada, por medidas de gases arteriais e dosagem de ATP intracelular, a melhor viabilidade pulmonar com o uso de perfusão retrógrada hipotérmica (30). Em 2000, novamente foi demonstrada a superioridade da via de perfusão retrógrada de solução preservadora através da administração pelo átrio esquerdo com drenagem pela artéria pulmonar em relação à perfusão tradicionalmente feita pelo átrio esquerdo (31). Este método tem como vantagem a perfusão da circulação brônquica, através das anastomoses naturais entre as circulações brônquica e pulmonar, minimizando os fenômenos de lesão de reperfusão através da lavagem e eliminação dos neutrófilos remanescentes na circulação

pulmonar. Os resultados deste estudo demonstraram que o desempenho pulmonar pós-reperfusão ainda sofria com os efeitos da intensa peroxidação lipídica e formação de radicais livres, sendo passíveis de melhora com outras medidas.

Em decorrência dessas experiências, além de substituir a solução de preservação do Euro-Collins<sup>®</sup> (Claris-Índia) para o Perfadex<sup>®</sup> (Pharmacia-Suécia), concentraram-se maiores atenções ao manejo hemodinâmico e respiratório peri-operatório. Considerou-se, a partir daí, a hipótese de que as condições consideradas ótimas de preservação e uma técnica mais eficiente de reperfusão não seriam suficientes para conter os mecanismos acima citados.

Em um trabalho subsequente, introduziu-se a VLP, utilizando perfluorocarbono (PFC) líquido administrado diretamente na via aérea, como uma nova alternativa na busca de minimizar a lesão pulmonar e melhorar a resposta respiratória nas trocas gasosas após a reperfusão do pulmão transplantado (32).

Fortis et al. utilizando pulmões de cães após parada cardio-circulatória, estudaram em um modelo semelhante de transplante pulmonar em cães dois tipos de ventilação mecânica no pós-operatório, controlada a volume (VCV) versus controlada a pressão (PCV), demonstrando que o modo ventilatório não influenciou no desempenho funcional dos enxertos pulmonares pós-transplante ao longo de 6 horas de avaliação (17).

## **2.2 LESÃO DE ISQUEMIA E REPERFUSÃO APÓS O TRANSPLANTE**

### **PULMONAR**

A lesão de isquemia e reperfusão (I/R) compreende uma série de fenômenos que decorrem da recirculação do sangue (reperfusão) em um órgão cuja circulação sanguínea tenha sido interrompida temporariamente (isquemia). A lesão de I/R consiste de alterações morfológicas, funcionais e radiológicas que ocorrem no período precoce do pós-transplante (12).

A lesão de I/R refere-se a um edema pulmonar não cardiogênico resultante da lesão capilar (2). A lesão é produzida pela isquemia pulmonar, mas se manifesta quando a circulação pulmonar é restabelecida. O aumento da permeabilidade capilar, cuja graduação será diretamente proporcional ao grau do dano isquêmico, pode variar do simples edema intersticial até a ruptura vascular com hemorragia (8).

Evidências clínicas e experimentais sugerem que a lesão de I/R ocorre em um padrão bifásico. Na fase inicial da reperfusão, depende primariamente das características do doador; na fase mais tardia, que ocorre durante as primeiras 24 horas, depende de fatores ligados às condições do receptor (8).

A patogênese da lesão de I/R não está completamente esclarecida; entretanto, várias citocinas e a geração de radicais livres de oxigênio durante a reperfusão do enxerto têm sido implicadas dentre as suas causas (12). Sabe-se hoje, que a chamada toxicidade pelo oxigênio, através da produção dos chamados radicais livres de oxigênio, desempenha papel fundamental na gênese e manutenção da lesão de reperfusão. Além da geração de radicais livres, fatores vasculares e celulares têm um papel central no processo inflamatório

subseqüente aos eventos iniciais da lesão de I/R. As células endoteliais que formam uma vital e dinâmica estrutura essencial para a homeostase vascular, parecem ser particularmente vulneráveis aos efeitos deletérios da hipóxia (isquemia) e reoxigenação (reperfusão). Os neutrófilos também desempenham um papel fundamental na lesão de I/R. Eles são capazes de liberar toxinas lesivas à membrana endotelial. Foi demonstrado que o mecanismo da lesão causada pelos neutrófilos está envolvido com a produção de metabólitos do oxigênio. Dentre os mecanismos propostos, a produção de radicais livres irá determinar lesão endotelial direta pelos ânions superóxido, induzindo a um aumento da aderência de neutrófilos através da ativação de seus mecanismos quimiotáticos. Por sua vez, estes neutrófilos ativados irão encarregar-se de agravar a lesão endotelial. Outros fatores: ativação de leucócitos e plaquetas e produção de complementos estão implicados na fisiopatologia da lesão de I/R (8). Esforços para prevenir ou manejar esse fenômeno têm probabilidade de darem certo se ambos, epitélio da via aérea e endotélio vascular forem especificamente protegidos durante a reperfusão. (13).

O principal achado histológico da lesão de I/R é o dano alveolar difuso, característica limitada e estereotipada da reação pulmonar a uma agressão aguda (33). O termo “padrão de lesão pulmonar aguda” engloba as várias manifestações histológicas e enfatiza seu início precoce em relação às lesões, dias a semanas, e explica sua uniformidade temporal. Relaciona-se a um evento lesivo ocorrendo num ponto específico do tempo. A informação cronológica é muito importante na avaliação da biópsia do pulmão isto é, o achado microscópico varia com o intervalo decorrido entre a lesão e a biópsia e com a localização da lesão. As alterações produzidas podem envolver desde o epitélio com necrose endotelial e colapso alveolar e, eventualmente, a produção de fibroblastos (34). Os achados histológicos mais comuns da lesão de I/R são o edema alveolar e intersticial,

hemorragia alveolar e acúmulo de neutrófilos dentro dos tecidos. Na fase aguda ou estágio exsudativo, é caracterizada por edema, exsudação e membrana hialina; na fase tardia (1 a 2 semanas), ocorrem proliferação e organização, com predomínio de fibrose. As alterações mais precoces consistem de edema intersticial e intra-alveolar com graus variados de hemorragia intra-alveolar e depósito de fibrina. A membrana hialina, embora seja a marca histológica desta fase, se desenvolve vários dias mais tarde, de 3 a 7 dias.

Numerosos estudos experimentais mostram a importância da lesão das células epiteliais e do endotélio na patogênese do dano alveolar difuso, embora a susceptibilidade de cada um desses tipos de célula varie de acordo com a espécie estudada (35). A lesão endotelial resulta em extravazamento de fluidos capilares para dentro do interstício e eventualmente para dentro dos espaços alveolares. Este aumento da permeabilidade capilar ocorre em todos os tipos de LPA. A destruição do alinhamento de células alveolares e o exsudato intra-alveolar formam a membrana hialina. A membrana basal epitelial fica desnuda, mas permanece intacta, formando uma moldura para o reparo pulmonar, iniciado pela proliferação de pneumócitos tipo II. Colapso e coalescência dos alvéolos ocorrem nessas aéreas e provocam a aparência de espessamento intersticial. A inflamação intersticial acompanha essas alterações e é seguida de proliferação de fibroblastos (35).

O mecanismo preciso da lesão celular é incerto, mas os neutrófilos são vistos como parcialmente responsáveis. A ativação de complemento estimula os neutrófilos, os quais se aderem aos capilares pulmonares, quando substâncias que lesam diretamente o endotélio são liberadas e atraem outras células inflamatórias. Toxinas circulantes e plaquetas colaboram na produção e no aumento da lesão (35).

Estudos clínicos e experimentais têm mostrado que a isquemia e reperfusão de órgãos como rim, fígado, coração e pulmões induzem a uma liberação rápida de citocinas

inflamatórias como TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-10, IL-6 e IL-1 $\beta$ . Citocinas são tradicionalmente classificadas em 'pro-' e 'anti-' inflamatórias dependendo dos seus papéis na resposta inflamatória e um balanço entre estas citocinas tem sido proposto para prever a evolução dos pacientes submetidos a transplante pulmonar (36,37).

## **2.3 VENTILAÇÃO MECÂNICA**

### **2.3.1 Lesão pulmonar induzida pela ventilação mecânica**

Embora a ventilação mecânica com pressão positiva intermitente seja um dos recursos mais frequentemente utilizados em anestesia e terapia intensiva, esta não se constitui em modalidade terapêutica dirigida exclusivamente para a causa da doença subjacente, mas sim voltada prioritariamente para a manutenção de condições respiratórias adequadas, na expectativa de que o tratamento etiológico logre êxito e seja possível o retorno da ventilação espontânea do paciente em condições satisfatórias (38).

A ventilação mecânica mantém adequada oxigenação sistêmica e permite o descanso dos músculos respiratórios. Contudo, inúmeros estudos clínicos e experimentais em animais têm mostrado que a ventilação mecânica pode agravar a lesão pulmonar pré-existente ou produzir novas lesões em pulmões previamente normais (39). Estas lesões são conhecidas como Lesão Pulmonar Induzida pela Ventilação Mecânica (LPIVM).

Webb et al. foram os primeiros a demonstrar que a ventilação mecânica poderia causar edema pulmonar em animais intactos. Estes autores ventilaram ratos com 45 e 30 cmH<sub>2</sub>O de pressão de pico das vias aéreas, identificando uma incidência aumentada de edema pulmonar no primeiro grupo (40).

Por décadas a LPIVM foi sinônimo de barotrauma, através do extravasamento de ar devido à ruptura das paredes dos espaços aéreos. O ar acumulado extra-alveolar causa diversas manifestações, dentre elas o pneumotórax hipertensivo (41).

Diversos estudos têm procurado identificar fatores de risco, ou efeitos adversos potenciais nas várias formas de ventilação mecânica, com o objetivo de estabelecer

estratégias para prevenir LPIVM (42). Os efeitos deletérios da ventilação mecânica dependem de vários fatores, sendo os mais significativos o nível de pressão de via aérea aplicada e a alteração de volume resultante, o tamanho do animal, a duração da ventilação, e se o tórax está aberto ou fechado (35,41).

Dreyfuss et al. avaliaram os papéis da pressão de via aérea e do volume pulmonar em um modelo experimental em ratos submetidos à ventilação mecânica com volumes diferentes e pressões iguais. Os autores observaram um aumento do edema pulmonar e anormalidades celulares nos ratos submetidos à ventilação com volumes aumentados, sugerindo que o termo “volutrauma” poderia ser mais apropriado para esta situação do que o termo “barotrauma” (43).

Os danos à membrana alvéolo-capilar levam a um edema por alta permeabilidade com diluição do surfactante ou inativação do mesmo por componentes plasmáticos como fibrina albumina, dentre outros (44). Estes componentes inibem a função do surfactante de maneira dose-dependente. O surfactante pulmonar também pode ser alterado por peroxidação lipídica através dos radicais livres, e a perda do surfactante das vias aéreas causada pela ventilação com altos volumes, independente da causa, diminui a função do mesmo, levando direta ou indiretamente à diminuição da complacência pulmonar, diminuição da capacidade residual funcional (CRF), atelectasia, aumento do shunt funcional direita-esquerda, piora da troca gasosa, hipoxemia com metabolismo anaeróbio e acidose respiratória, além de edema pulmonar pela inativação dos constituintes plasmáticos do surfactante (45).

Greenfield et al. ventilaram cães durante 2 horas com tórax fechado, mantendo pressão de pico inspiratório ( $P_{\text{pico}}$ ) entre 28-32cmH<sub>2</sub>O. Os animais foram recuperados por 24hs e após submetidos à toracotomia. Foram observadas zonas de atelectasias ao exame

macroscópico, e amostras do pulmão mostravam-se com aumento da tensão superficial, sugerindo alterações nas propriedades do surfactante (46).

Alterações no balanço hídrico pulmonar, aumento da permeabilidade endotelial e epitelial, e dano tecidual severo têm sido observados após ventilação mecânica em animais. Os danos macroscópicos e microscópicos observados da LPIVM não são específicos, assemelhando-se aqueles observados em outras formas de lesão pulmonar aguda experimental (47), e não diferindo fundamentalmente do dano alveolar difuso observado em pacientes com SDRA (48). Quando ocorre LPIVM em humanos, o dano é indistinguível das alterações observadas nos processos patológicos que desencadeiam a insuficiência respiratória, necessitando de ventilação mecânica (49).

Como as propriedades da barreira alvéolo-capilar estão anormais durante uma lesão pulmonar aguda, como na SDRA, é essencial diferenciar se as alterações induzidas pela ventilação mecânica resultam apenas em um acúmulo adicional de líquido, ou se são desenvolvidas novas lesões, ou agravadas as já existentes. Os critérios diagnósticos de lesão pulmonar aguda são  $PaO_2/FiO_2 < 300$  mmHg, infiltrado pulmonar bilateral e pressão capilar pulmonar  $< 18$  mmHg ou sem sinais clínicos de aumento de pressão do átrio esquerdo (50). Para SDRA os critérios são os mesmos, exceto pela relação  $PaO_2/PaCO_2$  que é  $< 200$  mmHg (45).

Existem dois mecanismos básicos para explicar o efeito protetor do PEEP em preservar os efeitos do surfactante durante a ventilação mecânica. A PEEP previne uma diminuição na complacência pulmonar, indicando uma prevenção da perda da função do surfactante durante a hiperinsuflação pulmonar. A PEEP previne o colapso alveolar e então mantém o volume expiratório final do alvéolo em nível elevado, desta maneira prevenindo uma perda excessiva de surfactante na pequenas vias aéreas pelo mecanismo de “squeeze-

out” durante a expiração. Sucessivos estudos realizados por Veldhuizen et al. mostraram que a taxa de volume corrente e do tempo, mudanças na frequência respiratória (fR) e na PEEP não afetaram a conversão do surfactante (51). Estes estudos sugerem que a preservação do sistema surfactante pela PEEP vem da redução das mudanças cíclicas na área de superfície abrangida pelo uso da PEEP (51).

Tsuschida et al em 2006 demonstram em modelo de deficiência de surfactante em ratos que a lesão da via aérea distal causada pela ventilação com PEEP baixa não se manteve confinada às áreas de pulmão atelectasiado, mas também nas regiões não atelectasiadas. Os ratos ventilados com PEEP alta não apresentaram lesão das vias aéreas (52).

### 2.3.2 Resposta inflamatória associada a ventilação mecânica

O dano às células endoteliais observado durante o edema por hiper-insuflação em animais de pequeno porte permite contato direto entre células polimorfonucleares e membrana basal. Este contato pode promover ativação leucocitária. A duração curta dos experimentos em animais de pequeno porte não permite um recrutamento leucocitário maciço, porém em estudos com animais de grande porte, com períodos mais prolongados, observa-se infiltração de células inflamatórias no interstício e espaços alveolares (53). Woo et al. observaram que hiper-insuflação produz edema em cães ventilados com tórax aberto, e que houve acúmulo de leucócitos na vasculatura e macrófagos dentro do alvéolo (53). Estes achados foram confirmados por Tsunok et al que observaram infiltração linfóide intersticial, macrófagos alveolares e infiltração neutrofílica no pulmão de porcos ventilados com altos volumes correntes por 22 horas (54).

As duas citocinas mais frequentemente estudadas em modelos de lesão inflamatória aguda são  $\text{TNF}\alpha$  e  $\text{IL-1}\beta$ . Estas 2 proteínas têm uma variedade de atividades pró-inflamatórias que tem conduzindo investigações clínicas e experimentais.  $\text{TNF}\alpha$  é secretada por uma variedade de células, incluindo macrófagos, monócitos, células T, natural killer cells, e neutrófilos.  $\text{IL-1}\beta$  é principalmente produzida por monócitos e macrófagos (53). Poucos trabalhos têm investigado o papel destas citocinas diretamente na lesão de isquemia-reperfusão pulmonar. Estudos em pacientes com SDRA e naqueles submetidos a transplante pulmonar demonstraram um aumento da expressão locorregional de  $\text{TNF}\alpha$  e  $\text{IL-1}\beta$  (55,56). Esta expressão parece ser funcionalmente importante, e desta

maneira estudos animais detalhando o bloqueio destas citocinas seriam clinicamente relevante.

A participação das interleucinas inflamatórias no curso da LPIVM têm sido estudada por alguns autores. Tremblay et al examinaram os efeitos de diferentes estratégias de ventilação sobre a concentração de várias citocinas no lavado bronco-alveolar de pulmões de ratos ventilados com diferentes PEEP e volumes correntes (VC) (57). Elevados VC (40ml/Kg) com PEEP zero resultaram em um aumento considerável de TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-6. A influência das estratégias de ventilação na produção de citocinas foi também demonstrada no estudo de Takata et al, que demonstraram um aumento da expressão do RNA mensageiro de TNF- $\alpha$  nas células intra-alveolares em ratos depletados de surfactante após 1 hora de ventilação mecânica convencional com  $P_{\text{pico}}$  de 28 cmH<sub>2</sub>O e PEEP 5 cmH<sub>2</sub>O [resultando em uma pressão média das vias aéreas ( $P_{\text{média}}$ ) de 13 cmH<sub>2</sub>O] (58). Além do aumento na concentração de citocinas no pulmão, a hiper-insuflação durante ventilação mecânica pode promover a liberação de citocinas no sangue. Lindén em 2000 estudou a citocina IL-17A, produzida por ativação das células T. Esta citocina regula a atividade do NF-kappaB e da proteína-kinase ativada pela mitose. Esta citocina pode estimular a expressão da IL6 e cyclooxygenase-2 (PTGS2/COX-2), assim como aumentar a produção de óxido nítrico (NO). Altos níveis desta citocina estão associados com doenças inflamatórias crônicas severas, incluindo artrite reumatóide, psoríase e esclerose múltipla (59).

A liberação de mediadores inflamatórios ocorre principalmente em pulmões lesados. Um dos mecanismos propostos para a liberação de mediadores inflamatórios é a perda da compartimentalização (60). O conceito de compartimentalização diz que a resposta inflamatória permanece compartimentalizada na área do corpo onde ela é

produzida, como no espaço alveolar ou na circulação sistêmica. A perda da compartimentalização é dependente da quantidade de surfactante ativo presente na membrana alveolo-capilar. Sugere-se que preservando o sistema surfactante com o uso da PEEP estará reduzida a perda da compartimentalização (60).

### **2.3.3 Pressão positiva expiratória final (PEEP)**

Pressão positiva expiratória final é a pressão alveolar acima da pressão atmosférica que existe no final da expiração. Existem dois tipos de PEEP: PEEP proveniente da ventilação mecânica (PEEP extrínseco) e o secundário à expiração incompleta (PEEP intrínseco). O PEEP intrínseco é usualmente um dos primeiros ajustes escolhidos quando a ventilação mecânica é iniciada. Pequenos níveis de PEEP (3 a 5 cm H<sub>2</sub>O) são referidos como PEEP fisiológica, enquanto que níveis mais altos são chamados de PEEP supra-fisiológicas (61).

A PEEP é utilizada principalmente com o objetivo de recrutar ou estabilizar o pulmão e melhorar a oxigenação em pacientes com insuficiência respiratória hipoxêmica. Ela aumenta a capacidade residual funcional (CRF) e previne o colapso das pequenas vias aéreas, reduzindo as áreas atelectasiadas. Em pacientes com pulmões saudáveis, a PEEP leva a um aumento da complacência pulmonar, diminuindo o shunt e aumentando a PaO<sub>2</sub> (62,63,64).

#### 2.3.4 Recrutamento alveolar

A ventilação mecânica tem mostrado agravar a relação ventilação-perfusão que ocorre em situações de LPA e SDRA, causando comprometimento severo da oxigenação. A quantidade de pulmão aerado é marcadamente reduzida devido a colapso alveolar e edema. Embora não esteja claro se o melhor tratamento deva ser a melhora das trocas gasosas, para prevenir dano pulmonar adicional ou resolver o dano pré-existente, um dos conceitos de tratamento mais utilizado é a abordagem do “pulmão aberto”, objetivando recrutar e manter o volume do pulmão ventilado (65). Em geral, recrutamento significa transformar pulmão não aerado em aerado. Estas regiões podem abrir e fechar ou podem manter-se abertas se for utilizada PEEP adequada (66).

Controvérsias existem sobre o melhor método de recrutamento alveolar, e a respeito da própria definição de recrutamento, se ele significa re-abertura de alvéolos colapsados ou resolução do edema. A manobra de recrutamento normalmente utilizada é a insuflação do pulmão três vezes com pressão de 45cmH<sub>2</sub>O por 40 segundos, com 10 respirações normais entre as insuflações (67). Rothen et al. observaram que pressão de 40 cmH<sub>2</sub>O mantida por 7-8 segundos re-expandiu completamente o pulmão colapsado de pacientes anestesiados (68). Alguns trabalhos demonstraram que recrutamento alveolar com moderados níveis de PEEP pode produzir efeitos fisiológicos benéficos em pacientes submetidos à cirurgia abdominal, torácica ou laparoscópica (69,70) e em pacientes propensos para desenvolver um grau moderado de lesão pulmonar após procedimentos cirúrgicos (71).

Borges et al estudaram prospectivamente uma estratégia de recrutamento alveolar máximo, utilizando tomografia computadorizada e monitorização hemodinâmica e troca gasosa. Concluiu que é possível reverter a hipoxemia e recrutar todo o pulmão em estágios precoces da SDRA, quando os pacientes recebem incrementos sequenciais da pressão inspiratória das vias aéreas, de 5 em 5 cmH<sub>2</sub>O, até que se obtenha  $PaO_2 + PaCO_2 = 400$  mmHg (72).

Com o objetivo de minimizar os danos ocasionados pela ventilação mecânica convencional, têm-se desenvolvido diferentes estratégias de proteção pulmonar, tais como a limitação do volume corrente (VC), da pressão de platô ( $P_{platô}$ ) e a aplicação da PEEP, visando contra-balancear o aumento do peso pulmonar resultante do edema, da inflamação e infiltração, mantendo assim uma capacidade residual funcional (CRF) normal (73,74).

Pacientes submetidos à ventilação mecânica com baixos VC apresentaram uma mortalidade 22% menor do que os ventilados com VC mais elevados (75).

Vários estudos com modelos experimentais de LPA demonstraram que a ventilação mecânica com altas PEEP atenuaria a lesão pulmonar, reduzindo o número de alvéolos atelectasiados ou edemaciados na expiração final (35,61,76). A partir de um estudo publicado em 1998 sobre a associação entre o uso de VC baixo e PEEP moderada à alta como mecanismos de recrutamento alveolar em pacientes com LPA e pacientes com SDRA, passou-se a considerar o recrutamento alveolar como uma arma para melhorar a oxigenação e talvez a sobrevida em pacientes com SDRA (75).

Após este entusiasmo inicial, várias questões sobre o melhor recrutamento pulmonar permanecem sem resposta. Alguns autores sugerem que o recrutamento tem diferentes efeitos dependendo do tipo de dano pulmonar e do uso de diferentes combinações de VC e PEEP. Os benefícios foram demonstrados principalmente em modelos animais de colapso

alveolar induzidos pela deficiência de surfactante (77). Em modelos animais de lesão pulmonar, ao contrário daqueles por depleção do surfactante, os efeitos dos mecanismos de recrutamento na função pulmonar são menos evidentes (78).

As alterações biológicas observadas em pacientes com SDRA são mais complexas e incluem um comprometimento da função de barreira alvéolo-capilar e consolidação alveolar. Além disto, nestes pacientes já criticamente doentes o aumento sustentado e periódico da pressão intra-torácica pode induzir efeitos hemodinâmicos adversos e comprometer a função cardíaca. A hiper-insuflação pulmonar inadvertida pode aumentar a resistência vascular pulmonar com direcionamento do fluxo sanguíneo das áreas hiper-insufladas para as áreas consolidadas, porém com alvéolos perfundidos, piorando desta maneira o “shunt” intra-pulmonar (79).

Demonstrou-se em diferentes modelos de LPA que o melhor recrutamento pulmonar parece estar relacionado à ventilação mecânica com baixos VC e PEEP ajustada de acordo com valores obtidos da curva pressão-volume do sistema respiratório (75,80,81). A curva pressão-volume é caracterizada por uma forma sigmóide, com um ponto de inflexão inferior (PII) correspondendo à pressão na qual alvéolos colapsados começam a ser recrutados (“PEEP Ideal”) e um ponto de inflexão superior (PIS) correspondente ao volume no qual se inicia uma hiper-distensão alveolar (Figura). Usando esta curva, o nível de PEEP é ajustado acima do PII para evitar o colapso do alvéolo no final da expiração, e o volume corrente é ajustado para manter uma pressão inspiratória final e um volume menor que o PIS para evitar hiper-distensão alveolar.



expiração. Isto pode ser conseguido com o uso de VC e níveis de PEEP fixados acima do PII da curva pressão-volume (85).

Em um estudo randomizado em 983 pacientes com LPA, metade dos pacientes foram ventilados com baixos VC,  $P_{\text{platô}}$  não excedendo 30 cmH<sub>2</sub>O e PEEP convencional. No grupo experimental o PEEP foi mais alto e a  $P_{\text{platô}}$  de até 40 cmH<sub>2</sub>O. Não foi observado diferença significativa na mortalidade e na incidência de barotrauma entre os grupos, porém no grupo experimental houve uma taxa menor de óbito associado com hipoxemia refratária (86).

### 3. REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA

---

1. Hosenpud JD, Benett LE, Keck BM. The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: seventeenth official report. *J Heart Lung Transplant.* 2000;19:909-31.
2. Christie JD, Bavaria JE, Palevsky HI, Litzky L, Blumenthal NP, Kotloff RM. Primary graft failure following lung transplantation. *Chest.* 1998;114:51-60.
3. Crocetti JG, O'Brien OB, Furudawa S. The impact of reperfusion injury on the long term development of obliterative bronchiolitis in lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161:507.
4. Hertz M, Aurora P, Benden C, Christie J, Dobbels F, Edwards LB, Kirk R, Kucheryavaya AY, Rahmel AO, Rowe AW, Stehlik J. Scientific Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Introduction to The 2011 Annual Reports. *The J of Heart and Lung Transplant.* 2011;30:1071-77.
5. Shreenivas R, Larry LS, Mangala N, Carlton CM, Marboe CC. Adhesion molecules (E-Selectin and ICAM-10 in pulmonary allograft rejection. *Chest.* 1996;110:1143-1149.
6. Arcasoy SM, Kotloff RM. Medical Progress: Lung Transplantation. *N Engl J Med.* 1999;340(14):1081-1091.
7. Demeo DL, Ginns LC. Lung transplantation at the turn of the century. *Annu. Rev. Med.* 2001;52:185-201.
8. De Perrot M, Liu M, Waddell TK, Keshavjee S. Ischemia-reperfusion-induced lung injury - state of the art. *Am. J. respir Crit Care Med.* 2003;167:490-511.

9. King RC, Binns OA, Rodriguez F, Kanithanon RC, Daniel TM, Spotnitz WD, Tribble CG, Kron IL. Reperfusion injury significantly impacts clinical outcome after pulmonary transplantation. *Ann Thorac Surg.* 2000;69:1681-1685.
10. De Hoyos A, Demajo W, Snell G, Miller J, Winton T, Maurer JR, Patterson GA. Preoperative prediction of the use cardiopulmonary bypass in lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surgery.* 1993;106:787-796.
11. Glaszman LR, Keenan RJ, Fabrizio MC, Sonett JR, Bierman MI, Pham SM, Griffith BP. Extracorporeal membrane oxygenation as an adjunct treatment for primary graft failure in adult lung transplant recipients. *J Thorac Cardiovasc Surgery.* 1995;110:723-727.
12. Khan SU, Salloum JPB . Acute pulmonary edema after lung transplantation:the pulmonary reimplantation response. *Chest.* 1999;116(1):187-194.
13. Buchanan SA, Mauney MC, Parekh VI, Delima NF, Binns OA, Cope JT, Shockey KS. Intratracheal surfactant administration preserves airway compliance during lung reperfusion. *Ann Thorac Surg.* 1996;62(6):1617-1621.
14. Andrade CF, Martins LK, Tonietto T, Koefender C, Anflor JR LC, Silva NB, Felicetti JC, Camargo JJP, Fortis EAF, Cardoso PFG. Partial liquid ventilation with perfluorodecalin following unilateral canine lung allotransplantation utilizing non-heart-beating donors. *J Heart Lung Transplant.* 2004;23(2):241-250.
15. Sekine Y, Waddell TK, Matte-Martin A, Pierre AF, de Perrot M, Fischer S, Marschall J, Granton J, Hutcheon MA, Keshavjee S. Risk quantification of early outcome after lung transplantation: donor, recipient, operative, and post-transplant parameters. *J Heart Lung Transplantatio.* 2004;23(1):96-104.

16. Feng-Mei G, Jing-Jing D, Xin S, Hui-Ying X, Yi S. Effects of different levels of end-expiratory positive pressure on lung recruitment and protection in patients with acute respiratory distress syndrome. *Chin Med J*. 2008;121(22):2218-2223.
17. Fortis EAF. Influência do modo ventilatório no desempenho funcional dos enxertos pulmonares pós-transplante em modelo canino: ventilação controlada a volume versus ventilação controlada a pressão. Tese de Doutorado, UFRGS 2003.
18. Demikhov V. Experimental transplantation of vital organs. New York: Consultants Bureau Enterprises, 1962.
19. Metras H. Note preliminaire sur la greffe totale du poumon chez le chien. *C R Acad Sci (Paris)*. 1950;231:1176-1178.
20. Hardy J, Webb W, Dalton M. Lung homotransplantation in man. *JAMA*. 1963;186:1065-1074.
21. Deron F, Barrier F, Ringoir S. Ten month survival after lung homotransplantation in man. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1971;61:835-846.
22. Nelems J, Rebeck A, Cooper J. Human lung transplantation. *Chest*. 1980;78:569-573.
23. Brower RG, Lanken PN, MacIntyre N, Matthay MA, Morris A, Ancukiewicz M, Schoenfeld D, Thompson BT: Higher versus lower positive end-expiratory pressures in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2004;351:327-336.
24. Christie JD, Bavaria JE, Palevsky HI, Litzky L, Blumenthal NP, Kaiser LR, Kotloff RM. Primary graft failure following lung transplantation. 1998;114(1):51-60.

25. Clark SC, Sudarshan CD, Khanna R, Roughtan JV, Flecknell PA, Dark JH. A new porcine model of reperfusion injury after lung transplantation. *Laboratory Animals*. 1999;33:135-142.
26. Hammainen PT. Single lung transplantation in piglets. Technique and follow-up. *Scandinavian Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 1993;27:71-80.
27. Chapelier A, Reignier J, Mazmanian M. PentoxHylline and lung ischemia-reperfusion injury: application to lung transplantation. *Universite Paris-Sud Lung Transplant Group. Journal of Cardiovascular Pharmacology*.1995;65:671-9.
28. Inci D, Erne B, Arni S, Jungraithmayr W, Hillinger S, Vogt P, Leskisek B, Weder W. Prevention of primary graft dysfunction in lung transplantation by N-acetylcysteine after prolonged cold ischemia. *Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2010;29(11):1293-301.
29. Kohmann JC, Castro M, Silva U, Ruschel M, Madruga G, Felicetti JC, Camargo JJP, Cardoso PFG. Efeito da prostaglandina E1 na viabilidade pulmonar de cadáver após transplante pulmonar unilateral em cães. *Rev Col Bras Cir*. 1995;22:275-278.
30. Kohmann JC, Castro M, Silva U, Madke GR, Pilla ES, Felicetti JC, Camargo JJP, Bittencourt PIH, Cardoso PFG. Perfusion pulmonar anterógrada versus retrógrada na preservação pulmonar para transplante em modelo canino de viabilidade pulmonar pós-morte. *J Pneumol* 1999;25:78-83.
31. Cardoso PFG. Perfusion pulmonar anterógrada versus retrógrada na preservação pulmonar para transplante em modelo canino de viabilidade pulmonar pós-morte. Tese de Doutorado. UFRGS, Porto Alegre, 2000. 123 p.
32. Andrade CF, Madke GR, Pilla ES, Tonietto T, Martins LK, Anflor JLC, Silva NB, Felicetti JC, Camargo JJP, Cardoso PFG. Impacto da ventilação líquida parcial com

- perfluorocarbono após a reperfusão do enxerto em modelo canino de transplante pulmonar unilateral esquerdo. *J Pneumol* 2000; 26(3):43.
33. Travis WD, Colby TV, Koss MN, Rosado-de-Christenson ML, Müller NL. Transplantation pathology. In: (Ed.). *Non- Neoplastic Disorders of the Lower Respiratory Tract. Atlas of nontumor pathology*. Washington, DC: American Registry of Pathology and the Armed Forces Institute of Pathology, 2002. Transplantation pathology., p.747-765.
34. Katzenstein AA, Askin FB. Acute lung injury patterns: diffuse alveolar damage, acute interstitial pneumonia, bronchiolitis obliterans - organizing pneumonia. In: KATZENSTEIN AA, A. F. (Ed.). *Surgical Pathology of Non-neoplastic Lung Disease*. Philadelphia: W. B. Saunders Company. 1990. Acute lung injury patterns: diffuse alveolar damage, acute interstitial pneumonia, bronchiolitis obliterans - organizing pneumonia. p.9-57.
35. Dreyfuss D, Saumon G. Ventilator-induced lung injury: Lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157:294-323.
36. Park WY, Goodman RB, Steinberg KP. Cytokine balance in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164:1896–1903.
37. Yoshikawa S, King JA, Lausch N, Penton AM, Eyal FG, Parker JC. Acute ventilator-induced vascular permeability and cytokine responses in isolated and in situ mouse lungs. *J Appl Physiol*, 2004;97:2190-99.
38. Hudson LD. Progress in understanding Ventilator-Induced lung Injury. Editorial. *Jama*. 1999;282(1):77-78.

39. Dos Santos CC, Slutsky AS. Mechanisms of ventilator-induced lung injury: a perspective. *J Appl Physiol*. 2000;89:1645-55.
40. Webb HH, Tierney DF. Experimental pulmonary edema due to intermittent positive pressure ventilation with high inflation pressures: protection by positive end-expiratory pressure. *Am. Rev. Respir. Dis*. 1974;110:556–565.
41. Meade MO, Cook DJ, Guyatt GH, Slutsky AS, Arabi YM, Cooper DJ, Davies AR, Hand LE, Zhou Q, Thabane L, Austin P, Lapinsky S, Baxter A, Russel J, Skrobik Y, Ronco JJ, Stewart TE. Ventilatory strategy using low tidal volumes, recruitment maneuvers, and high positive end-expiratory pressure for acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *Jama*. 2008;299(6):637-45.
42. Dos Santos CC, Slutsky AS. Mechanisms of ventilator-induced lung injury: a prospective study. *Journal Appl Physiology*. 2000;89:1645-55.
43. Dreyfuss D, Soler P, Basset G, Saumon G. High inflation pressure pulmonary edema. Respective effects of high airway pressure, high tidal volume, and positive end-expiratory pressure. *Am Review of Respir Disease*. 1988;137:1159-64.
44. Ito Y, Veldhuizen R, Yao LJ, Mccaig LA, Bartlett AJ, Lewis JF. Ventilation strategies affect surfactant aggregate conversion in acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;155:493-499.
45. Verbrugge SJC, Lachmann B, Kesecioglu J. Lung protective ventilatory strategies in acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: from experimental findings to clinical application. *Clin Physiol Imaging*. 2007;27:67-90.
46. Greenfield LJ, Ebert PA, Benson DW. Effect of positive pressure ventilation on surface tension properties of lung extracts. *Anesthesiology*. 1964;25:312–316.

47. Cottrell TS, Levine OR, Senior RM, Wiener DS, Fishman AP. Electron microscopic alterations at the alveolar level in pulmonary edema. *Circ. Res.* 1967;21:783–797.
48. Bigatello LM, Davignon Kr, Stelfox HT. Respiratory Mechanics and Ventilator Waveforms in the Patients with Acute Lung Injury. *Respir Care.* 2005;50(2):235-44.
49. Bachofen M, WEIBEL ER. Structural alterations of lung parenchyma in the adult respiratory distress syndrome. In R. C. Bone, editor. *Clinics in Chest Medicine*, W. B. Saunders, Philadelphia, 1982; 35–56.
50. Lachmann B. Open up the lung and keep the lung open. *Intensive Care Med.* 1992;18:319-21.
51. Veldhuizen RA, Marcou J, Yao LI, Mccaig L, Ito Y, Lewis JF. Alveolar surfactant aggregate conversion in ventilated normal and injured rabbits. *Am J Physiol.* 1996;270: 152-58.
52. Tsuschida S, Engelberts D, Peltekova V, Hopkins N, Frndova H, Babyn P, Mckerlie C, Post M, Mcloughlin P, Kavanagh BP. Atelectasis causes alveolar injury in nonatelectatic lung regions. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174:279-89.
53. Woo SW, Hedley-Whyte J. Macrophage accumulation and pulmonary edema due to thoracotomy and lung overinflation. *J. Appl. Physiol.* 1972;33:14–21.
54. Tsunok K, Miura M, Takey T, Kolobow, Morioka T. Histopathologic pulmonary changes from mechanical ventilation at high peak airway pressures. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1991;143:1115–1120.
55. Bauer TT, Monton C, Torres A, Cabello H, Fillela X, Maldonado A. Comparison of systemic cytokines levels in patient with ARDS, sever pneumonia and controls. *Thorax.* 2000;55:46-52.

56. Mal H, Dehoux M, Sleiman C, Boczkowski J, Leseche G, Pariente R. Early release of pro-inflammatory cytokines after lung transplantation. *Chest*. 1998; 113:645-51.
57. Tremblay L, Valenza F, Ribeiro SP, Li J, Slutsky AS. Injurious ventilatory strategies increase cytokines and c-fos m-RNA expression in an isolated rat lung model. *J Clin Invest*. 1997;99:944-52.
58. Takata M, Abe H, Tanaka Y, Kitano S, Doi T, Kohsaka, Miyasaka K. Intraalveolar expression of tumor necrosis factor alpha gene during conventional and high-frequency ventilation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 1997;156:272–279.
59. Lindén A, Hoshino H, Laan M. Airway neutrophils and interleukin-17. *Eur Respir J*. 2000;15:973-77.
60. Haitsma JJ, Uhlig S, Lachmann U, Verbrugge SJ, Poelma DL, Lachmann B. Exogenous surfactant reduces ventilator-induced decompartmentalization or tumor necrosis factor alpha in absence of positive end-expiratory pressure. *Intensive Care Med*. 2002;28:1131-37.
61. Smith RA. Physiologic PEEP. *Respir Care* 1988; 33:620.
62. Maisch S, Reissmann H, Fuellekrug B, Weismann D, Rutkowski T, Tusman. Compliance and dead space fraction indicate an optimal level of positive end-expiratory pressure after recruitment in anesthetized patients. *Anesthesia and Analgesia*. 2008;106(1):175–81.
63. Maracaja-Neto LF, Vercosa N, Roncally AC, Giannela A, Bozza FA, Lessa MA. Beneficial effects of high positive end-expiratory pressure in lung respiratory mechanics during laparoscopic surgery. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 2009;53:210–7.

64. Meininger D, Byhahn DC, Mierdl S, Westphal K, Zwissler B. Positive end-expiratory pressure improves arterial oxygenation during prolonged pneumoperitoneum. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 2005;49(6):778–83.
65. Henzler D, Paolo P, Dembinski R, Ullmann A, Mahnken AH, Rossaint R, Kühlen R. Respiratory compliance but not gas exchange correlates with changes in lung aeration after a recruitment maneuver: an experimental study in pigs with saline lavage lung injury. *Critical Care Med.* 2005;9:471-82.
66. Lachmann B, Eijking EP, So KL, Gommers D. In vivo evaluation of the inhibitory capacity of human plasma on exogenous surfactant function. *Intensive Care Med.* 1994;20:6-11.
67. Grasso S, Mascia L, Del Turco M, Malacarne P, Giunta F, Brochard L, Slutsky AS, Marco RV. Effects of recruitment maneuvers in patients with respiratory distress syndrome ventilated with protective ventilatory strategy. *Anesthesiology.* 2002;96:795-82.
68. Rothen HU, Spore B, Engberg G. Airway closure atelectasis and gas exchange during general anaesthesia. *Br J Anaesth.* 1998; 81:681-686.
69. Tusman G, Böhm SH, Vásquez GF. Alveolar recruitment strategy improves arterial oxygenation during general anaesthesia. *Br J Anaesth.* 1999;82:8-13.
70. Tusman G, Böhm SH, Vásquez GF. Alveolar recruitment strategy increases arterial oxygenation during one-lung ventilation. *Ann Thorac Surg.* 2002;73:1204-1209.
71. Dyhr T, Laursen N, Larsson A. Effects of lung recruitment maneuver and positive end-expiratory pressure on lung volume, respiratory mechanics and alveolar gas mixing in patients ventilated after cardiac surgery. *Acta Anaesth Scand.* 2002;46:717-725.

72. Borges JB, Okamoto VN, Matos GFJ, Caramez MPR, Arantes PR, Barros F, Souza CE, Victorino JA, Karkmarek RM, Barbas CSV, Carvalho CRR, Amato MBP. Reversibility of Lung Collapse and Hypoxemia in Early Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174:268-78.
73. Maggiore SM, Jonson B, Richard JC, Jaber S. Alveolar derecruitment at decremental positive end-expiratory pressure levels in acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164:795-801.
74. Gattioni L, D'andrea L, Pelosi P, Vitale G. Regional effects and mechanisms of positive end-expiratory pressure in early adult respiratory distress syndrome. *JAMA.* 1993;269:2122-27.
75. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2000;342:1301-08.
76. Brower RG, Lanken PN, MacIntyre N, Matthay MA, Morris A, Ancukiewicz M, Schoenfeld D, Thompson BT: Higher versus lower positive end-expiratory pressures in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2004;351:327-336.
77. Rimensberegger PC, Cox PN, Frndova H. The open lung during small tidal volume ventilation: Concepts of recruitment and "optimal" positive end-expiratory pressure. *Crit Care Med.* 1999;27:1946-52.
78. Van Der Kloot TE, Blanch L, Youngblood AM. Recruitment maneuvers in three experimental models of acute lung injury: Effect on lung volume and gas exchange. *Am J Resp Crit Care Med.* 2000;161:1485-94.

79. Villagra A, Ochagavia A, Vatua S. Recruitment maneuvers during lung protective ventilation in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:165-70.
80. Tobin JM. Culmination of an era in research on the acute respiratory distress syndrome. Editorial. *N Engl J Med.* 2000;342:18.
81. Ware L, Matthay M. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2000; 342:1334-1349.
82. Ranieri VM. Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in patients with acute respiratory distress syndrome: A randomized controlled trial. *Jama.* 1999;\_282:54-61.
83. Amato MBO, Barbas CS, Medeiros DM, Magaldi RB, Schettino GPP, Filho GL, Kairalla RA, Deheinzei D. Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 1998;338:347-54.
84. De Perrot M. Effect of ventilator-induced lung injury on the development of reperfusion injury in a rat lung transplant model. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2002;124:1137-44.
85. Amato MBO, Barbas CS, Schettino GPP, Filho GL, Kairalla RA. Beneficial effects of the “open lung approach” with low distending pressures in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152:1835-1846.
86. Briel M, Meade M, Mercat MA, Brower RG, Talmor D, Walter SD, Slutsky A, Pullenayegum E, Zhou Q, Cook D, Brochard L, Richard JC, Lamontagne F, Bhatnagar N, Stewart TE, Guyatt G. 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.

#### 4. JUSTIFICATIVA

---

Diferentes estratégias ventilatórias têm sido descritas e utilizadas para a obtenção de um desempenho satisfatório em diversos modelos experimentais de lesão pulmonar aguda e em pequeno número de trabalhos relacionados ao período pós-operatório do transplante pulmonar.

Vários estudos clínicos têm demonstrado que o uso de ventilação mecânica com altos níveis de PEEP em pacientes com SDRA resultou em melhor evolução destes pacientes, com diminuição da mortalidade, assim como melhora da performance pulmonar em estudos experimentais de lesão pulmonar aguda.

Não há na literatura até o momento nenhum estudo clínico ou experimental que comprove qual a melhor estratégia ventilatória para ser utilizada no pós-operatório de transplante pulmonar. Propõe-se portanto estudar os efeitos da aplicação de níveis altos de PEEP no desempenho funcional dos enxertos pulmonares em um modelo de lesão pulmonar aguda grave como o transplante pulmonar. Os resultados deste trabalho fornecerão importantes informações sobre a aplicação de diferentes níveis de PEEP em pós-operatório de transplante pulmonar e impulsionarão novos estudos sobre ventilação mecânica neste modelo e sua provável aplicação clínica.

## 5. OBJETIVOS

---

### 5.1 GERAL

Avaliar a influência da ventilação mecânica controlada a pressão com dois diferentes níveis de PEEP no desempenho funcional pós-operatório dos enxertos pulmonares em modelo suíno de transplante pulmonar unilateral esquerdo.

### 5.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar a influência de dois diferentes níveis de PEEP sobre as variáveis hemodinâmicas nos animais submetidos a transplante pulmonar
- Avaliar o efeito de dois diferentes níveis de PEEP sobre a mecânica respiratória dos animais submetidos a transplante pulmonar
- Avaliar o efeito de dois diferentes níveis de PEEP sobre as trocas gasosas dos animais submetidos a transplante pulmonar
- Avaliar o efeito de dois diferentes níveis de PEEP sobre a atividade inflamatória através da medida de IL-8 nos pulmões dos animais submetidos a transplante pulmonar.
- Avaliar o efeito de dois diferentes níveis de PEEP sobre marcadores de estresse oxidativo (TBARS e SOD) nos pulmões dos animais submetidos a transplante pulmonar.

## 6. ARTIGO CIENTÍFICO

---

### **EVALUATION OF TWO DIFERENT LEVELS OF POSITIVE END- EXPIRATORY PRESSURE ON POSTOPERATIVE GRAFT PERFORMANCE IN A PIG MODEL OF UNILATERAL LEFT LUNG TRANSPLANTATION**

Gabriel Ribeiro Madke<sup>1</sup>, Gustavo Grün<sup>2</sup>, Eduardo Fontena<sup>3</sup>, Raoni Bins Pereira<sup>4</sup>, Arthur Holand<sup>4</sup>, Rodrigo Mariano<sup>4</sup>, Artur de Oliveira Paludo<sup>4</sup>, Luiz Alberto Forgiarini Júnior<sup>5</sup>, Elaine Aparecida Felix<sup>6</sup>, Cristiano Feijó Andrade<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Attending thoracic surgeon - Hospital Ernesto Dornelles (HED), <sup>2</sup>Medical Resident - HED, <sup>3</sup>Medical Resident - Hospital de Clinicas de Porto Alegre (HCPA), <sup>4</sup>Medical student - Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), <sup>5</sup>Professor of Physiotherapy – Instituto Metodista de Porto Alegre (IPA), <sup>6</sup>Adjunt Professor, Departament of Surgery - UFRGS and Anesthesiologist (HCPA), <sup>7</sup> Attending thoracic surgeon - Hospital da Criança Santo Antônio - Santa Casa de Porto Alegre and HCPA.

**Abstract**

**Objective:** Evaluate the effects of two different levels of positive end expiratory pressure (PEEP) on pigs submitted to unilateral lung transplantation through blood gas exchange [partial oxygen arterial pressure ( $\text{PaO}_2$ ) and partial carbon dioxide arterial pressure ( $\text{PaCO}_2$ )], hemodynamics [heart rate (HR), mean arterial pressure (MAP) and pulmonary arterial pressure (PAP)], ventilatory parameters [mean airway pressure ( $\text{P}_{(\text{aw})}$ ); static compliance ( $\text{C}_{\text{st}}$ ) and airway resistance ( $\text{R}_{\text{est}}$ )], inflammatory response [interleukin 8 (IL-8)] and oxidative stress [thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and superoxide dismutase (SOD)]. **Material and Methods:** Twelve pigs were submitted to left lung transplantation. The animals were randomized into two groups of different PEEP levels: Group 1 (PEEP = 5cmH<sub>2</sub>O) and Group 2 (PEEP = 10cmH<sub>2</sub>O). Hemodynamics, gas exchange and respiratory mechanics were measured prior and after surgery for 210 minutes. Cytokines, oxidative stress and histological score were assessed in lung tissue. **Results:** Group 2 had significantly higher HR ( $p=0.006$ ),  $\text{C}_{\text{st}}$  ( $p=0.001$ ) and lower MAP ( $p=0.003$ ) and  $\text{R}_{\text{est}}$  ( $p=0.001$ ). There were no differences between both groups in TBARS, SOD and IL-8, concentration after transplant. However, at the end of the observation period, group 2 showed higher TBARS ( $p=0.001$ ) and IL-8 ( $p=0.05$ ) concentration and group 1 presented higher SOD ( $p=0.05$ ) when compared to baseline. **Conclusion:** After unilateral lung transplantation, higher PEEP levels had no effect on gas exchange. Although, 10 cmH<sub>2</sub>O PEEP improved respiratory mechanics, it had a negative impact on hemodynamics and stimulated a high inflammatory response and production of reactive oxygen species.

**Keywords:** lung transplantation, mechanical ventilation, positive end-expiratory pressure, pigs.

## **Introduction**

Lung transplantation is the life-saving therapy for patients with end-stage lung disease. However, about 15-25% of transplanted patients may present severe complications related to the graft in the postoperative period <sup>(1)</sup>. These events are consequence of primary graft dysfunction (PGD), which represents the most important cause of early morbidity and mortality following lung transplantation <sup>(1)</sup>. This clinical syndrome of severe hypoxemia, lung edema, and radiographic appearance of diffuse pulmonary opacities may result from acute lung rejection, infection or ischemia-reperfusion (IR) injury <sup>(2)</sup>. Survivors of PGD tend to have prolonged mechanical ventilatory support, longer hospital stay, and lower lung function over time <sup>(3)</sup>. Although fundamental, mechanical ventilation may increase the damages to the transplanted lungs, worsening preexisting lung injury and triggering massive release of proinflammatory cytokines <sup>(4,5,6,7)</sup>.

Therefore, in order to reduce the potential adverse effects of mechanical ventilation, lung protective strategies that limit tidal volume, plateau pressure and positive airway pressure have been suggested in the literature over the years <sup>(8,9)</sup>. Positive end expiratory pressure has been routinely used in ICU in critical ill patients and provides alveolar recruitment by preventing end-expiratory bronchiolar collapse, reduces pulmonary edema and improves gas exchange. On the other hand, increase of PEEP levels may contribute to overdistension of noninjured lung areas and decrease cardiac output <sup>(10)</sup>

The vast majority of studies on mechanical ventilation have focused on acute distress respiratory syndrome (ARDS) patients and animal models of lung injury. Higher PEEP levels are not suitable for all patients with lung injury and the optimal PEEP levels should be individualized <sup>(9)</sup>. Since primary graft dysfunction due to IR injury has similar

clinical and pathophysiological aspects to those of ARDS, ventilatory strategies that are effective in ARDS patients might be applicable to critical ill transplanted patients <sup>(1)</sup>. This issue remains highly controversial, with only few studies focusing on mechanical ventilation in the immediate post-operative period and its potential influence on the lung graft performance <sup>(9)</sup>.

We hypothesized that higher PEEP levels (10 cmH<sub>2</sub>O) could improve gas oxygenation and lung graft performance in the post-operative period of lung transplantation. Thus, we studied the effects of two different levels of PEEP on lung grafts with ischemia-reperfusion injury using a unilateral lung transplantation model.

## Materials and Methods

We used twelve pigs weighting approximately 30kg as organ donors and other twelve animals as recipients. The local Institutional Animal Care Committee and the Ethical and Research Committee approved the protocols used in this study. All animals received humane care in compliance with the “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” prepared by the Institute of Laboratory Animal Resources and published by the National Institutes of Health (NIH Publication No. 86-23, revised 1996).

### Donors

All animals were induced with ketamine 10% (15mg/kg) and midazolam<sup>®</sup> (Nortec Quimica, Brasil) (0,8mg/kg) i.m. After conscience loss, it was used propofol<sup>®</sup> (Eurofarma, Brasil) (2-4mg/kg) and fentanyl citrate (2-5 µg/kg) i.v. for orotracheal intubation followed by mechanical ventilation with 100% oxygen in a pressure-controlled mode (Nikkei, Takaoka<sup>®</sup>, Japan). The parameters were adjusted to maintain a tidal volume ( $V_t$ ) of 8ml/kg, respiratory rate of 20breaths/minute, inspiratory:expiratory (I:E) ratio 1:2 and 5cmH<sub>2</sub>O PEEP. Anesthesia was maintained with continuous infusion of fentanyl citrate (50 µg/kg/h) and propofol<sup>®</sup> (11-15 mg/kg/h). Muscle relaxation was done with atracurium<sup>®</sup> (Abbott, USA) 0.4mg/kg/h.

Donor lung harvest is described elsewhere<sup>(11)</sup>. Briefly, after median sternotomy, the great vessels were dissected and the animal was heparinized intravenously with 5mg/kg (300UI/kg) via pulmonary artery. A perfusion cannula was placed into the left atrium,

followed by occlusion of aorta and cava. A retrograde perfusion was performed with low-potassium dextran solution (Perfadex<sup>®</sup> - Vitrolife, Kungsbacka, Sweden) 50ml/kg at 4°C, with a maximum pressure of 35 mmHg. Ventilation was continued throughout the perfusion period. Neither vasodilators nor vasoactive drugs were used. The heart-lung block was excised with both lungs inflated in an end-inspiratory state and stored at 4°C for 16 hours.

### **Recipient**

The same anesthetic and ventilatory protocol of the donor pigs was used in the recipient animals, except for inhaled isoflurane 1.0 to 1.5% (Cristália, Sao Paulo, Brazil) instead propofol for anesthesia maintenance.

After intubation, a carotid catheter was inserted for MAP. A catheter (Swan-Ganz - Edwards<sup>®</sup>, Irvine, USA) was positioned in the main pulmonary artery through the external jugular vein for pulmonary artery pressure (PAP) measurement. An intermittent bladder catheterization was performed for urinary output.

Fifteen minutes after stabilization, arterial blood sampling (PaO<sub>2</sub> and PaCO<sub>2</sub>), hemodynamic parameters (MAP, HR and PAP) and respiratory measurements [C<sub>st</sub> and R<sub>est</sub>] were performed. This point was considered as baseline. Then, a left pneumonectomy as described by Felix et al was performed <sup>(8)</sup>.

Heart-lung block was dissected as described by Andrade et al followed by a biopsy of the right upper lobe (initial time). Implantation of the left donor lung was performed as described by Andrade et al <sup>(11)</sup>. After clamp release of the pulmonary artery, the graft was

ventilated with the same parameters of baseline. A left upper lobe lung biopsy was performed just before chest wall closure (post Tx time). Randomization was performed in two groups after animal stabilization: mechanical ventilation with PEEP 5cmH<sub>2</sub>O (Group 1, n=6) and mechanical ventilation with PEEP 10cmH<sub>2</sub>O (Group 2, n=6), keeping all other ventilatory parameters stable.

During 210 minutes the animals of both groups were maintained with the same anesthetic technique, and vasoactive drugs were used if necessary, as well the respiratory rate was adjusted to maintain the a PaCO<sub>2</sub> below 55mmHg. Data were obtained after transplantation, 120 and 210 minutes after procedure (gas exchange, respiratory mechanics and hemodynamics).

At the end of the observation period, the sternum was open, and biopsies of the left lung were taken to analysis, and the animals were sacrificed through exsanguination (final time). The left lungs were weighed and after drying for 72hr at 100°C, the lungs were weighed again and the W:D ratio was calculated as described by Pearce et al <sup>(12)</sup>. The lung biopsy specimens were divided in two parts, one stored in liquid nitrogen stored in -80°C and other in 10% formalin.

### **Histological Analysis**

The specimens were fixed in 10% formalin and embedded in paraffin. Sections of 4 $\mu$ m thick were stained with hematoxylin-eosin and labeled with a numeric code. One blinded pathologist to the experimental protocol and the region of sampling performed quantitative analysis by light microscopy. Each sample was examined under both low and high power fields. At least four sections were obtained from each block, and 20 fields were randomly selected and analyzed for each section.<sup>(13)</sup> The severity of histologic lesions was assessed using a score (HIS) based on six parameters: intra-alveolar edema, hyaline membrane formation, hemorrhage, recruitment of granulocytes into the air spaces, focal alveolar collapse or consolidation, and epithelial desquamation/necrosis of airways or alveoli. Each parameter was evaluated semiquantitatively using the following scale: 0 absent, 1 mild, 2 moderate, 3 prominent. In addition, the percentage of the involved area of each histologic specimen was estimated (0 to 100%) to quantify the histologic changes.

### **TBARS determination**

The tissue samples were placed in assay tubes and added 0.75 mL of 10% trichloroacetic acid, 0.25 mL of the homogenate, 0.5 mL of 0.67% thiobarbituric acid and 25 mL of distilled water. Each tube was agitated and heated until 100°C. After, they were cooled in ice and 1.5 mL of n-butyl alcohol was added. Subsequently, each tube was agitated in the Vortex (Biomatic, Porto Alegre, RS, Brasil), for 45s and centrifuged for 10 min at 3,000 rpm (1,110  $\times$  g). Finally, the stained product was removed and read in a spectrophotometer (CARY 3E UV-Visible Spectrophotometer; Varian, Palo Alto, CA,

USA) at a wavelength of 535 nm. The concentration of TBARS obtained was expressed as nmol/mg of protein. <sup>(14)</sup>.

### **Superoxide dismutase and catalase determination**

The activity of SOD was determined by pulse radiolytic method based in the autoxidation of epinephrine, according the method described by Misra and Fridovich. (Misra and Fridovich 1972). Catalase (CAT) activity was determined by spectrophotometer method described by Maehly and Chance <sup>(15)</sup>.

### **Interleukin 8 analysis**

After samples unfreeze, a microplaque of 96 holes was sensitized with IL-8 monoclonal antibody. In these plaques were added 100µl of homogenized lung (dilution 1:2), 100µl of positive and negative controls and 100µl of recombinant IL-8 in concentration according with standart curve establish by the manufacture (Creative Biomart, New York). After, 100µl of policlonal conjugated anti-IL-8 marked with peroxidase was added to the plaques for incubation during 3 hours at room temperature. After the incubation time, the plaque was washed four times with detergent solution. Later, it was added hidrogen peroxide (0,02%) and tetramethylbenze (2%).

The reaction was interrupted 30 minutes later, using sulfuric acid 1M. A color intensity was measured through optic density in an ELISA automatic reader (Titertek

Multiskan®) in 450nm. The IL-8 concentration in the homogenized lung was calculated from the results obtained through a standard curve.

### **Statistical analysis**

All the collected data from the experiment were coded, recorded, and analyzed using SPSS 10.0.1 for Windows (Chicago, IL). These data were obtained after transplant, 120 and 210 minutes of the observation period.

ANOVA for parametric data and Kruskal–Wallis variance test for non-parametric data were used for comparing differences between groups. When analysis of variance showed a significant difference, the post-hoc multiple comparison test (Tukey test) was used to demonstrate the differences between the groups. The General Linear Models (GLM) Repeated Measures Test was used for comparing differences between groups of related dependent variables with more than one measure along the observation period. In each test, the data were expressed as the mean value +/- standard error (SE) and  $p < 0.05$  was considered as statistically significant.

### **Results**

Twelve animals were submitted to lung transplantation, however ten concluded the observation period, five of each group. The overall mortality of this model was 16%. The cause of death was hypotension refractory to vasopressor drugs.

There were no significant differences between the groups regarding body weight, total ischemic time, anastomosis time, total dose of anesthetic or vasoactive drugs, volume of electrolyte solutions administered, or urinary output. Ephedrine was used only in group 2 due to persistent hypotension after transplantation.

Heart rate was significantly higher in group 2 during all observation period ( $p=0.006$ ) while group 1 presented higher mean arterial pressure in comparison to group 2 during all experiment ( $p=0.003$ ) (Figure 1 and Table). There were no significant differences between the groups regarding PAP ( $p=0.20$ ),  $\text{PaO}_2$  ( $p=0.077$ ),  $\text{PaCO}_2$  ( $p=0.059$ ) and  $V_t$  ( $p=0.57$ ). (Table). Static compliance was significantly higher and  $R_{\text{est}}$  was significantly lower in group 2 when compared to group 1 ( $p=0.001$ ) (Figure 2,3 and Table).

There were no differences between both groups in the concentration of TBARS ( $p=0.10$ ), SOD ( $p=0.43$ ) and IL-8 ( $p=0.16$ ) (Figures 4, 5 and 6 respectively) during all observation period. However, it was observed a significant increase of TBARS in group 2 just after transplantation ( $p<0.001$ ) and at the end of the observation period ( $p<0.05$ ) when compared to baseline. SOD concentration in group 1 was significantly higher just after transplantation and at the end of the observation period when compared to baseline ( $p<0.05$ ). The IL-8 concentration was significantly higher in group 2 at the end of the observation period when compared to its initial values ( $p<0.05$ ). There was no difference in W:D ratio between the groups ( $p=0.98$ ).

At the end of the observation period both groups showed histological alterations of acute lung injury. However there was no difference in histological score in both groups ( $p=0.20$ ) (Figure 7).

## Discussion

There are scarce studies involving mechanical ventilation and experimental models of lung transplantation, which try to improve graft performance using protective ventilatory strategies or different ventilatory modes <sup>(8,16)</sup>. In our study we used two different levels of PEEP after unilateral lung transplantation in pigs. We showed that mechanical ventilation with higher PEEP (10cmH<sub>2</sub>O) in a pressure controlled mode improved lung compliance and reduced airways resistance, however this findings were not considered important enough to bring additional benefits when compared to lower PEEP (5cmH<sub>2</sub>O).

When we analyzed blood gas exchange, higher PEEP was not associated to better oxygenation. Although PaO<sub>2</sub> increased and PaCO<sub>2</sub> decreased along the postoperative period, these findings were similar in both groups. These observations contrast with studies of protective mechanical ventilation in ARDS patients, which demonstrate better gas exchange and survival with higher PEEP levels <sup>(9,10)</sup>.

The heart rate was higher in group of 10cmH<sub>2</sub>O PEEP probably because of the use of high doses of vasopressor drugs (ephedrine) in these animals, which presented persistent hypotension after transplantation, probably due to the deleterious effects of higher PEEP levels on hemodynamic performance, increasing intrathoracic pressure and resulting in a substantial decrease in cardiac output, as described by others <sup>(17,18)</sup>.

Our ventilatory findings agreed with similar studies that evaluated the effects of increasing levels of PEEP at constant tidal volume, which resulted in higher compliance and lower resistance <sup>(16,24)</sup>. Several studies have showed experimental and clinical evidence showed that lung protective ventilatory strategies and open lung strategies influence the progression of lung injury <sup>(20,25,26,27)</sup>.

The pathological findings of our study showed severe acute lung injury in both groups after transplantation and at the end of the observation period, showing that these lungs were less suitable to alveolar recruitment due to severe acute lung injury associated to the long cold ischemic period.

The increase in TBARS concentration in both groups after transplantation represents an activation of free radical oxygen species that can be deleterious to lung performance and may be only a result of the ischemia-reperfusion injury itself, with no relationship with the different PEEP levels. However, the increase in TBARS concentration in group 2 along the observation period compared to the baseline suggested a deleterious effect associated with higher levels of PEEP. Although we did not observe any difference in both groups regarding SOD expression after transplantation, the 5cmH<sub>2</sub>O PEEP group showed a significant increase in SOD compared to the baseline, suggesting less injurious ventilation associated with the presence of lower PEEP levels.

There were no differences in inflammatory response between both groups after transplantation. Nevertheless, the higher concentration of IL-8 in group 2 corroborate with Santiago et al who studied lung recruitment in an animal model of lung injury using higher PEEP and showed modest but consistent increase in inflammatory and fibrogenic response, which worsened lung function and potentiated alveolar injury <sup>(11)</sup>. It has been demonstrated that high IL-8 expression levels in transplanted lungs are associated with the degree of clinical impairment following lung transplantation and a higher incidence of early severe ischemia–reperfusion injury <sup>(21,22,23)</sup>.

Our model of lung transplantation produced a severe lung injury, which could be associated to the long cold ischemic time. This limitation forced us to use a relatively short observation period. Perhaps, the injury was extremely severe that impeded differences

between the different PEEP levels. Possibly, shorter cold ischemic time could produce less injury and the effects of ventilation on the transplanted lungs could be more evident.

We concluded that using this experimental model of lung transplantation, PEEP of 10 cmH<sub>2</sub>O showed better respiratory mechanic performance, no benefit on gas exchange, inflammatory and oxidative stress response, and negative hemodynamic impact. Further studies, involving different ischemic time and alternative methods of protective lung ventilation, should be carried out in order to determine the best ventilatory strategy in postoperative period after lung transplantation.

## References

1. Christie J, Sager J, Kimmel S, Ahya V, Gaughan C, Blumenthal N, Kotloff R: Impact of primary graft failure on outcomes following lung transplantation. *Chest*. 2005;127(1):161-165.
2. Knudsen L, Waizy H, Fehrenbach H, Richter J, Wahlers T, Wittwerand T, Ochs M. Ultrastructural changes of the intracellular surfactant pool in a rat model of lung transplantation-related events. *Respir Research*. 2011;12:79.
3. Lee JC, Christie JD. Primary graft dysfunction. *Clin Chest Med*. 2011;32(2):279-93.
4. Ricard JD, Dreyfuss D, Saumon G. Ventilator-induced lung injury. *Eur Respir J*. 2003;22:2s-9s.
5. Dos Santos CC, Slutsky AS. Mechanisms of ventilator-induced lung injury: a perspective study. *J appl Physiol*. 2000;89:1645-55.

6. Silva CAM, Carvalho RS, Cagido VR, Zin WA, Tavares P, DeCampos IC. Influence of lung mechanical properties and alveolar architecture on the pathogenesis of ischemia-reperfusion injury. *Inter Cardiovasc and Thorac Surg.* 2010;11:46-51.
7. De Perrot M. Effect of ventilator-induced lung injury on the development of reperfusion injury in a rat lung transplant model. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2002;124:1137-44.
8. Felix EA, Andrade CF, Cardoso PFG, Thiesen GC, Antonio ACP, Martins LK, Tonietto TA. Ventilation strategy and its influence on the functional performance of lung grafts in an experimental model of single lung transplantation using non-heart-beating donors. *Jornal Brasileiro de Pneumologia.* 2010;36(5):554-61.
9. Feng-mei G, Jing-jing D, Xin S, Hui-ying X and Yi S. Effects of different levels of end-expiratory positive pressure on lung recruitment and protection in patients with acute respiratory distress syndrome. *Chin Med J.* 2008;121(22):2218-2223.
10. Moloney ED, Griffiths MJ. Protective ventilation of patients with acute respiratory distress syndrome. *Br J Anaesth.* 2004;92:261-270.
11. Andrade CF, Martins LK, Tonietto T, Koefender C, Anflor Jr LC, Silva NB, Felicetti JC, Camargo JJP, Fortis EA, Cardoso PFG. Partial liquid ventilation with perfluorodecalin following unilateral canine lung allotransplantation utilizing non-heart-beating donors. *J Heart Lung Transplant.* 2004;23(2):241-250.
12. Pearce, M. L., Yamashita, J., and Beazell, J. Measurement of Pulmonary Edema. *Circ Res.* 1965;16:482-8.

13. Müller C, Hoffmann H, Bittmann L. Hypothermic storage alone in lung preservation for transplantation: A metabolic, light microscopic and functional analysis after 18 hours of preservation. *Transplantation*. 1997;63(5):625.
14. Buege, J. A. and Aust, S. D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1978;52:302-10.
15. Maehly, A.C. and Chance, B. The assay of catalases and peroxidases: methods of biochemical analysis. *Methods of Biochemical Analysis*. 1954;1:357-424.
16. Mädke GR, Pilla ES, Sanchez PG, Foergens R, Grün G, Vendrami G, Fontena E, Andrade CF, Cardoso PFG. The effects of positive end-expiratory pressure in alveolar recruitment during mechanical ventilation in pigs. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2008;23(4):310-14.
17. Abraham E, Yoshihara GRRT. Cardiorespiratory effects of pressure controlled ventilation in severe respiratory failure. *Chest*. 1990;98:1445-1449.
18. Carraretto AR. Estudo comparativo dos efeitos hemodinâmicos e ventilatórios da ventilação controlada a volume ou a pressão, em cães submetidos ao pneumoperitônio. (Dissertação (Mestrado em Anestesiologia)). Faculdade de Medicina, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2002.
19. Santiago VR, Rzezinski AF, Nardelli LM, Silva JD, Garcia CS, Maron-Guiterrez T, Ornellas DS, Morales MM, Capelozzi VL, Marini J, Pelosi P, Rocco PR. Recruitment maneuver in experimental acute lung injury: the role of alveolar collapse and edema. *Crit Care Med*. 2010;38(11):2207-14.
20. Verbrugge SJC, Lachmann B, Kesecioglu J. Lung protective ventilatory strategies in acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: from experimental findings to clinical application. *Clin Physiol Imaging*. 2007;27:67-90.

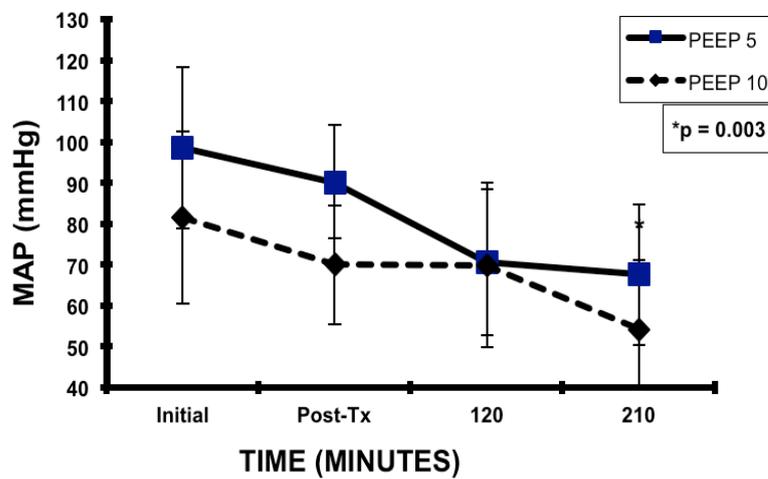
21. Fisher AJ, Donnelly SC, Hirani N et al. Elevated levels of interleukin-8 in donor lungs is associated with early graft failure after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163:259–265.
22. Mal H, Dehoux M, Sleiman C, Boczkowski J, Leseche G, Pariente R. Early release of pro-inflammatory cytokines after lung transplantation. *Chest.* 1998;113:645-51.
23. De Perrot M, Sekine Y, Fischer S et al. Interleukin-8 release during early reperfusion predicts graft function in human lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:211–215.
24. Acute National Heart Lung and Blood Institute ARDS Clinical Trials Network. Higher versus lower positive end-expiratory pressures in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2004;351:327-336.
25. Amato MBO, Barbas CS, Medeiros DM, Magaldi RB, Schettino GPP, Filho GI, Kairalla RA, Deheinzelni D. Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 1998;338:347-54.
26. Briel M, Meade M, Mercat MA, Brower RG, Talmor D, Walter SD, Slutsky A, Pullenayegum E, Zhou Q, Cook D, Brochard L, Richard JC, Lamontagne F, Bhatnagar N, Stewart TE, Guyatt G. 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.
27. Brower RG, Lanken PN, MacIntyre N, Matthay MA, Morris A, Ancukiewicz M, Schoenfeld D, Thompson BT: Higher versus lower positive end-expiratory pressures in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2004;351:327-336.

## Annex

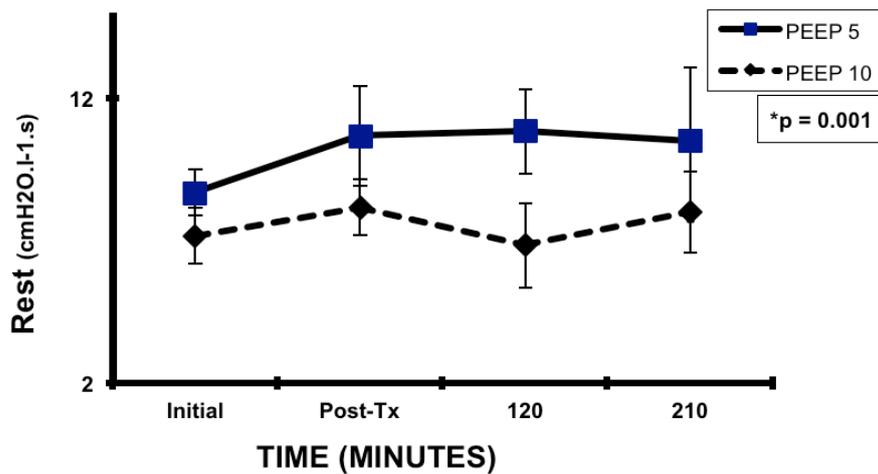
**Table**

Hemodynamics				
	Baseline	Post-Tx	120 min	210 min
		<i>PEEP 5 cmH<sub>2</sub>O</i>		
MAP, mmHg	98,6 ± 19,7	90 ± 13,9	70,6 ± 17,7	67,6 ± 17,2
HR, beats/min	89,1 ± 9,2	129,1 ± 10,4	147,5 ± 12,4	144,4 ± 10,2
		<i>PEEP 10 cmH<sub>2</sub>O</i>		
MAP, mmHg	81,5 ± 21,1	70 ± 14,5	69,8 ± 20,1	54,2 ± 16,9
HR, beats/min	89,6 ± 8,9	145,6 ± 12,1	194,5 ± 12,4	196 ± 13,1
Gas exchange				
	Baseline	Post-Tx	120 min	210 min
		<i>PEEP 5 cmH<sub>2</sub>O</i>		
PaO <sub>2</sub> cmH <sub>2</sub> O	265,7 ± 32,5	230,3 ± 28,5	212,2 ± 25,1	198,6 ± 18,9
PaCO <sub>2</sub> cmH <sub>2</sub> O	41,4 ± 9,8	52,1 ± 9,2	51,6 ± 8,7	54,2 ± 10,5
		<i>PEEP 10 cmH<sub>2</sub>O</i>		
PaO <sub>2</sub> cmH <sub>2</sub> O	333,4 ± 30,8	187,6 ± 20,1	240,8 ± 20,9	233,1 ± 19,3
PaCO <sub>2</sub> cmH <sub>2</sub> O	34,3 ± 6,4	32,8 ± 8,6	54 ± 10,8	49,7 ± 11,4
Respiratory mechanics				
	Baseline	Post-Tx	120 min	210 min
		<i>PEEP 5 cmH<sub>2</sub>O</i>		
C <sub>st</sub> , cmH <sub>2</sub> O.l-1.s	24 ± 5,7	18 ± 4,4	17 ± 1,7	17 ± 3,4
R <sub>est</sub> , cmH <sub>2</sub> O.l-1.s	8,6 ± 0,8	10,6 ± 1,7	10,8 ± 1,4	10,5 ± 2,5
		<i>PEEP 10 cmH<sub>2</sub>O</i>		
C <sub>st</sub> , cmH <sub>2</sub> O.l-1.s	31 ± 5,8	23 ± 1,8	24 ± 2,4	24 ± 5,5
R <sub>est</sub> , cmH <sub>2</sub> O.l-1.s	7,1 ± 7,9	8,1 ± 0,9	6,8 ± 1,4	8 ± 1,4

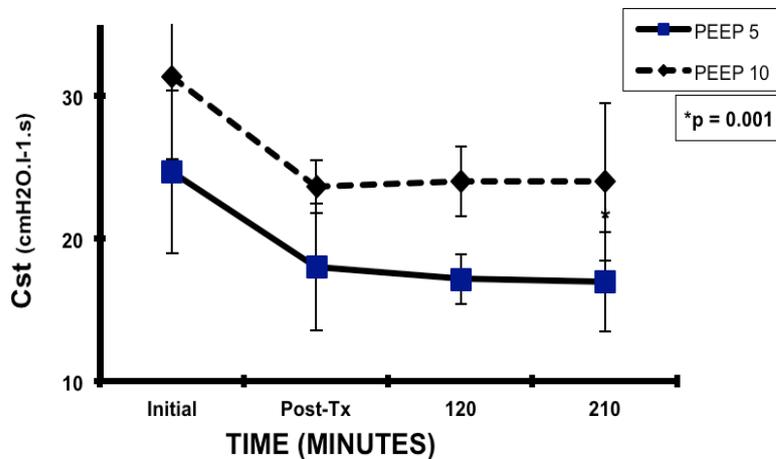
Values are means ± SE. MAP, mean arterial pressure; HR, heart rate; PAP, pulmonary arterial pressure; PaO<sub>2</sub>, partial pressure of arterial oxygen; PaCO<sub>2</sub>, partial pressure of arterial carbon dioxide; C<sub>st</sub>, static compliance; R<sub>est</sub>, airway resistance.



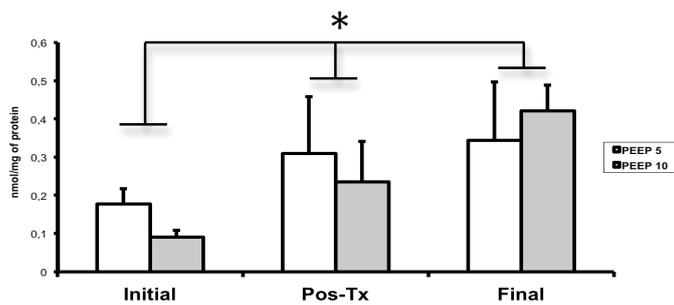
**Figure 1.** Effects of mechanical ventilation with two different PEEP levels on mean arterial pressure at initial time, after transplantation and after 120 and 210 minutes. The MAP was statistically higher in group 1 (PEEP 5) when compared with group 2 (PEEP 10) ( $p=0.003$ ). Data are mean  $\pm$  standard error of the mean.



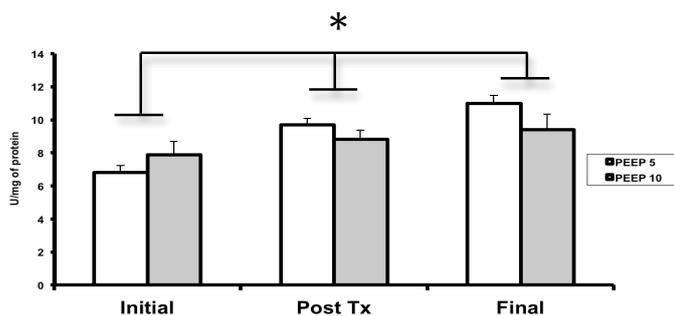
**Figure 2.** Effects of mechanical ventilation with two different PEEP levels on airway resistance at initial time, after transplantation and after 120 and 210 minutes. The  $R_{est}$  was statistically higher in group 1 (PEEP 5) when compared with group 2 (PEEP 10) ( $p=0.001$ ). Data are mean  $\pm$  standard error of the mean.



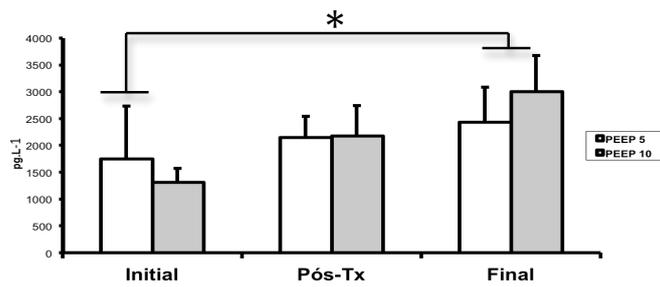
**Figure 3.** Effects of mechanical ventilation with two different PEEP levels on airway compliance at initial time, after transplantation and after 120 and 210 minutes. The  $C_{st}$  was statistically higher in group 2 (PEEP 10) when compared with group 1 (PEEP 5) ( $p=0.001$ ). Data are mean  $\pm$  standard error of the mean.



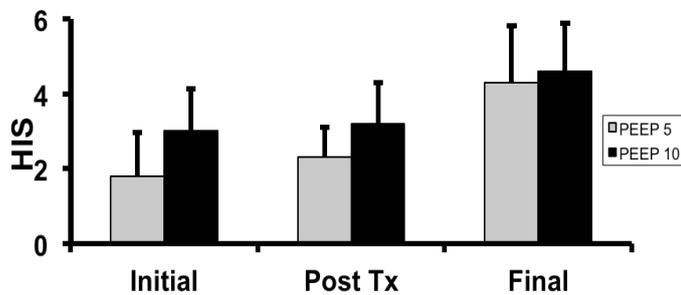
**Figure 4:** Effects of mechanical ventilation with two different PEEP levels on pulmonary lipid peroxidation at initial time, after transplantation (post-tx) and after observation period (final), evaluated using TBARS assay. There is no difference among groups ( $p=0.10$ ). TBARS was significantly higher after transplantation and at the end of the observation period in group 2 (PEEP 10) when compared to initial values ( $*p<0.001$ ). Data are mean  $\pm$  standard error of the mean.



**Figure 5:** Effects of mechanical ventilation with two different PEEP levels on pulmonary activity of Superoxide Dismutase at initial time, after transplantation (post-tx) and after observation period (final), evaluated using SOD assay. There was no difference between both groups ( $p=0.43$ ). SOD was significantly higher after transplantation and at the end of the observation period in group 1 (PEEP 5) when compared to initial values ( $*p<0.05$ ). Data are mean  $\pm$  standard error of the mean.



**Figure 6:** Effects of mechanical ventilation with two different PEEP levels on IL-8 expression at initial time, after transplantation (post-tx) and after observation period (final). IL-8 expression was significantly higher at the end of the observation period in group 2 (PEEP 10) when compared to initial values (\* $p < 0.05$ ). There was no difference between both groups ( $p = 0.16$ ). Data are mean  $\pm$  standard error of the mean.



**Figure 7:** Histological score at initial time, after transplantation (post-tx) and at the end of the observation period (final) in lungs ventilated with two different PEEP levels. HIS (histological score) demonstrated no difference in between both groups ( $p = 0.20$ ). Histological analysis showed severe lung injury in both groups.

## 6. CONCLUSÕES

---

A utilização de dois níveis diferentes PEEP em ventilação mecânica controlada a pressão apresentou efeitos sobre o desempenho de enxertos pulmonares nos pós operatório em modelo suíno de transplante pulmonar unilateral esquerdo .

A ventilação mecânica com PEEP alta (10cmH<sub>2</sub>O) influenciou positivamente o desempenho dos enxertos em relação aos parâmetros de mecânica respiratória, tendo apresentado uma melhora da complacência e da resistência pulmonar comparado ao uso de PEEP baixa (5cmH<sub>2</sub>O), porém sem resultar em melhora nas trocas gasosas, além de ter ocasionado um impacto hemodinâmico negativo em relação a uma das variáveis avaliadas (pressão arterial média).

Nosso estudo demonstrou também que a ventilação mecânica com PEEP alta promove um aumento significativo da resposta inflamatória e do estresse oxidativo ao longo do período de 210 minutos de observação pós transplante quando comparado ao período inicial de observação, apesar de não ter sido demonstrado diferença em relação ao grupo ventilado com PEEP baixa.

As alterações histopatológicas encontradas nos pulmões dos animais de ambos os grupos foram características de lesão pulmonar aguda e não apresentaram correlação com nível de PEEP utilizada.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

O presente estudo é inédito por testar especificamente em um modelo experimental de transplante pulmonar em animal de médio porte, qual o valor da PEEP que eventualmente proporciona um melhor desempenho do enxerto pulmonar nos primeiros 210 minutos avaliação pós-operatória.

Nosso trabalho forneceu importantes informações sobre o uso da PEEP em pulmões transplantados após um período longo de isquemia. Observamos que 16 horas de isquemia fria não nos permitiu que realizássemos uma avaliação por um tempo mais prolongado nos animais estudados, devido a grande instabilidade hemodinâmica e dificuldade de manutenção destes animais. Talvez isto tenha prejudicado nossos resultados em relação a ventilação pois os animais apresentaram uma lesão pulmonar de reperfusão muito severa.

Demonstramos que o uso de altos níveis de PEEP, apesar de melhorar o desempenho funcional dos enxertos em alguns aspectos, parece influenciar negativamente em relação à resposta inflamatória e ao estresse oxidativo..

Estes resultados impulsionarão novos estudos experimentais na busca para melhorar os cuidados pós operatórios de pulmões transplantados através de estratégias ventilatórias mais eficientes e que melhorem o desempenho dos enxertos e sejam menos agressivas naqueles pulmões já comprometidos pela lesão de reperfusão.