

Enrique Correger<sup>1,2</sup>, Josefina Marcos<sup>1,3</sup>,  
Graciela Laguens<sup>4</sup>, Pablo Stringa<sup>1,5</sup>, Pablo  
Cardinal-Fernández<sup>6</sup>, Lluís Blanch<sup>7</sup>

# Tratamento prévio com adalimumabe reduz lesão pulmonar induzida por ventilação mecânica em um modelo experimental

*Pretreatment with adalimumab reduces ventilator-induced lung injury in an experimental model*

1. Grupo de Trabalho em Fisiopatologia Pulmonar Experimental, Faculdade de Medicina, Universidad Nacional de La Plata - La Plata, Argentina.
2. Departamento de Terapia Intensiva, Hospital El Cruce - Buenos Aires, Argentina.
3. Departamento de Reumatologia, IPENSA La Plata - La Plata, Argentina.
4. Cadeira de Patologia, Faculdade de Medicina, Universidad Nacional de La Plata - La Plata, Argentina.
5. Laboratório de Transplante de Órgãos, Faculdade de Medicina, Universidad Nacional de La Plata - La Plata, Argentina.
6. Departamento de Emergência, Hospital Universitario HM Sanchinarro - Madri, Espanha.
7. Centro de Cuidados Intensivos, Corporació Sanitària Parc Taulí - Sabadell, Barcelona, Spain.

**Conflitos de interesse:** Nenhum.

Submetido em 29 de junho de 2018  
Aceito em 29 de setembro de 2019

**Autor correspondente:**

Enrique Correger  
Departamento de Terapia Intensiva, Hospital El Cruce  
Av. Calchaqui 5401 Buenos Aires 1888  
Argentina  
E-mail: enriquecorreger@yahoo.com.ar

**Editor responsável:** Alexandre Biasi Cavalcanti

DOI: 10.5935/0103-507X.20200010

## RESUMO

**Objetivo:** Determinar se a administração de adalimumabe previamente à ventilação mecânica reduz a lesão pulmonar induzida por ventilação mecânica.

**Métodos:** Randomizaram-se 18 ratos em três grupos submetidos à ventilação mecânica por 3 horas com uma fração inspirada de oxigênio de 0,40%. Os três grupos foram assim caracterizados: um grupo com baixo volume corrente (n = 6), no qual se utilizaram volume corrente de 8mL/kg e pressão expiratória final positiva de 5cmH<sub>2</sub>O; um grupo com alto volume corrente (n = 6), no qual se utilizaram volume corrente de 35mL/kg e pressão expiratória final positiva de zero; e um grupo pré-tratado com alto volume corrente (n = 6), no qual se administraram adalimumabe (100µg/kg) por via intraperitoneal 24 horas antes do início da ventilação mecânica, volume corrente de 35mL/kg e pressão expiratória final positiva de zero. Realizou-se ANOVA para comparação de dano histológico (com utilização de escores segundo o *ATS 2010 Lung Injury Scoring System*), edema pulmonar, complacência pulmonar, pressão parcial de oxigênio arterial e pressão arterial média entre os grupos.

**Resultados:** Após 3 horas de ventilação, o escore médio de lesão histológica pulmonar foi mais elevado no grupo com alto volume corrente do que no grupo com baixo volume corrente (0,030 versus 0,0051; p = 0,003). O grupo com alto volume corrente demonstrou complacência pulmonar diminuída após 3 horas (p = 0,04) e hipoxemia (p = 0,018 versus controle). O grupo alto volume corrente tratado previamente teve melhora do escore histológico, principalmente devido à redução significativa da infiltração leucocitária (p = 0,003).

**Conclusão:** O exame histológico após 3 horas de ventilação lesiva revelou lesão pulmonar induzida por ventilação mecânica na ausência de modificações mensuráveis na mecânica pulmonar e na oxigenação; a administração de adalimumabe antes da ventilação mecânica diminuiu o edema pulmonar e o dano histológico.

**Descritores:** Adalimumabe/administração & dosagem; Respiração artificial; Insuficiência respiratória; Lesão pulmonar induzida por ventilação mecânica

## INTRODUÇÃO

A síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) é uma das principais indicações para ventilação mecânica (VM). A SDRA e a MV têm impacto importante em termos de saúde pública, com taxas de mortalidade que variam entre 35% e 65%.<sup>(1,2)</sup> Embora seja uma intervenção que salva vidas, a



VM pode também provocar lesão pulmonar ou agravar lesão preexistente. Esta lesão pulmonar induzida por VM (LPIVM), que se caracteriza por edema e inflamação pulmonar, é indistinguível da lesão pulmonar aguda (LPA) de outras etiologias.<sup>(3)</sup> Forças biofísicas são responsáveis pela fisiologia pulmonar anormal, causando condição pró-inflamatória.<sup>(4)</sup> A resposta inflamatória resulta da liberação de citocinas, do recrutamento de leucócitos para o parênquima pulmonar e de um acentuado aumento da permeabilidade vascular, que desencadeia edema pulmonar e anomalia da função surfactante, levando à diminuição da complacência pulmonar (CP) e ao comprometimento da troca gasosa.<sup>(5-8)</sup>

Estratégias de ventilação protetora com base na utilização de baixo volume corrente (VC) podem reduzir, mas não eliminar o risco de LPIVM.<sup>(9-11)</sup> Tais estratégias se associam com diminuição da mortalidade em pacientes com SDRA.<sup>(12)</sup> Outras estratégias para atenuar a inflamação pulmonar podem também ajudar a diminuir a LPIVM. O fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), que é uma citocina pró-inflamatória, tem sido consistentemente implicado na patogênese da LPIVM, tanto em ensaios experimentais quanto clínicos.<sup>(13-17)</sup> Mais ainda, o recrutamento de neutrófilos é substancialmente atenuado em camundongos com *knockout* do receptor de TNF- $\alpha$  e naqueles com administração intratraqueal de anticorpo anti-TNF- $\alpha$ .<sup>(16)</sup>

O adalimumabe é um anticorpo monoclonal totalmente humano (IgG1 anti-TNF) que se liga de forma específica ao TNF- $\alpha$  solúvel transmembrana com alta afinidade, neutralizando a função biológica do TNF- $\alpha$ , por meio do bloqueio de sua interação com os receptores da superfície celular p55 e p 75 TNF- $\alpha$ . A ligação dos anticorpos com o TNF- $\alpha$  transmembrana induz uma cascata intracelular de sinalização, que resulta na liberação de cálcio intracelular, na produção de citocinas e na expressão de E-selectina, levando à apoptose.<sup>(18-21)</sup> Demonstrou-se, em estudos realizados em animais, que a indução de vias apoptóticas limita a inflamação pulmonar.<sup>(6,7)</sup>

O objetivo deste estudo foi determinar os efeitos do bloqueio de TNF- $\alpha$ , por meio de tratamento com adalimumabe antes do início da VM, nos parâmetros clínicos e histológicos relacionados ao edema pulmonar.

## MÉTODOS

### Animais e monitoramento

Estudamos 18 ratos adultos da raça Wistar (peso médio de 340g  $\pm$  15), mantidos em condições de controle macro e microambiental, com acesso à vontade a

alimentos e água antes da experimentação. Os ratos foram anestesiados com combinação de cetamina (80mg/kg) e xilazina (20mg/kg) por administração intraperitoneal. A seguir, aplicou-se lidocaína (10mg/kg) como anestésico local no tecido subcutâneo da região ventral do pescoço. Após estabelecimento de profundidade adequada de anestesia, os animais foram colocados em posição supina, sobre uma almofada de aquecimento, para evitar hipotermia durante o procedimento. Após ser realizada incisão na região cervical ventral, que ia desde a região caudal da mandíbula até o primeiro terço do tórax, foram dissecadas e canuladas a artéria carótida esquerda e a veia jugular direita com cateteres 24G Teflon. A linha arterial foi conectada a um monitor multiparâmetro Dyne MCO-300-07 (Argentina), para medir a pressão arterial média (PAM) durante o procedimento. Para manutenção de hidratação adequada, a linha venosa foi conectada a uma bomba de infusão para administração de solução salina normal (10mL/h) durante todo o estudo.

Os ratos foram traqueostomizados, sendo introduzida uma cânula através da traqueostomia e conectada ao ventilador mecânico (Neumovent GraphNet neo TECME®).

### Protocolo experimental

O Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da universidade aprovou o protocolo experimental. Após o monitoramento inicial, todos os animais foram ventilados por 20 minutos, utilizando uma das seguintes regulagens: ventilação com controle por volume, com ajuste do VC para 8mL/kg, pressão positiva expiratória final (PEEP) de 5cmH<sub>2</sub>O, onda quadrada, frequência respiratória de 80 movimentos por minuto e fração inspirada de oxigênio (FiO<sub>2</sub>) de 0,40 sem pausa inspiratória. O tempo inspiratório de 0,27 segundos e a frequência respiratória foram ajustados depois, para manter a pressão parcial de dióxido de carbono (PaCO<sub>2</sub>) arterial entre 45 e 55mmHg. A seguir os ratos foram randomizados para uma de três estratégias ventilatórias: (1) grupo com baixo VC (bVC), com seis animais, com VC de 8mL/kg e PEEP de 5cmH<sub>2</sub>O; (2) grupo com alto VC (aVC), com seis animais, com VC de 35mL/kg e PEEP de zero; ou (3) grupo pré-tratado aVC, com seis animais, no qual se administrou adalimumabe (100 $\mu$ g/mL 100 $\mu$ g/kg, 50mg/mL em água estéril, diluída em solução fisiológica para uma concentração de 500 $\mu$ g/mL)<sup>(21)</sup> por meio de injeção intraperitoneal 24 horas antes de iniciar a VM, com VC de 35mL/kg e PEEP de zero. Os animais nos grupos bVC e aVC foram submetidos à administração de quantidade equivalente de solução salina

24 horas antes do início da VM. Após a randomização, todos os animais foram ventilados por 3 horas com frequência respiratória de 80 movimentos por minuto, com ajuste da frequência respiratória para manter os valores pretendidos de  $\text{PaCO}_2$  e  $\text{FiO}_2$  de 0,40 sem pausa inspiratória, sendo os ajustes para VC e PEEP mantidos conforme o grupo de alocação. Quando se procedeu ao aumento do VC para os animais nos grupos aVC e pré-tratado aVC, foi obtido aumento do espaço morto de ventilação para atingir valores comparáveis de  $\text{PaCO}_2$  entre os três grupos. Ao final da VM, os ratos foram submetidos à eutanásia por exsanguinação. Imediatamente após o óbito, procedeu-se à remoção dos pulmões; o pulmão esquerdo foi irrigado com formaldeído 10% para estudo histopatológico, e o lobo inferior direito foi removido e pesado. O lobo pulmonar direito foi, então, colocado em forno a 60°C por 48 horas e novamente pesado, sendo, então, calculada a proporção entre o peso úmido e o peso seco (proporção W/D).

### Mensurações e cálculos

Para mensuração da PEEP, pressão de platô (Ppl) e VC para cálculo da CP [ $\text{CL} = \text{VC}/\text{Ppl} - \text{PEEP}$ ], utilizamos transdutores pulmonares neonatais (Pulmonary Monitor CP-100, Bicore Monitoring Systems; Irvine, CA, USA). Nos momentos de zero e 180 minutos, mensuramos a PAM, Ppl e o VC, e utilizamos um analisador sanguíneo portátil (i-Stat Handheld, Abbot Inc.; Princeton, NJ, USA) para mensuração da pressão parcial de oxigênio arterial ( $\text{PaCO}_2$ ),  $\text{PCO}_2$ , e pH no sangue obtido do cateter na artéria carótida.

### Análise histológica

Três secções pulmonares de cada animal, tanto acima quanto abaixo do hilo, foram selecionadas para análise histológica e coradas com hematoxilina e eosina. Um patologista, que foi mantido cego quanto ao tratamento recebido pelos animais, utilizou o sistema de escores *ATS 2010 Lung Injury Scoring System* para avaliar os seguintes parâmetros: (A) neutrófilos no espaço alveolar, (B) neutrófilos no espaço intersticial, (C) formação de membrana hialina, (D) material proteico intra-alveolar, e (E) espessamento septal alveolar;  $\text{escore} = [(20 \times A) + (14 \times B) + (7 \times C) + (7 \times D) + (2 \times E)]/(\text{número de } 100 \times \text{campos})$ .<sup>(7)</sup>

### Apoptose

Dois investigadores utilizaram microscópios de luz com magnificação de 40x, para avaliar duas lâminas

coradas com hematoxilina e eosina obtidas do pulmão de cada animal, para verificar critérios morfológicos de apoptose, definidos como densa condensação dos núcleos de leucócitos polimorfonucleares (PMN) ou presença de leucócitos PMN dentro de macrófagos. Estes achados são relatados como porcentagem de células apoptóticas.

### Análise estatística

Os dados foram expressos como a média  $\pm$  desvio padrão (DP). Para comparar as variáveis entre os grupos, utilizamos análise de variância ANOVA ou o teste *t* de Student, conforme apropriado, considerando valor de  $p < 0,05$  como significativo. Para todas as análises estatísticas, utilizamos o programa Statistix 9 (Analytical Software; Tallahassee, FL, USA).

Para a construção dos gráficos, foi usado o programa GraphPad, versão 5.0 (San Diego, CA).

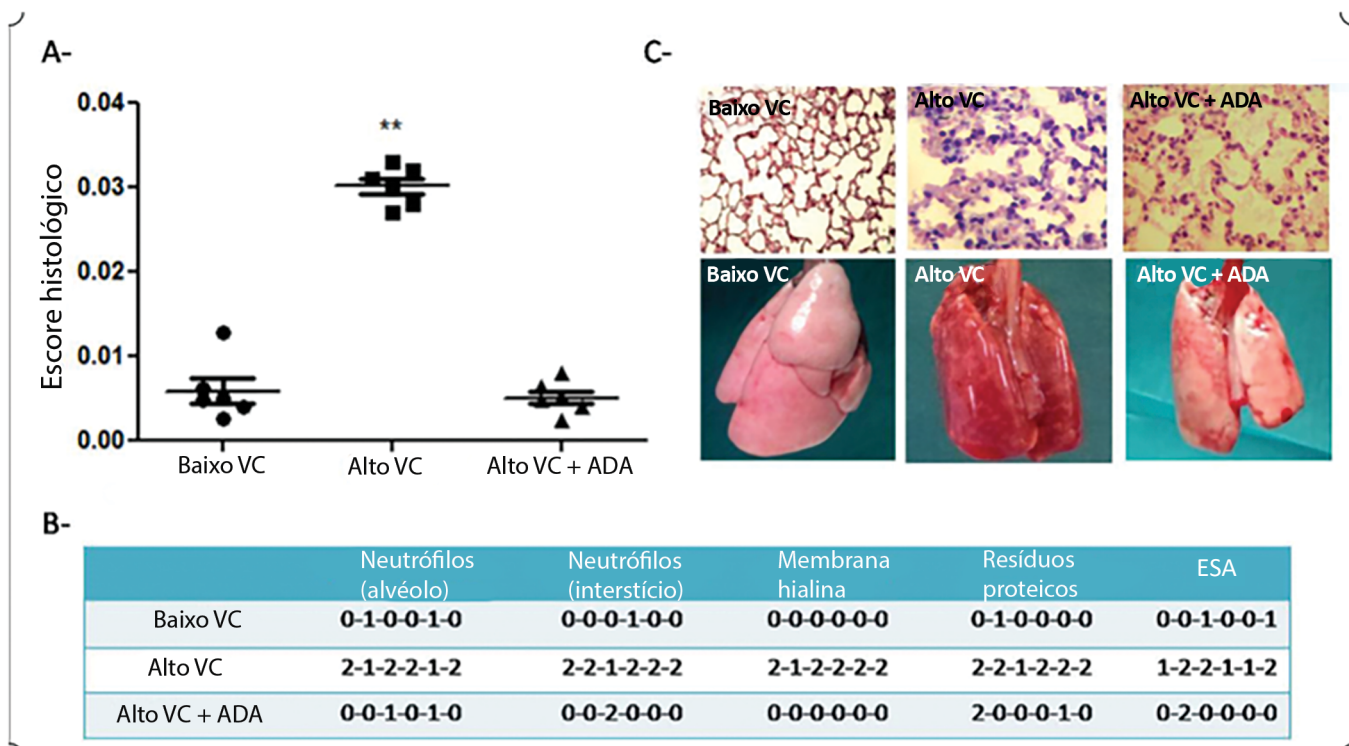
### RESULTADOS

Após 3 horas de VM, a inspeção macroscópica mostrou que todos os pulmões do Grupo bVC tinham aparência normal, enquanto os pulmões do Grupo aVC tinham hemorragia, congestão e edema (Figura 1C).

Na inspeção ao microscópio, os pulmões do Grupo aVC mostraram infiltração de leucócitos PMN tanto intra-alveolar quanto no espaço intersticial, com a presença de membranas hialinas e resíduos proteicos intra-alveolares, células de revestimento alveolar destacadas, e paredes intra-alveolares fibrosas pelo processo de reparação (Figuras 1B, 1C e 3A). Observaram-se baixas porcentagens de corpos apoptóticos no grupo bVC e no grupo com aVC, que recebeu tratamento prévio (Figura 2B). O escore médio de lesão histológica pulmonar foi mais alto no grupo aVC do que no grupo bVC (0,030 versus 0,0051;  $p = 0,003$ ). O escore histológico médio foi mais alto no grupo aVC do que no grupo pré-tratado aVC (0,030 versus 0,0052;  $p = 0,003$ ) (Figura 1A). O grupo pré-tratado aVC teve melhora do escore histológico principalmente devido à redução significativa da infiltração leucocitária. A piora da complacência do sistema torácico no grupo aVC e no grupo Pré-Tratado aVC foi observada após 3 horas ( $p = 0,04$ ) (Figura 3 e Tabela 1).

A proporção W/D no grupo aVC foi maior do que no grupo bVC ( $p = 0,0001$ ); a proporção W/D diferiu entre o grupo pré-tratado aVC e Grupo aVC ( $p = 0,0001$ ) (Tabela 2).

Não se observou qualquer diferença estatisticamente significativa nos parâmetros hemodinâmicos (PAM) ou na  $\text{PaO}_2$  entre o grupo pré-tratado aVC e grupo aVC



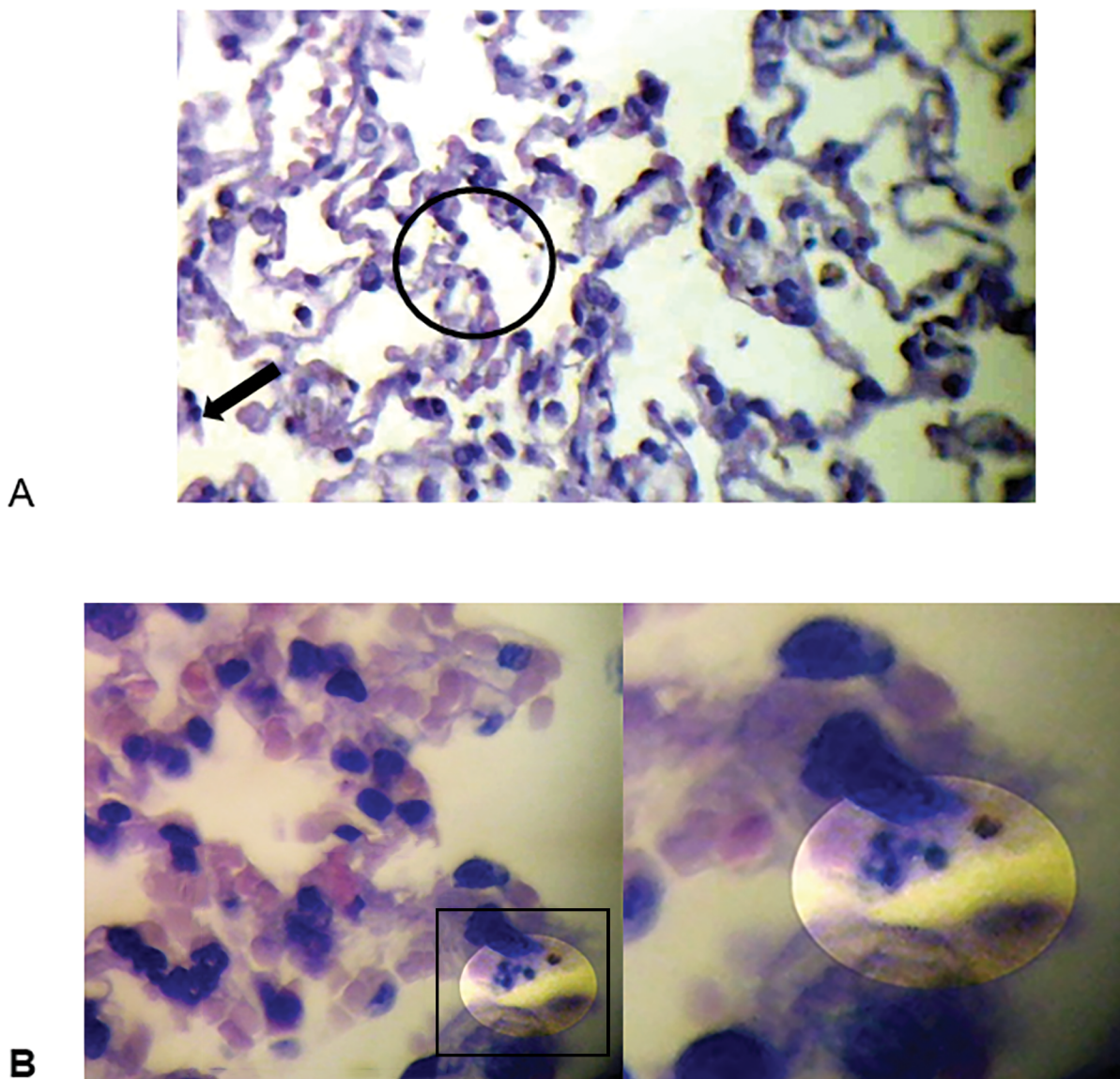
**Figura 1** - Avaliação macroscópica e microscópica dos pulmões. (A) Escores histológicos dos três grupos: baixo volume corrente, alto volume corrente e adalimumabe + alto volume corrente. (B) Discriminação das variáveis segundo o sistema *ATS Lung Injury Scoring System*. (C) Imagens acima: microscopia de luz, coloração com hematoxilina e eosina, magnificação original: 40x. À esquerda: grupo com baixo volume corrente: arquitetura tissular de pulmão normal. Meio (grupo com alto volume corrente): pulmões com infiltração leucocitária alveolar e intersticial, formação de membrana hialina e espessamento septal. Direita (grupo com adalimumabe + alto volume corrente): espessamento septal com diminuição da infiltração leucocitária. Figuras abaixo: exame macroscópico. Esquerda (baixo volume corrente): pulmões normais. Meio (alto volume corrente): edema e hemorragia. Direita (adalimumabe + alto volume corrente): mínimas áreas congestionadas. VC - volume corrente; ADA - adalimumabe; ESA - espessamento septal alveolar..

( $p = 0,42$ ) (Figura 3). A  $PaCO_2$  não diferiu entre estes dois grupos. Ao final do protocolo, a oxigenação tendeu a deteriorar-se nos grupos aVC e pré-tratado aVC;  $PO_2$  permaneceu significativamente maior no grupo bVC do que no grupo aVC ( $p = 0,018$ ) e no grupo pré-tratado aVC ( $p = 0,007$ ) (Figura 3).

### DISCUSSÃO

Neste estudo experimental, a duração da VM foi muito mais curta do que a usualmente necessária em pacientes com lesão pulmonar, mas comparável com o tempo de VM utilizado na maioria dos estudos experimentais publicados em LPIVM. Utilizamos duas estratégias de ventilação: o grupo bVC foi ventilado com abordagem protetora utilizada frequentemente (VC de 8mL/kg e PEEP de 5cmH<sub>2</sub>O), que é, em geral, considerada sem risco,<sup>(22)</sup> enquanto os grupos aVC e pré-tratado aVC foram ventilados com VC de 35mL/kg e PEEP zero, o que é considerado estratégia lesiva. Quando da randomização, a  $PaO_2$  estava normal em todos os grupos, o que sugere que, inicialmente, havia pouca ou nenhuma lesão pulmonar.

Após 3 horas de VM, as amostras pulmonares obtidas no grupo aVC tinham alterações alveolares difusas, enquanto as do grupo bVC não as tinham. Em contraste, as modificações na proporção  $PaO_2/FiO_2$  e CP foram menores. Tais alterações não resultaram em aumento da complacência, como previsto, provavelmente devido ao curto período de VM realizado neste estudo, o que pode não refletir as modificações previstas de mecânica pulmonar. Em comparação com o grupo aVC, o grupo pré-tratado aVC não mostrou diferenças significantes com respeito à oxigenação e nem à mecânica pulmonar; entretanto, os achados histológicos relacionados à VM foram minimizados no grupo pré-tratado aVC. Em comparação ao grupo aVC, o grupo pré-tratado aVC teve menos lesão pulmonar histológica, em razão da menor infiltração de leucócitos no espaço alveolar e interstício pulmonar, e redução significativa na produção de membrana hialina, com impactos similares no espessamento septal e acúmulo de material proteico. O uso de adalimumabe preveniu completamente a lesão estrutural pulmonar e diminuiu significativamente o escore de lesão histológica pulmonar,



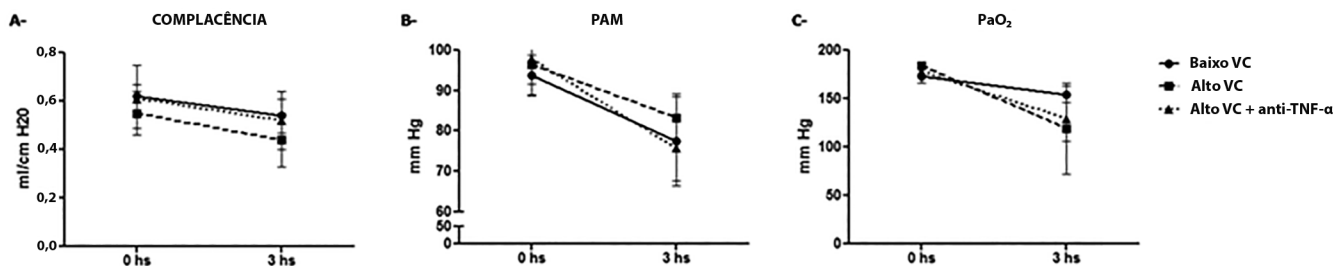
**Figura 2** - Imagens microscópicas dos pulmões. (A) Célula de revestimento alveolar destacada (seta) e paredes alveolares fibrosas em processo de reparação (círculo). Imagens microscópicas do grupo com adalimumabe mais alto volume corrente. (B) Corpos apoptóticos reconhecidos e digeridos por macrófagos alveolares. Este fenômeno é desencadeado por receptores celulares de membrana específicos. Imagens microscópicas do grupo com adalimumabe mais alto volume corrente.

em comparação ao grupo submetido apenas ao aVC. Observou-se pouca ocorrência de apoptose no grupo pré-tratado aVC (Figura 2A). A morte celular ocorre de duas formas: necrose e apoptose. A necrose pode ser observada quando os tecidos sofrem isquemia e a  $\text{PaO}_2$  cai drasticamente; este mecanismo é provavelmente menos comum nos pulmões do que em outros tecidos, em razão da dupla circulação pulmonar.<sup>(16,23-26)</sup>

Em geral, a apoptose ocorre sem a liberação de produtos celulares no espaço intercelular, enquanto a necrose se

associa com inflamação celular, ruptura de membranas e liberação de produtos intracelulares no ambiente local. Este processo é extremamente rápido, de forma que o número de leucócitos apoptóticos visíveis em um tecido edemaciado é, em geral, baixo e, provavelmente, subestima o real grau de apoptose<sup>(27)</sup> (Figura 2B). A destruição das paredes alveolares, a ativação de fibroblastos e a produção de colágeno levam à fibrose durante o processo de reparação (Figura 2A).

Quantificamos o número de leucócitos PMN



**Figure 3** - Monitoração durante o experimento. Modificações na complacência do sistema torácico, pressão arterial média e pressão parcial de oxigênio arterial: a ventilação com alto volume corrente se associou com diminuição da complacência do sistema torácico após 3 horas ( $p = 0,04$ ), e a comparação do grupo com alto volume corrente com o grupo adalimumabe + alto volume corrente não demonstrou diferenças com relação à complacência pulmonar ( $p = 0,26$ ). Todos os grupos apresentaram queda da pressão arterial média durante as 3 horas do estudo, sem diferenças significantes. A ventilação com alto volume corrente se associou com hipoxemia em comparação com a ventilação, utilizando baixo volume corrente ( $p = 0,018$ ), enquanto o grupo tratado com adalimumabe não demonstrou diferenças estatisticamente significantes após 3 horas em comparação com o grupo com alto volume corrente ( $p = 0,42$ ). PAM - pressão arterial média;  $PaO_2$  - pressão parcial de oxigênio arterial; VC - volume corrente; TNF- $\alpha$  - fator de necrose tumoral alfa.

**Tabela 1** - Análise de complacência: complacência pulmonar nos três grupos (baixo volume corrente, alto volume corrente e adalimumabe mais alto volume corrente) na avaliação inicial e após 3 horas de intervenção

	Inicial	3 horas
Baixo VC	0,61 ± 0,08	0,53 ± 0,05
Alto VC	0,54 ± 0,05	0,44 ± 0,06
Alto VC + ADA	0,57 ± 0,08	0,54 ± 0,17

VC - volume corrente; ADA - adalimumabe. Complacência expressa como média ± desvio padrão (N = 6 por grupo).

apoptóticos por meio de seu padrão característico de condensação nuclear após coloração com hematoxilina e eosina. Os achados de apoptose no grupo aVC dão suporte ao argumento de que a estimulação com TNF desencadeia resposta pró-inflamatória como sinal pró-apoptótico.<sup>(28-30)</sup> Em um modelo em camundongos, Bertok et al.<sup>(14)</sup> encontraram melhora substancial na  $PaO_2/FiO_2$  e na permeabilidade das barreiras respiratórias e alveolares, quando se administrou agente anti-TNF- $\alpha$  por via intratraqueal no início da VM. Em nosso estudo, administramos o adalimumabe por via intraperitoneal

24 horas antes de iniciar a VM. Decidimos utilizar esta estratégia em razão da absorção e da distribuição do adalimumabe após administração subcutânea, que é baixa em seres humanos após dose única de 40mg, atingindo picos de concentração plasmática 5 dias após a administração. Esperamos que a via intraperitoneal seja mais rápida, especialmente levando em consideração o metabolismo elevado dos ratos.

Mais ainda, demonstrou-se que a administração intraperitoneal de adalimumabe minimiza a resposta inflamatória em um modelo experimental de pancreatite em ratos, e selecionamos nossa dose com base nos resultados desse estudo.<sup>(20)</sup>

O TNF- $\alpha$  é particularmente importante na lesão pulmonar, porque os pulmões contêm grande reservatório de células produtoras de TNF- $\alpha$ .<sup>(16)</sup> Nossa experimentação foi realizada em ratos saudáveis; os benefícios do adalimumabe podem ser ainda maiores em seres humanos que necessitem de tratamento prolongado com VM. Embora o infliximabe e o adalimumabe compartilhem o mesmo mecanismo de ação, são moléculas diferentes,

**Tabela 2** - Avaliação do edma pulmonar

	1	2	3	4	5	6
Baixo VC	0,05	0,067	0,033	0,041	0,052	0,037
Alto VC	4,40	4,91	3,92	4,20	4,78	4,41
Alto VC + ADA	1,51	1,83	1,28	1,42	1,60	1,52
<b>3 horas</b>						
Baixo VC	0,046 ± 0,012					
Alto VC	4,43 ± 0,36					
Alto VC + ADA	1,51 ± 0,18					

A proporção entre o peso úmido e o peso seco no grupo com alto volume corrente foi mais alta do que no grupo com baixo volume corrente; a proporção entre o peso úmido e o peso seco diferiu entre o grupo com adalimumabe mais alto volume corrente e/ou grupo com alto volume corrente. VC - volume corrente; ADA - adalimumabe. Proporção entre peso úmido e peso seco expressa como média ± desvio padrão (N = 6 por grupo).

tendo o infliximabe sido estudado em ratos e mostrado minimizar a fibrose pulmonar causada por bleomicina. Em nosso estudo, a lesão pulmonar associada ao trauma por volume foi minimizada em ratos submetidos à VM.<sup>(28)</sup>

No presente estudo, os níveis de PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> foram similares nos grupos bVC e aVC, provavelmente em razão do período de VM ter sido muito curto para afetar a oxigenação. Um período experimental mais longo poderia demonstrar diferença entre estes dois grupos e outra entre os grupos aVC e pré-tratado aVC.

Retrospectivamente, como limitações deste estudo, poderíamos ter medido os níveis de outros mediadores inflamatórios que pudessem ter sido afetados pela inibição de TNF- $\alpha$ . Outra limitação, relacionada à análise da apoptose, é a falta de métodos de avaliação quantitativa (por exemplo, marcação TUNEL) que poderiam ter caracterizado melhor a apoptose neste estudo.

Um estudo clínico com administração endovenosa de anticorpo anti-TNF- $\alpha$  em pacientes com choque séptico não identificou benefícios clínicos,<sup>(31)</sup> porém recente metanálise sugere que a imunoterapia com anticorpo monoclonal anti-TNF- $\alpha$  em pacientes com sepse reduz a mortalidade geral, e a terapia anti-TNF- $\alpha$  pode melhorar a sobrevivência em pacientes com choque.<sup>(32)</sup> A associação entre lesão pulmonar e sepse representa oportunidade para uso desses fármacos.

O estudo da hipótese de que pacientes previamente tratados com adalimumabe ou imunomoduladores

similares podem ter risco de LPIVM reduzido pode criar uma oportunidade para outras aplicações clínicas, e estes achados podem contribuir para a compreensão da fisiopatologia da lesão pulmonar. Além disso, esses achados podem ajudar em situações nas quais é elevado o risco de lesão pulmonar durante cirurgias eletivas, como transplante pulmonar ou cirurgias com suporte prolongado com VM.

## CONCLUSÃO

A administração intraperitoneal de adalimumabe 24 horas antes de ventilação mecânica lesiva reduziu de forma significativa a lesão pulmonar induzida por ventilação mecânica neste modelo experimental em ratos. Esta redução se associou com melhora hemodinâmica, porém não teve qualquer impacto na oxigenação ou complacência pulmonar. O adalimumabe preveniu o recrutamento de leucócitos polimorfonucleares para dentro do alvéolo e para o interstício pulmonar. A inibição do fator de necrose tumoral alfa pode ser uma abordagem adjuvante promissora para a ventilação protetora, em uma tentativa de evitar a lesão pulmonar induzida pela ventilação mecânica.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Leticia Vittone e Clemente Raimondi por seu permanente suporte para o estudo de lesão pulmonar.

## ABSTRACT

**Objective:** To determine whether adalimumab administration before mechanical ventilation reduces ventilator-induced lung injury (VILI).

**Methods:** Eighteen rats randomized into 3 groups underwent mechanical ventilation for 3 hours with a fraction of inspired oxygen = 0.40% including a low tidal volume group (n = 6), where tidal volume = 8mL/kg and positive end-expiratory pressure = 5cmH<sub>2</sub>O; a high tidal volume group (n = 6), where tidal volume = 35mL/kg and positive end-expiratory pressure = 0; and a pretreated + high tidal volume group (n = 6) where adalimumab (100ug/kg) was administered intraperitoneally 24 hours before mechanical ventilation + tidal volume = 35mL/kg and positive end-expiratory pressure = 0. ANOVA was used to compare histological damage (ATS 2010 Lung Injury Scoring System), pulmonary edema, lung compliance, arterial partial pressure of oxygen, and mean arterial pressure among the groups.

**Results:** After 3 hours of ventilation, the mean histological lung injury score was higher in the high tidal volume group than in the low tidal volume group (0.030 *versus* 0.0051, respectively, p = 0.003). The high tidal volume group showed diminished lung compliance at 3 hours (p = 0.04) and hypoxemia (p = 0,018 *versus* control). Pretreated HVt group had an improved histological score, mainly due to a significant reduction in leukocyte infiltration (p = 0.003).

**Conclusion:** Histological examination after 3 hours of injurious ventilation revealed ventilator-induced lung injury in the absence of measurable changes in lung mechanics or oxygenation; administering adalimumab before mechanical ventilation reduced lung edema and histological damage.

**Keywords:** Adalimumab/administration & dosage; Respiration, artificial; Respiratory failure; Ventilator-induced lung injury

## REFERÊNCIAS

1. Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, Weaver J, Martin DP, Neff M, et al. Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med*. 2005;353(16):1685-93.
2. Milberg JA, Davis DR, Steinberg KP, Hudson LD. Improved survival of patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS): 1983-1993. *JAMA*. 1995;273(4):306-9.
3. Dreyfuss D, Saumon G. Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157(1):294-323.
4. Carvalho CG, Silveira RC, Procianny RS. Ventilator-induced lung injury in preterm infants. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2013;25(4):319-26.
5. Ranieri VM, Suter PM, Tortorella C, De Tullio R, Dayer JM, Brienza A, et al. Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in patients with acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA*. 1999;282(1):54-61.
6. Verbrugge SJ, 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 Funct Imaging*. 2007;27(2):67-90.
7. Matute-Bello G, Downey G, Moore BB, Grohshong SD, Matthay MA, Slutsky AS, Kuebler WM; Acute Lung Injury in Animals Study Group. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2011;44(5):725-38.
8. Tremblay LN, Slutsky AS. Ventilator-induced injury: from barotrauma to biotrauma. *Proc Assoc Am Physicians*. 1998;110(6):482-8.
9. Imai Y, Parodo J, Kajikawa O, de Perrot M, Fischer S, Edwards V, et al. Injurious mechanical ventilation and end-organ epithelial cell apoptosis and organ dysfunction in an experimental model of acute respiratory distress syndrome. *JAMA*. 2003;289(16):2104-12.
10. Kuiper JW, Plötz FB, Groeneveld AJ, Haitsma JJ, Jothy S, Vaschetto R, et al. High tidal volume mechanical ventilation-induced lung injury in rats is greater after acid instillation than after sepsis-induced acute lung injury, but does not increase systemic inflammation: an experimental study. *BMC Anesthesiol*. 2011;11:26.
11. Chiumello D, Pristine G, Slutsky AS. Mechanical ventilation affects local and systemic cytokines in an animal model of acute respiratory syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;160(1):109-16.
12. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network, Brower RG, Matthay MA, Morris A, Schoenfeld D, Thompson BT, Wheeler A. 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(18):1301-8.
13. dos Santos CC, Han B, Andrade CF, Bai X, Uhlig S, Hubmayr R, et al. DNA microarray analysis of gene expression in alveolar epithelial cells in response to TNF $\alpha$ , LPS, and cyclic stretch. *Physiol Genomics*. 2014;19(3):331-42.
14. Bertok S, Wilson MR, Morley PJ, de Wildt R, Bayliffe A, Takata M. Selective inhibition of intra-alveolar p55 TNF receptor attenuates ventilator-induced lung injury. *Thorax*. 2012;67(3):244-51.
15. Correger E, Stringa P, Sotelo D, Beldarrain M, Marcos J, Laguens G, Blanch L, Vittone L. Atenuación de la respuesta inflamatoria pulmonar con un bloqueante del TNF alfa en un modelo experimental de ratas sometidas a VM. Presented at the X Pan American and Iberic Congress of Intensive and Critical Care Medicine, June 2014, Madrid, Spain.
16. Imai Y, Kawano T, Iwamoto S, Nakagawa S, Takata M, Miyasaka K. Intratracheal anti-tumor necrosis factor- $\alpha$  antibody attenuates ventilator-induced lung injury in rabbits. *J Appl Physiol* (1985). 1999;87(2):510-5.
17. Wong M, Ziring D, Korin Y, Desai S, Kim S, Lin J, et al. TNF $\alpha$  blockade in human diseases: mechanisms and future directions. *Clin Immunol*. 2008;126(2):121-36.
18. Mukhopadhyay S, Hoidal JR, Mukherjee TK. Role of TNF $\alpha$  in pulmonary pathophysiology. *Respir Res*. 2006;7:125.
19. Shen C, Van Assche G, Rutgeerts P, Ceuppens JL. Caspase activation and apoptosis induction by adalimumab: demonstration in vitro and in vivo in a chimeric mouse model. *Inflamm Bowel Dis*. 2006;12(1):22-8.
20. Yilmaz M, Tekekoglu S, Herek O, Ozmen O, Sahinduran S, Buyukoglu T. Ameliorative effect of adalimumab on experimentally induced acute pancreatitis in rats. *Pancreas*. 2010;39(8):1238-42.
21. Calabrese LH. Molecular differences in anticytokine therapies. *Clin Exp Rheumatol*. 2003;21(2):241-8.
22. Stapleton RD, Wang BM, Hudson LD, Rubenfeld GD, Caldwell ES, Steinberg KP. Causes and timing of death in patients with ARDS. *Chest*. 2005;128(2):525-32.
23. Slutsky AS, Tremblay LN. Multiple system organ failure. Is mechanical ventilation a contributing factor? *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157(6 Pt 1):1721-5.
24. Vaschetto R, Kuiper JW, Chiang SR, Haitsma JJ, Juco JW, Uhlig S, et al. Inhibition of poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase attenuates ventilator-induced lung injury. *Anesthesiology*. 2008;108(2):261-8.
25. Vaneker M, Halbertsma FJ, van Egmond J, Netea MG, Dijkman HB, Snijselaar DG, et al. Mechanical ventilation in healthy mice induces reversible pulmonary and systemic cytokine elevation with preserved alveolar integrity: an in vivo model using clinical relevant ventilation settings. *Anesthesiology*. 2007;107(3):419-26.
26. Nin N, Lorente JA, Fernández-Segoviano P, De Paula M, Ferruelo A, Esteban A. High-tidal volume ventilation aggravates sepsis-induced multiorgan dysfunction in a dexamethasone-inhibitable manner. *Shock*. 2009;31(4):429-34.
27. Henson PM, Bratton DL, Fadok VA. Apoptotic cell removal. *Curr Biol*. 2001;11(19):R795-805.
28. Altintas N, Erboga M, Aktas C, Bilir B, Aydin M, Sengul A, et al. Protective Effect of Infliximab, a Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Inhibitor, on Bleomycin-Induced Lung Fibrosis in Rats. *Inflammation*. 2016;39(1):65-78.
29. Hsu H, Shu HB, Pan MG, Goeddel DV. TRADD-TRAF2 and TRADD-FADD interactions define two distinct TNF receptor 1 signal transduction pathways. *Cell*. 1996;84(2):299-308.
30. Altemeier WA, Matute-Bello G, Frevert CW, Kawata Y, Kajikawa O, Martin TR, et al. Mechanical ventilation with moderate tidal volumes synergistically increases lung cytokine response to systemic endotoxin. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2004;287(3):L533-42.
31. Exley AR, Cohen J, Buurman W, Owen R, Hanson G, Lumley J, et al. Monoclonal antibody to TNF in severe septic shock. *Lancet*. 1990;335(8700):1275-7.
32. Lv S, Han M, Yi R, Kwon S, Dai C, Wang R. Anti-TNF- $\alpha$  therapy for patients with sepsis: a systematic meta-analysis. *Int J Clin Pract*. 2014;68(4):520-8.