Norberto Antonio Freddi

Avaliação dos efeitos da adição do polietilenoglicol ao
surfactante pulmonar exógeno na função pulmonar, em
um modelo experimental de síndrome de desconforto
respiratório tipo agudo

Tese apresentada ao Departamento de
Pediatria da Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Pediatria
Orientador: Prof. Dr. Flávio Adolfo Costa Vaz

São Paulo

2005

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Reprodução autorizada pelo autor

Freddi, Norberto Antonio

Avaliação dos efeitos da adição de polietilenglicol ao surfactante pulmonar
exógeno na função pulmonar, em um modelo experimental de síndrome de
desconforto respiratório tipo agudo / Norberto Antonio Freddi. – São Paulo,
2005.

Tese(doutorado)–Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Pediatria.

Área de concentração: Pediatria.

Orientador: Flávia Adalfo Costa Var.

Descrição: 1.SURFACTANTES PULMONARES 2.SÍNDROME DO
DESCONFORTO RESPIRATÓRIO DO ADULTO 3.POLIETILENOS 4.MECÂNICA
RESPIRATÓRIA/efeitos de drogas 5.TENSIOATIVOS/uso terapêutico 6.COELHOS

USP/FM/SBD-207/05

DEDICATÓRIA

Ao meu pai Divo e minha mãe Odette, que me possibilitaram entender o sentido do amor, do viver e que não pouparam sacrifícios para que eu pudesse estudar e me tornar um profissional na área que escolhi.

À minha irmã e amiga Maria Amélia que deu exemplo de coragem, luta e amor pela vida.

À razão maior do meu viver que são meus filhos Tomás, Marcelo e Francisco. São Paulinos que me surpreendem dia a dia com provas de compreensão, amor e amizade.

Às minhas sobrinhas-filhas Ana Carolina, Ana Gabriela e Ana Amélia, que me levam a valorizar dia a dia o amor.

À Maria Júlia, companheira única que me proporcionou os melhores momentos da vida junto aos meus filhos.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Flávio Adolfo Costa Vaz pela orientação, apoio, disponibilidade e estímulo no desenvolvimento desta tese.

Ao Prof. Dr. Flávio Adolfo Costa Vaz e ao Prof. Dr. Yassuhiko Okay, pela oportunidade de voltar a freqüentar o Instituto da Criança, no laboratório da Unidade de Pesquisa Experimental e poder desenvolver este trabalho.

Ao Departamento de Pediatria da FMUSP, ao Instituto da Criança, à todas as pessoas, amigos e crianças com quem tive a oportunidade de conviver no meu aprendizado de pediatria e que me ajudaram a desenvolver o amor e o sentido pela especialidade.

Ao Instituto da Criança, que propiciou o suporte financeiro para a aquisição do material necessário para a execução desta Tese de Doutorado.

Ao Dr. Celso Moura Rebello, alma do Laboratório Experimental, inteligente, sempre achando o melhor caminho e a melhor solução na resolução dos

problemas com uma serenidade invejável e, que sem ele este trabalho não existiria.

Aos amigos do trabalho no laboratório da Unidade de Pesquisa Experimental. Fisioterapeuta Luciana Haddad, que ajudou de maneira decisiva no decorrer do trabalho com sua habilidade manual, capacidade de trabalho e disponibilidade. Às fisioterapeutas Aline Rabelo, Roberta Manzano pela participação ativa no desenvolvimento do projeto. Ao amigo kartista Marcelo S. Santos na ajuda fundamental do dia a dia do laboratório.

Ao Dr. Marcelo Britto Passos Amato com toda sua humildade apesar de todo seu saber e à bióloga Susimeire Gomes do Laboratório de Pneumologia Experimental do Departamento de Clínica Médica pela disponibilidade de materiais e ajuda em momentos de dúvidas e dificuldades.

Ao Prof. Dr. Paulo Hilário Saldiva e Dra. Thais Mauad, pela disposição e conhecimento que foram importantes no adequado encaminhamento das questões de histopatologia.

Ao Dr. Felipe Rossi surfista de temperamento italiano e bom companheiro de todos os momentos de dificuldade na implantação do projeto.

A todos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Medicina da USP pela ajuda no decorrer destes anos e na parte final deste trabalho.

À Dra. Alice Deutsch, amiga de muitos anos, e que como responsável pelo Serviço de Neonatologia do Hospital Israelita Albert Einstein permitiu que compensasse horas de meu trabalho para poder participar de atividades inerentes à Pós-Graduação, e sempre me estimulou no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Dr. Alexandre Rotta e sua esposa Andréa pela maneira que me receberam durante minha estada no laboratório experimental da Faculdade de Medicina de Buffalo , New York, e Alex pela disponibilidade em sempre poder passar sua experiência com projeto semelhante ao que desenvolvemos.

Ao Dr. Jefferson Pedro Piva amigo de muitas lutas na SBP e AMIB e que foi muito importante, com sua experiência, no início do desenvolvimento do modelo animal deste trabalho do laboratório da Unidade de Pesquisa Experimental do Instituto da Criança.

Ao amigo, Dr. Eduardo Juan Troster, pela ajuda fundamental no interesse pelo nosso trabalho, grande incentivador de todas as horas, líder nato, com uma visão sempre otimista de tudo na vida, exemplo de médico e admirável na procura incessante pelo conhecimento.

À Dra. Thelma Okay pela disponibilidade em dispor do laboratório para o estudo.

À Prof. Dra. Maria Esther Jurfest Rivero Ceccon pelo estímulo e ajuda na correção deste trabalho.

À Prof. Dra. Vera Lúcia Jornada Krebs pelo estímulo no desenvolvimento deste trabalho.

À Prof. Dra. Silvia Regina Brandalise pediatra de rara inteligência, professora exemplar, com capacidade de luta ímpar no que se possa ajudar às crianças, o que me serviu de exemplo, e que muito me ensinou.

À Ana Paula Silva com interesse incomum e que muito auxiliou na coleção de dados, em inúmeros cálculos matemáticos e digitações, sempre com estímulo e apoio.

À Dra. Renata Mascaretti pela ajuda sempre que necessária no laboratório da Unidade de Pesquisa Experimental e pelas sugestões na leitura de lâminas na microscopia.

Ao Dr. Alexander Roberto Precioso pela ajuda sempre que necessária no laboratório da Unidade de Pesquisa Experimental.

Aos amigos da CEDUPI Guido, Mauro, Gabriel, Mendonça, Jorge, Margaritelli e Mônica pela ajuda, apoio e incentivo.

À Dra. Marta Mataloun pela ajuda na avaliação da microscopia e pelo incentivo.

À Dra. Ana Escobar amiga de boas palavras de incentivo e apoio.

Às amigas Dra. Nilzete Liberato Bresolin e Dra. Vera Regina Fernandes que, mesmo de longe, sempre estiveram junto com interesse e apoio.

Ao grupo de amigos da AMIB, particularmente ao presidente Dr. José Maria Costa Orlando, e ao Dr. José Oliva Proença pelas palavras de estímulo, e pelas substituições em aulas nas quais não pude estar presente, por estar envolvido neste projeto.

À equipe multiprofissional do berçário do Hospital Israelita Albert Einstein, que no dia a dia sempre mostrou interesse e me incentivou no desenvolvimento deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	7
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	9
3.1. Obtenção e preparo dos dos animais.....	10
3.2. Instalação do modelo de SDRA.....	12
3.3. Formação dos grupos de estudo e início da ventilação.....	13
3.4. Curva pressão-volume e manipulação dos pulmões.....	15
3.5. Histopatologia pulmonar.....	16
3.6. Métodos analíticos.....	17
3.7. Análise estatística.....	17
3.8. Desenho do estudo.....	19
4. RESULTADOS.....	20
5. DISCUSSÃO.....	46
5.1. A escolha da espécie animal.....	47
5.2. Modo de instalação da SDRA.....	48
5.3. Manipulação dos animais.....	50
5.4. Características dos grupos de estudo.....	51
5.5. Comparação dos valores da última lavagem com a confirmação após 5 minutos.....	52
5.6. Efeito da adição do PEG ao surfactante exógeno.....	53
5.7. Considerações finais.....	58
6. CONCLUSÕES.....	61
7. ANEXO.....	63
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	108

LISTA DE ABREVIATURAS

SDR	- Síndrome do desconforto respiratório do recém-nascido
SDRA	- Síndrome do desconforto respiratório tipo agudo
PEG	- Polietilenoglicol
FMUSP	- Faculdade de Medicina da USP
LIM	- Laboratório de Investigação Médica
CAPPesq	- Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da FMUSP
FR	- Frequência respiratória
PIP	- Pressão inspiratória
PEEP	- Pressão expiratória positiva final
Ti	- Tempo inspiratório
Te	- Tempo expiratório
FiO₂	- Fração inspirada de O ₂
H₂O	- Água
PaO₂	- Pressão parcial arterial de oxigênio
PaCO₂	- Pressão parcial arterial de gás carbônico
O₂	- Oxigênio
F.C.	- Frequência cardíaca
P.A.	- Pressão arterial sistêmica
P.A.M.	- Pressão arterial sistêmica média
D(A-a)O₂	- Diferença alvéolo arterial de oxigênio
(a/A)O₂	- Relação artério-alveolar de oxigênio
PaO₂/FiO₂	- Relação pressão parcial arterial de oxigênio – Fração inspirada de oxigênio
PB	- Pressão barométrica
PH₂O	- Pressão de vapor de água
IEV	- Índice de eficiência ventilatória
I.O.	- Índice de oxigenação
p.H.	- Concentração hidrogeniônica
L.M.	- Diâmetro alveolar médio
I.D.	- Índice de distorção
DPPC	- Dipalmitoilfosfatidilcolina saturada
SP-A	- Proteína A do surfactante
SP-B	- Proteína B do surfactante
SP-C	- Proteína C do surfactante
SP-D	- Proteína D do surfactante

RESUMO

FREDDI, N.A. Avaliação dos efeitos da adição de polietilenoglicol ao surfactante pulmonar exógeno na função pulmonar em um modelo experimental de síndrome de desconforto respiratório tipo agudo.

São Paulo, 2005. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

INTRODUÇÃO: Embora a Síndrome de Desconforto Respiratório do Tipo Agudo (SDRA) tenha sido associada a uma disfunção qualitativa e quantitativa do sistema surfactante pulmonar, a sua reposição não tem sido associada a uma melhora sustentada na função pulmonar ou a uma redução na taxa de mortalidade. É descrito que a adição de polímeros ao surfactante exógeno, como o polietilenoglicol (PEG), possa reduzir a sua inativação pelas proteínas presentes no edema alveolar.

OBJETIVO: Avaliar os efeitos da adição do PEG ao surfactante exógeno na mecânica e na oxigenação pulmonar, em um modelo experimental de SDRA.

MÉTODOS: Após a obtenção de um modelo experimental de SDRA submetendo coelhos adultos da raça New-Zealand-White a lavagens pulmonares com soro fisiológico aquecido, dois grupos de estudo foram constituídos, de acordo com o tipo de surfactante exógeno utilizado para o tratamento: Surfactante (100 mg/kg Curosurf® - Farmalib Chiesi Pharmaceuticals) ou PEG (Curosurf®, 100 mg/kg adicionado de PEG a 5% - massa/volume). Os animais foram ventilados durante quatro horas com FiO_2 , 1,0; frequência respiratória, 50; PEEP, 8 cmH_2O e PIP necessária para manter um volume-corrente alvo de 10ml/kg, sendo realizadas avaliações da complacência pulmonar dinâmica, pressão ventilatória (PIP - PEEP), análise dos gases sanguíneos arteriais, e dos dados hemodinâmicos a cada 30 minutos. Após o sacrifício, foi realizada uma curva pressão-volume pulmonar, os pulmões foram removidos do tórax e fixados em formol através da perfusão pela artéria pulmonar com 10 cmH_2O de pressão durante 24 horas. Fragmentos obtidos abaixo do hilo do lobo inferior do pulmão

direito foram fixados, corados com HE e examinados por microscopia ótica para avaliação do diâmetro alveolar médio (Lm) e do índice de distorção, para avaliação do tamanho e da assimetria alveolar respectivamente. A análise estatística foi realizada através do test t-Student ou pelo teste de qui-quadrado, conforme indicado. O nível de significância adotado foi de $p=0,05$.

RESULTADOS: Não foram observadas diferenças entre os dois grupos de estudo em relação à pressão arterial média, ao volume corrente, à complacência pulmonar dinâmica, à pressão ventilatória, ao índice de oxigenação, à diferença alvéolo-arterial de oxigênio, à relação artério-alvéolar de oxigênio, à pressão parcial arterial de gás carbônico, ao pH, ao índice de eficiência respiratória, à curva P-V, ao Lm e ao índice de distorção.

CONCLUSÕES: A adição de polietilenoglicol ao surfactante exógeno não melhorou a função mecânica pulmonar, oxigenação ou tamanho e assimetria alveolar, comparada à utilização de um preparado comercial de surfactante neste modelo experimental de SDRA, sendo que ambos grupos de animais apresentaram melhora acentuada e comparável na função respiratória, após o tratamento.

Descritores: surfactantes pulmonares, síndrome do desconforto respiratório do adulto, polietilenos, mecânica respiratória/efeitos de droga, tensoativos/uso terapêutico, coelhos.

SUMMARY

FREDDI, N. A. **Lung Mechanics and Pulmonary Function After Polyethyleneglycol Addition to the Exogenous Surfactant in an Experimental Model of ARDS.** São Paulo, 2005. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

INTRODUCTION: Although ARDS have been associated with qualitative and quantitative pulmonary surfactant dysfunction, its replacement have not been associated with sustained improvement in lung function or reduction in mortality rates. Polymers like polyethyleneglycol (PEG) are known to reduce surfactant inactivation.

OBJECTIVE: To evaluate the improvement in lung mechanics and pulmonary function with the addition of PEG to a surfactant used to treat ARDS.

METHODS: After obtaining an experimental model of ARDS submitting New-Zealand-White rabbits to repeated lung lavages, animals were randomized to two study groups, according to the type of surfactant used for treatment: Surfactant (100 mg/kg Curosurf® -Farmalab Chiesi Pharmaceuticals) or PEG (Curosurf®, 100 mg/kg additioned with 5%PEG - mass/vol). Dynamic compliance (DC), ventilatory pressure, blood gas analysis, and hemodynamic data were obtained during 4 h ventilation with FiO₂, 1.0; respiratory rate, 50; PEEP, 8 cmH₂O; and PIP necessary to obtain a target tidal volume (T_v) = 10 ml/kg. After sacrifice, a quasi-static PV curve was performed, the lungs were removed from thorax and fixed with formalin through pulmonary artery perfusion at 10 cmH₂O pressure. Lung slices from right lower lobe were stained with hematoxylin and eosin (HE) and examined for mean alveolar diameter (L_m) and distortion index, in order to evaluate alveoli size and asymmetry. Statistical analysis was by Student-t test or chi-square test, as indicated. Significance level was set at p = 0.05.

RESULTS: Differences were not observed among the two study groups in relationship: medium arterial blood pressure, tidal volume, dynamic compliance, ventilatory pressure, oxygenation index, alveolar-arterial

difference of oxygen, arterio-alveolar relationship of oxygen, arterial tension of carbon gas, pH, ventilatory efficiency index, pressure-volume curves, mean alveolar diameter (Lm) and distortion index.

CONCLUSIONS: The addition of PEG did not improve lung mechanics, function, or alveoli size and asymmetry, compared to the original commercial surfactant in this experimental model of ARDS and both groups of animals present accentuated improvement and comparable in the breathing function, after the surfactant instillation.

Descriptors: pulmonary surfactants, adult respiratory distress syndrome, polyethylenes, respiratory mechanics/drug effects, surface-active agents /therapeutic use, rabbits.