
**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA/PEDIATRIA E
SAÚDE DA CRIANÇA
TESE DE DOUTORADO**

ROSELI HENN

**SURFACTANTE COM E SEM LAVADO BRONCOALVEOLAR EM
MODELO EXPERIMENTAL DE SÍNDROME DE ASPIRAÇÃO DE
MECÔNIO**

PORTO ALEGRE

2011

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
DOUTORADO EM MEDICINA/PEDIATRIA E SAÚDE DA CRIANÇA**

**SURFACTANTE COM E SEM LAVADO BRONCOALVEOLAR EM
MODELO EXPERIMENTAL DE SÍNDROME DE ASPIRAÇÃO DE
MECÔNIO**

ROSELI HENN

PORTO ALEGRE, 2011

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
DOUTORADO EM PEDIATRIA E SAÚDE DA CRIANÇA

**SURFACTANTE COM E SEM LAVADO BRONCOALVEOLAR EM
MODELO EXPERIMENTAL DE SÍNDROME DE ASPIRAÇÃO DE
MECÔNIO**

Roseli Henn

Tese de doutorado apresentada à Faculdade de
Medicina da PUCRS para obtenção do Título de
Doutor

Orientador: Prof. Dr. Renato Machado Fiori

Co-orientador: Prof. Dr. Humberto Holmer Fiori

Porto Alegre, dezembro de 2011

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

H515s Henn Roseli

Surfactante com e sem lavado broncoalveolar em modelo experimental de síndrome de aspiração de mecônio / Roseli Henn. Porto Alegre: PUCRS, 2011.

100f.: gráf. il. Inclui um artigo de periódico submetido à publicação.

Orientador: Prof. Dr. Renato Machado Fiori.

Coorientador: Prof. Dr. Humberto Holmer Fiori.

Tese (Doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina/ Pediatria e Saúde da Criança. Doutorado em Pediatria e Saúde da Criança. Área de Concentração: Neonatologia.

1. SÍNDROME DE ASPIRAÇÃO DE MECÔNIO/fisiopatologia. 2. SURFACTANTE PULMONAR. 3. LAVADO BRONCOALVEOLAR. 4. RECÉM NASCIDO. 5. NEONATOLOGIA. 6. DOENÇAS DO RECÉM-NASCIDO. 7. ANIMAIS RECÉM-NASCIDOS. 8. MODELOS ANIMAIS DE DOENÇAS. 9. SUÍNOS. 10. EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. 11. EPIDEMIOLOGIA EXPERIMENTAL. I. Fiori, Renato Machado. II. Fiori, Humberto Holmer. III. Título.

C.D.D. 616.23

C.D.U. 616.24-013.8:618.5-053.2(043.2)

N.L.M. WQ 210.5

Dedicatória:

Aos meus amigos e colegas, em especial aos meus familiares.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Renato Machado Fiori, pioneiro da neonatologia no Brasil, pesquisador e neonatologista, pelo incentivo, confiança e pela competente e paciente orientação.

Ao Dr. Humberto Holmer Fiori, neonatologista e pesquisador, pela paciente orientação na realização dos experimentos, sem os quais não seria possível a realização desta pesquisa, bem como, pela efetiva co-orientação.

À fisioterapeuta Priscila Padoim, pelo companheirismo, dedicação e participação incansável no auxílio na execução dos experimentos.

À fisioterapeuta Talitha Comaru, pelo apoio técnico e por ter aberto o caminho na execução dos experimentos.

À fisioterapeuta Jaqueline Basso Stivanin, pela participação, pelo auxílio e contribuições a execução dos experimentos.

Aos incansáveis colegas, Dra. Angela R. M. Weinmann, Dr Jean P. Ilha e Dra. Alessandra Dri Manzoni pela amizade, apoio e incentivo para executar o projeto.

À equipe do Laboratório de Habilidades Médicas, pelo apoio na realização dos experimentos.

Ao programa de Pós-graduação em Pediatria e Saúde da Criança, na pessoa do Prof. Dr. Renato Tetelbom Stein, pelas condições oferecidas e pela eficiência da estrutura.

À empresa Farmalab-Chiesi, pelo fornecimento do surfactante alfa poractante.

Às secretárias Carla Rothmann e Ana Cardoso, pelo auxílio e disponibilidade.

Aos recém-nascidos, estímulo constante na busca de aprimorar cada vez mais os cuidados a eles dedicados.

RESUMO

INTRODUÇÃO: devido ao efeito obstrutivo do mecônio nas vias aéreas e a ação inibitória sobre o sistema surfactante, o lavado broncoalveolar e a reposição de surfactante estão sendo avaliados nos últimos tempos para o tratamento da síndrome da aspiração de mecônio.

OBJETIVO: Avaliar, em modelo experimental, o efeito sobre os gases sanguíneos arteriais e a mecânica pulmonar do tratamento da síndrome de aspiração de mecônio grave com surfactante exógeno, precedido ou não de lavado broncoalveolar com surfactante diluído em pequenos volumes.

MÉTODOS: 21 porcos recém-nascidos eram ventilados mecanicamente com parâmetros respiratórios predeterminados. Para induzir a síndrome de aspiração de mecônio foi instilado 5ml/kg de mecônio diluído a 20% em solução salina isotônica. Após, os porcos foram randomizados em 3 grupos: grupo I (n=7) - controle; grupo II (n=7) - surfactante (Curosurf®) 200mg/kg; grupo III (n=7) - lavado broncoalveolar com surfactante diluído – 5mg/ml (15ml/kg em alíquotas de 2ml) seguido de uma dose suplementar de surfactante 125mg/kg. Gases arteriais sanguíneos, complacência, resistência e volume corrente foram avaliados durante as 6 horas do estudo em 5 momentos específicos.

RESULTADOS: após a instilação de mecônio, antes do tratamento, a PaO₂ caiu para uma média em torno de 50mmHg e a PaCO₂ aumentou para uma média em torno de 76mmHg, não havendo diferença significativa entre os grupos. Após o tratamento a média da PaO₂(mmHg) nos grupos I, II e III aos 30 minutos, 3 e 6 horas foi de 72, 106 e 172 (p=0,01) - 70, 95 e 198 (p<0,01) e 79, 110 e 217 (p=0,01), respectivamente. A média da PaCO₂ (mmHg) nos grupos I, II e III foi 81, 65 e 35 (p=0,01) - 82, 59 e 37 (p=0,01) e 83, 75 e 33 (p<0,01), respectivamente. Após o tratamento a média da complacência (ml/cmH₂O) aos 30 minutos e 6 horas nos grupos I, II, III foi de 0,76, 1,01 e 1,57(p<0,05) e de 1,02, 0,69 e 1,79 (p<0,05), respectivamente. A média da resistência (cmH₂O/L/S) nos grupos I, II e III foi de 422,57, 385,29 e 268,86(p<0,05) e de 408,83, 564,86 e 248,43 (p<0,05) aos 30 minutos e 6 horas, respectivamente.

CONCLUSÃO: o lavado broncoalveolar com surfactante diluído, com baixos volumes e pequenas alíquotas, seguido por uma dose suplementar de surfactante, melhorou significativamente os gases sanguíneos arteriais e a mecânica pulmonar quando comparado com uma dose de surfactante sem lavado broncoalveolar e com um grupo controle, em um modelo experimental de síndrome de aspiração de mecônio.

UNITERMOS: aspiração de mecônio, surfactante pulmonar, lavado broncoalveolar, neonatologia, doença do recém nascido, porcos, modelo experimental.

ABSTRACT

BACKGROUND: Due to meconium's obstructive effect on the airways and its inhibitory action over the surfactant system, treatment with bronchoalveolar lavage and surfactant replacement are currently under evaluation.

OBJECTIVE: To evaluate, in an experimental model, the effect on the arterial blood gases and pulmonary mechanics of the treatment of meconium aspiration syndrome with exogenous surfactant, preceded or not of bronchoalveolar lavage with diluted surfactant in low volumes.

DESIGN/METHODS: 21 newborn piglets were mechanically ventilated with predetermined settings. Meconium aspiration syndrome was induced by instillation of 5 ml/kg of meconium 20% diluted in isotonic saline, and afterwards the piglets were randomly allocated to: group I (n=7) - control; group II (n=7) - surfactant (Curosurf®) 200mg/kg; group III (n=7) - bronchoalveolar lavage with diluted surfactant 5mg/ml (15 ml/kg in 2ml aliquots), followed by a supplementary dose of surfactant 125mg/kg. Arterial blood gases, compliance, resistance, and tidal volume were measured five times at specific intervals during the six hours of the study.

RESULTS: After instillation of meconium, before treatment, the PaO₂ fell to a mean of 50mmHg and the PaCO₂ increased to 76mmHg (no statistically difference among groups). Mean PaO₂ (mmHg) in groups I, II and III were 72, 106 and 172 (p=0,01); 70, 95 and 198 (p<0.01); 79, 110 and 217 (p=0.01) at 30 minutes, 3 and 6 hours after treatment, respectively. Mean PaCO₂ (mmHg) in Groups I, II and III were 81, 65 and 35 (p=0.01); 82, 59 and 37 (p=0.01); 82, 75 and 32 (p<0.01) at 30', 3 and 6 hours after treatment, respectively. Mean Compliance (ml/cmH₂O) in Groups I, II, III were 0.76, 1.01 and 1.57 (p<0.05); 1.02, 0.69, e 1.79(p<0.05) at 30 minutes and 6 hours after treatment, respectively. Mean resistance (cmH₂O/L/S) in Groups I, II, III were 422.57, 385.29 and 268.86 (p<0.05); 408.83, 564.86 e 248.43(p<0.05) at 30 minutes and 6 hours after treatment, respectively.

CONCLUSIONS: Bronchoalveolar lavage with diluted surfactant, with low volumes and small aliquots, followed by a supplementary dose of surfactant, significantly improved arterial blood gases and pulmonary function measurements when compared to the administration of a single dose of surfactant in an experimental model of meconium aspiration syndrome.

KEY WORDS: aspiration meconium syndrome, surfactant, bronchoalveolar lavage, pigs, experimental model, newborn diseases.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

Figura 1 - animal sedado, traqueostomizado e com os vasos umbilicais cateterizados	61
Figura 2 - administração do surfactante diluído para o lavado broncoalveolar	64
Figura 3 - administração do surfactante.....	65
Figura 4 - fluxograma do desenho do estudo	66

CAPÍTULO III

Figura 1 - Evolução dos dados de gasometria e de mecânica pulmonar	80
-------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 - Resumo de estudos com surfactante em animais	31
Tabela 2 - Resumo de estudos com surfactante em bolo em recém-nascidos humanos	32
Tabela 3 - Resumo de estudos com LBA com soro fisiológico, sem surfactante em animais	35
Tabela 4 - Resumo de estudos em animais de LBA com surfactante em SAM	42
Tabela 5 - Resumo de estudos em humanos de LBA com surfactante em SAM	43
Tabela 6 - Resumo de estudos com LBA com e sem surfactante com acréscimo de uma dose de surfactante em animais recém-nascidos.....	46
Tabela 7 - Resumo de estudos em humanos de LBA e <i>bolus</i> de surfactante em SAM	46

CAPÍTULO V

Tabela 1- Médias e erros padrões dos Grupos e valor de probabilidade (valor de p) da Anova individual em cada momento	92
Tabela 2 - Médias dos Grupos e valor de probabilidade (valor de p) da Anova no teste do efeito simples em cada momento.....	93

LISTA DE ABREVIATURAS

A-aDO₂	Gradiente alvéolo-arterial de oxigênio
CO₂	Dióxido de carbono
ECMO	Oxigenação por membrana extracorpórea
FiO₂	Fração inspiratória de oxigênio
HPPRN	Hipertensão pulmonar persistente do recém-nascido
IL	Interleucina
IO	Índice de oxigenação
LBA	Lavado broncoalveolar
NO	Óxido nítrico
PaCO₂	Pressão parcial arterial de dióxido de carbono
PaO₂	Pressão parcial arterial de oxigênio
PEEP	Pressão positiva expiratória final <i>(positive end-expiratory pressure)</i>
PIP	Pressão positiva inspiratória
RN	Recém-nascido
SAM	Síndrome da Aspiração de Mecônio
SARA	Síndrome da disfunção respiratória aguda
SDR	Síndrome do Desconforto Respiratório
SP-A	Proteína do surfactante A (<i>surfactant protein</i>)

SP-B	Proteína do surfactante B (<i>surfactant protein</i>)
-------------	---------------------------------------------------------

TNFα	Fator de necrose tumoral alfa
-------------------------------	-------------------------------

UTI-NN	Unidade de Terapia Intensiva Neonatal
---------------	---------------------------------------

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 SÍNDROME DA ASPIRAÇÃO DE MECÔNIO	17
1.1.1 Apresentação clínica e laboratorial	18
1.1.2 Fisiopatologia	19
1.1.3 Tratamento	25
1.1.3.1 Tratamento com surfactante exógeno em bolus	26
1.1.3.2. Lavado broncoalveolar	32
1.1.3.3. Lavado broncoalveolar com surfactante diluído	35
1.1.3.4 Lavado broncoalveolar com dose complementar de surfactante	43
1.1.3.5 Considerações finais	47
1.2 JUSTIFICATIVA	48
1.3 OBJETIVOS	49
1.3.1 Objetivo geral	49
1.3.2 Objetivos específicos	49
1.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

CAPÍTULO II	
2 MATERIAL E MÉTODOS	60
2.1 ANÁLISE ESTATÍSTICA	66
2.2 ASPECTOS ÉTICOS	67
2.3 REFERÊNCIAS:	68
CAPÍTULO III	
3 ARTIGO ORIGINAL	70
CAPÍTULO IV	
CONCLUSÕES	90
CAPÍTULO V	
TABELAS E RESULTADOS COMPLEMENTARES	92
ANEXO	
ANEXO - BANCO DE DADOS	95

CAPÍTULO I

REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO

A Síndrome da Aspiração de Mecônio (SAM) é uma doença grave do recém-nascido a termo e pós-termo associada a uma morbidade respiratória considerável. A doença é caracterizada por início precoce do desconforto respiratório em recém-nascidos com líquido amniótico meconial ao nascimento, reduzida complacência pulmonar, hipoxemia e, radiologicamente, por opacificações difusas e hiperinsuflação. No mínimo um terço dos recém-nascidos com SAM requer entubação, ventilação mecânica e as mais recentes terapias¹ como ventilação mecânica de alta frequência, óxido nítrico (NO), administração de surfactante e oxigenação por membrana extracorpórea (ECMO).^{2,3}

O tratamento com surfactante exógeno em recém-nascidos com Síndrome do Desconforto Respiratório (SDR) está bem estabelecido. No entanto, têm-se testado o seu uso em outras condições clínicas como na síndrome da aspiração de mecônio. A atividade do surfactante pode ser alterada nesta condição. Técnicas e doses para administração do surfactante, critérios de inclusão e determinação de quais pacientes realmente se beneficiariam com esta terapêutica tem sido motivo de estudos recentes.^{3,4}

Estudos evidenciam que a inativação do surfactante pelo mecônio também tem papel importante na disfunção pulmonar encontrada na SAM,⁵⁻⁷

levando a atelectasia e alteração da relação ventilação/perfusão.⁸ Vários dos componentes do mecônio inibem a função do surfactante, porém os mais estudados, *in vivo*⁹ e *in vitro*,¹⁰ são os ácidos graxos livres. Além do efeito inibitório direto do mecônio sobre o surfactante, a hiperinsuflação pulmonar pelo alçaponamento de ar, associado à lesão alveolar pela ventilação mecânica, causam um extravasamento de conteúdo protéico no alvéolo, inibindo ainda mais a função do surfactante.⁸

1.1 SÍNDROME DA ASPIRAÇÃO DE MECÔNIO

A Síndrome de Aspiração de Mecônio caracteriza-se por graus variados de insuficiência respiratória no período neonatal. Em 10 a 15% dos partos o mecônio está presente no líquido amniótico. A incidência de SAM é aumentada em 1,5 vezes em pacientes negros, em relação aos pacientes brancos.¹¹ Em torno de 5% dos recém-nascidos com líquido amniótico meconial desenvolverão SAM, destes 25 a 60% necessitam de ventilação mecânica, dos quais 3 a 12 % não respondem à terapia instituída e evoluem para o óbito.^{7, 11-16} A incidência de SAM segundo um estudo multicêntrico chinês (entre 2004-2005), foi de 3,13% dos recém-nascidos internados em Unidades de Terapia Intensiva Neonatal (UTI-NN) com desconforto respiratório, sendo que a mortalidade foi de 17,8%.¹⁷ Em um estudo em que bebês nasciam com líquido amniótico meconial quando o Apgar era ≥ 8 no quinto minuto a incidência de SAM era rara. Já nos demais, quando o Apgar era < 8 a incidência era de 4,8%.¹⁸

A presença de mecônio no líquido amniótico é mais comum quanto mais avançada a idade gestacional, em 34% dos casos a idade gestacional era superior a 40 semanas, tinham uma associação com o escore de apgar menores no quinto minuto, bem como os sinais de sofrimento fetal estavam presentes em 51% dos casos analisados, além de uma maior incidência de recém-nascidos com retardo do crescimento intra-uterino.¹⁶

1.1.1 Apresentação clínica e laboratorial

A SAM pode se apresentar como uma disfunção respiratória leve até um quadro grave que evolui para a morte, apesar do manejo clínico adequado. Habitualmente os pacientes apresentam dispnéia, taquipnéia, gemência, batimentos de asas do nariz, tempo expiratório prolongado e hipoxemia logo após o nascimento. Impregnação por mecônio pode ser observada nas unhas, cabelos e cordão umbilical. Mecônio pode ser observado abaixo das cordas vocais na aspiração traqueal sob visualização direta. Os recém nascidos podem apresentar características somáticas de pós-maturidade e manifestações variadas de alterações hipóxico-isquêmicas. Pode ocorrer o aumento do diâmetro ântero-posterior do tórax devido à doença obstrutiva das vias aéreas. A ausculta pulmonar é inespecífica. Podem ser audíveis estertores difusos e diminuição do murmúrio vesicular devido à atelectasias ou pneumotórax. Dentre as complicações mais frequentes e graves destacam-se o pneumotórax e a hipertensão pulmonar persistente do recém-nascido (HPPRN), observada

em mais da metade dos pacientes com SAM grave.¹⁵ Além disso, achados diversos relacionados à asfixia podem ser encontrados, entre eles a hipotensão, coagulação intravascular disseminada, anemia, insuficiência renal e cardíaca e anormalidades neurológicas tais como crises convulsivas. Alterações metabólicas podem ser observadas em decorrência da asfixia, tais como acidose metabólica, hipoglicemia e hipocalcemia.

Radiologicamente, a SAM se apresenta com infiltrados grosseiros, áreas de consolidação com hiperinsuflação e, em 30% dos casos pode ter derrame pleural. Há um risco aumentado de pneumotórax e pneumomediastino, acometendo aproximadamente 25% dos pacientes gravemente enfermos. As radiografias de tórax são alteradas em mais da metade dos recém-nascidos com mecônio abaixo das cordas vocais, mas menos de 50% dos pacientes com alterações radiológicas apresentam disfunção respiratória significativa. A gravidade das alterações radiológicas pode não estar correlacionada com a gravidade da doença clínica.¹⁵

1.1.2 Fisiopatologia

O mecônio aparece primeiramente no íleo fetal entre a décima e a décima sexta semana de gestação como um líquido viscoso e esverdeado composto por secreções gastrointestinais, restos celulares, sucos gástrico e pancreático, muco, sangue, lanugo e vérnix. O mecônio é composto em aproximadamente 72 a 80% de água. A composição de seu peso seco

consiste em mucopolissacarídeos e, em menor quantidade, em proteínas e lipídios.¹⁵ Apesar de o mecônio aparecer precocemente no intestino fetal, a presença de mecônio no líquido amniótico raramente ocorre antes das 38 semanas de gestação. A associação entre líquido amniótico meconial e sofrimento fetal é bastante controversa; para alguns autores a eliminação do mecônio pelo feto, ainda na cavidade uterina, ocorre devido a um aumento na peristalse intestinal secundário à hipoxemia e sofrimento fetal. Para outros, a compressão abdominal durante o trabalho de parto e o reflexo vagal secundário à compressão do pólo cefálico explicariam a presença do mecônio no líquido amniótico, sem necessariamente representar sofrimento fetal.¹⁹

Os fatores de riscos associados ao desenvolvimento da SAM com insuficiência respiratória severa, geralmente iniciando com menos de 4 horas de vida, estão associados principalmente a necessidade de reanimação cardiorespiratória ao nascimento, Apgar < 7 no quinto minuto, presença de mecônio sob as cordas vocais.¹²

As alterações placentárias, levando à hipoxemia, acompanham-se de um aumento da espessura da camada muscular das arteríolas pulmonares, ocasionando uma maior incidência de HPPRN.²⁰ Além disso, a redução do fluxo sanguíneo pulmonar causa isquemia pulmonar podendo danificar os pneumócitos tipo II e reduzir a produção do surfactante.²¹

Os antecedentes maternos mais frequentemente observados são a hipertensão arterial, doença cardiovascular ou pulmonar crônica, hipotensão aguda, descolamento prematuro de placenta, placenta prévia, partos

laboriosos, presença de circulares, prolapso e nós de cordão e apresentação pélvica.

Nos partos em que se observa a presença de mecônio no líquido amniótico, os primeiros movimentos respiratórios do recém-nascido fazem com que o mecônio migre das vias aéreas centrais para a periferia dos pulmões.^{12, 13} Devido ao poder de aderência do mecônio e a pouca eficácia do sistema mucociliar em expeli-lo das vias aéreas, o mecônio pode depositar-se com muita facilidade.¹⁴

A fisiopatologia da SAM é extraordinariamente complexa com o envolvimento de vários fatores. Em um primeiro momento, está relacionada a uma obstrução parcial ou total das vias aéreas inferiores. A obstrução parcial da via aérea permite a entrada do ar, mas não a sua saída. Esse mecanismo de válvula é responsável pelo alçaponamento progressivo de ar no pulmão, aumentando o risco de pneumotórax.^{8, 13} Por outro lado, a obstrução completa de pequenas vias aéreas pode resultar em atelectasia regionais e alteração da ventilação-perfusão, levando à hipoxemia.¹⁵ Em seguida, ao aparecimento de uma pneumonite química mediada por leucócitos, enzimas e interleucinas e, possivelmente, a ocorrência de infecção bacteriana secundária, acompanhado ainda de inibição da função surfactante.²² Podendo ocorrer graus variados de edema intersticial, exudato de proteínas, inflamação do parênquima e alvéolos, vasoconstrição arterial pulmonar, redução da complacência pulmonar, seguida de HPPRN e insuficiência respiratória grave.^{11, 16, 19-21} Dentro de horas após a exposição ao mecônio, há uma intensa resposta inflamatória, aumentando a presença

de neutrófilos e macrófagos dentro dos alvéolos, bronquíolos, brônquios e parênquima pulmonar. Ocorre secreção de citocinas inflamatórias, tais como, fator de necrose tumoral alfa (TNF α), interleucina (IL)-1beta e IL-8,²³ lesando ainda mais o parênquima pulmonar, ocasionando influxo de líquido, acompanhando-se de edema, evoluindo com uma insuficiência respiratória semelhante à síndrome da disfunção respiratória aguda (SARA).²³

A pneumonite química relacionada com esta intensa resposta inflamatória, pode ser mediada pelo sistema complemento,²⁴ como é o caso do complexo CD14/TLR4/MD-2, ativando citocinas, segundo Salvesen et al, sugerindo uma possibilidade terapêutica futura.²⁵ As citocinas estão envolvidas na morte celular, possivelmente por apoptose e necrose.^{26, 27} Estas citocinas estão envolvidas também na patogênese da hipertensão arterial pulmonar, muito freqüentemente associadas a SAM.^{11, 20, 22, 23, 28}

Em 1984, Murphy et al demonstraram que recém-nascidos com SAM que morriam nos primeiros dias de vida apresentavam uma estrutura anormal da camada muscular das arteríolas intra-acinares associada a evidência clínica de hipertensão pulmonar e *shunt* direita esquerda extra-pulmonar.²⁹ Em 2010, foi observado a ação da urotensina-II, que normalmente age com ação vasodilatadora pulmonar, mas na presença do mecônio esta enzima provoca vasoconstrição dos vasos pulmonares, no entanto, esta ação pode ser evitada com o bloqueio dos receptores desta enzima evitando a ação vasoconstritora pulmonar.³⁰

Em um experimento onde compararam a aspiração de leite, solução salina e mecônio a 10% em ratos, observaram-se uma maior apoptose

celular e aumento de citocinas inflamatórias na aspiração por mecônio, até mesmo quando comparado apenas a hiperoxia e hipoxia induzida, o mecônio era mais lesivo.³¹

Já está claro que a inativação do surfactante pelo mecônio pode ter papel importante na disfunção pulmonar encontrada na SAM.^{5, 11, 32, 33} Como descrito por Cleary et al, ocorre diminuição dos níveis de SP-A e SP-B, que pioram em 24 a 48 horas após aspiração de mecônio, assim como, ocorre uma redução do fosfolipídio e do dipalmitil fosfatidilcolina em 24 horas após o contato com o mecônio diluído instilado em traquéias de ratos adultos,^{5,11,32-34} levando a atelectasia e alteração da relação ventilação/perfusão.⁸ Concentrações altas de mecônio têm um efeito citotóxico direto sobre os pneumócitos tipo II.³⁴ Já em concentrações mínimas de mecônio colaborariam com a secreção de fosfatidilcolina, não sendo tóxico aos pneumócitos tipo II.³⁵ Vários dos componentes do mecônio tais como lisofosfatidilcolina, bilirrubina, sais biliares, agentes pro-inflamatórios e a presença de hemoglobina no pulmão inibem a função do surfactante, sendo capazes de romperem a formação monolinar do surfactante e desestabilizar a tensão superficial pulmonar.^{22, 36-39}

Em relação aos sais biliares presentes no mecônio, Oelburg et al verificaram em cultura de pneumócitos tipo II que os sais biliares aumentam o cálcio intracelular e diminuem a incorporação da leucina para dentro do pneumócitos tipo II, sugerindo dificuldade na produção do surfactante.⁴⁰ Quanto ao colesterol encontrado no mecônio, este desestabiliza e altera a

dinâmica da monocamada de surfactante na interface ar-líquido, ocasionando perda de sua função.⁴¹

Janssen et al estudaram a cinética da fosfatidilcolina com o uso de isótopos estáveis em 11 recém-nascidos com SAM que necessitaram ECMO em comparação com 6 neonatos com HPPRN em ECMO e 10 recém-nascidos em ventilação mecânica sem ECMO. Todos os recém-nascidos com SAM tinham uma síntese reduzida de surfactante e a concentração de fosfatidilcolina é mais baixa em recém-nascidos com SAM em ECMO.⁴²

Em uma avaliação *in vitro* da função e morfologia do surfactante, foi usado o surfactômetro para analisar a dinâmica da tensão superficial de várias diluições do mecônio humano com várias concentrações de surfactante, assim como observação da estrutura do surfactante com um microscópio eletrônico. Evidenciaram a alteração da estrutura linear do surfactante para uma estrutura esférica, incapaz de exercer uma adequada tensão superficial necessária para uma adequada ventilação pulmonar.⁴³

Outra avaliação *in vitro* do efeito inibitório do mecônio com o surfactante, foi avaliado com o teste das microbolhas estáveis (teste físico de avaliação da maturidade pulmonar; quanto mais microbolhas estáveis, melhor a função surfactante), onde várias diluições de mecônio (0,01 – 0,05 – 0,1 – 0,5 - 1,0 – 5,0 – 10,0 e 50,0mg/ml) foram utilizadas misturadas com 0,05mg/ml e 0,25mg/ml de surfactante. Evidenciando significância estatística na diminuição da contagem das microbolhas estáveis quanto maior a concentração de mecônio e menor a de surfactante.⁴⁴

Em nosso meio, Luz et al também avaliaram o efeito inibitório do mecônio sobre o surfactante através do teste das microbolhas estáveis. Ocorrendo da mesma forma uma redução da contagem de microbolhas estáveis na diluição de mecônio na concentração superior a 0,02g/dl de mecônio.⁵

A despeito do efeito inibitório direto do mecônio sobre o surfactante, a hiperinsuflação pulmonar pelo alçaponamento de ar, associado à lesão alveolar pela ventilação mecânica, causam um extravasamento de conteúdo protéico no alvéolo, inibindo ainda mais a função do surfactante.⁸

1.1.3 Tratamento

Recém-nascidos com síndrome da aspiração de mecônio devem receber suporte adequado para controle térmico, correção de anemia, manutenção da pressão arterial, infusão de glicose e homeostase hidroeletrolítica. O uso de antibioticoterapia é controverso, mas costuma ser recomendada devido à gravidade do quadro e dificuldade de exclusão de processo infeccioso. O mecônio apresenta grande potencial de colonização por germes, especialmente gram-negativos.¹⁵

O tratamento da SAM é inespecífico, e mesmo após o nascimento apesar das vias aéreas serem aspiradas, os recém-nascidos desenvolvem a síndrome, necessitando suporte ventilatório e manejo das complicações.^{16, 45}

A saturação de oxigênio da hemoglobina deve ser mantida acima de 92-95%, idealmente avaliada pré e pós-ductal para o diagnóstico de hipertensão pulmonar persistente. Considera-se o uso de ventilação mecânica e cateter arterial umbilical quando a fração inspirada de oxigênio ultrapassar 0,6. A hipoxemia, hipercapnia e acidose metabólica são os achados gasométricos mais comuns. O tratamento da SAM é baseado no suporte ventilatório necessário para manter a oxigenação arterial adequada, pressão arterial parcial de oxigênio (PaO_2) entre 50 e 70 mmHg, pH acima de 7,20 e pressão arterial parcial de dióxido de carbono (PaCO_2) entre 40 e 60 mmHg e no tratamento das complicações, bem como, no manejo das complicações de lesões hipóxico-isquêmicas.⁴⁵

1.1.3.1 Tratamento com surfactante exógeno em bolus

Além do suporte habitual no tratamento da Síndrome da Aspiraço do Mecônio, o surfactante vem sendo utilizado como terapia. No entanto, ainda não está bem clara a melhor forma da utilização do surfactante exógeno no tratamento da SAM.^{43, 45} Atualmente vem se demonstrando com certo êxito a combinação do lavado broncoalveolar seguido da utilização do surfactante exógeno, embora ainda não se tenha uma definição de indicações precisas desta terapia.⁴⁶

Tendo em vista a obstrução mecânica do mecônio, o seu efeito inibitório sobre o surfactante, causado principalmente pelos ácidos graxos,

colesterol e bilirrubina presentes nele, em que este efeito inibitório é dose dependente, bem como, as baixas concentrações de surfactante é relativamente mais sensível a inibição pelo mecônio do que altas concentrações do mesmo.⁴⁷ Por exemplo, quando examinado com um surfactômetro,⁴⁸ uma concentração de 1,5mg/ml de surfactante natural modificado é completamente inativado por uma concentração de 65mcg/ml de mecônio. Já, duas vezes mais surfactante (3mg/ml), necessita tanto quanto 1300mcg/ml de mecônio para ter o mesmo efeito inibitório. Logo, uma concentração maior de surfactante no espaço aéreo do bebê com SAM pode não apenas contrabalançar a presença da inibição pelo mecônio, mas também tornar o sistema surfactante relativamente mais resistente a inibição.⁴⁷

O uso do surfactante exógeno tem como base a reversão da disfunção do surfactante pulmonar e um possível efeito detergente sobre o mecônio. Os ácidos graxos presentes no mecônio são os principais inibidores da função surfactante.⁴¹

a. Estudos experimentais em animais

Kobayashi et al analisaram o efeito do surfactante na distensão irregular do espaço aéreo terminal nos pulmões de ratos lesados pelo mecônio. Os ratos que receberam 100mg/kg de surfactante restauraram o espaço aéreo distendido, tornando o tecido pulmonar aerado regularmente.⁴⁹

Robinson et al administraram surfactante (Survanta[®]) na dose de 4 ml/kg em modelo experimental de SAM em coelhos. Em um grupo foi administrado lentamente, em uma hora e em outro grupo foi administrado a mesma dose em *bolus*. Observou que a infusão contínua de surfactante foi mais eficaz na melhora da função pulmonar quando comparada à dose administrada em *bolus*.⁵⁰

Sun et al compararam, em ratos, um grupo controle, com um grupo que recebeu a administração de surfactante na dose de 200mg/kg imediatamente após a indução da SAM, e com um grupo que recebeu surfactante na mesma dose 3 horas após a indução da SAM.⁵¹ Observou-se que em ambos os grupos houve melhora na oxigenação, na complacência pulmonar e melhor expansão alveolar quando comparados ao grupo controle.⁵¹

Em outro modelo experimental, onde induziram a aspiração de mecônio em ratos adultos, que receberam suspensão de mecônio humano (25mg/ml na dose de 4 ou 5mg/kg). Utilizaram ventilação de alta frequência e usaram Curosurf[®] 200mg/kg em um grupo de 8 ratos, compararam com os demais grupos de estudo (Ventilação mecânica convencional; ventilação mecânica convencional com surfactante; ventilação mecânica de alta frequência). Observaram que a terapia com surfactante junto com ventilação mecânica com alta frequência teve uma resposta positiva superior as demais modalidades terapêuticas.⁵²

Em 2004, em nosso meio, Lyra et al avaliaram duas doses diferentes de surfactante (100 e 200mg/kg de surfactante produzido pelo Instituto

Butantan) em ratos, seus efeitos sobre a complacência pulmonar em curto prazo e análise histológica. Não foram observadas diferenças significativas entre as duas diferentes doses de surfactante exógeno sobre as variáveis analisadas.⁵³

b. Estudos em recém-nascidos humanos

Auten et al utilizaram um surfactante bovino em até quatro doses de 90mg/kg, melhorando o gradiente alvéolo-arterial de oxigênio (A-aDO₂) e o índice de oxigenação (IO), pelo menos a curto prazo. Nenhum paciente morreu e não houve complicações no procedimento, motivando o surgimento de novos estudos controlados.⁵⁴

Em um estudo de Halliday et al com 54 pacientes com SAM tratados com uma dose inicial de 50-200mg/kg de surfactante porcino (Curosurf[®]) com uma média de 14 horas de vida. A relação artério/alveolar da PaO₂ e o índice de oxigenação melhoraram modestamente nestes recém-nascidos. Destes, 18% tiveram uma melhora substancial da função pulmonar, 38% tiveram um resultado modesto e 44% não melhoram em 1 a 2 horas após administração de surfactante. Um terço dos bebês necessitou de doses repetidas de surfactante.⁵⁵

Findlay et al realizaram um ensaio clínico randomizado e controlado com placebo envolvendo 40 recém-nascidos com SAM com necessidade de ventilação mecânica, pressão média de vias aéreas acima de 7cmH₂O e IO em torno de 20. Nesse estudo, o surfactante (Survanta[®]) foi infundido

continuamente pelo tubo endotraqueal durante 20 minutos, precocemente no quadro de insuficiência respiratória, sendo administradas três doses de 150mg/kg a cada 6 horas. Foram observadas melhora na oxigenação arterial, diminuição de escape de ar, redução na necessidade de ECMO, duração da ventilação mecânica e necessidade de oxigênio quando comparado ao placebo. A resposta foi mais evidente após a segunda e terceira doses. Foi sugerido que a resposta parcial à primeira dose deve-se à inativação do surfactante pelo mecônio presente na via aérea. As doses subsequentes superariam essa inibição e ficariam depositadas na superfície alveolar, restabelecendo o surfactante na superfície ar-líquido e melhorando a oxigenação.¹³

Segundo Lotze et al, recém-nascidos a termo com insuficiência respiratória em risco eminente de requerer oxigenação por membrana extracorpórea (ECMO) foram tratados com surfactante, observando-se uma redução da necessidade da mesma. Foi um estudo multicêntrico randomizado duplo-cego. Foram incluídos no estudo 1434 pacientes com idade gestacional maior de 36 semanas, pesando mais de 2 kg, com o diagnóstico de SAM, HPPRN idiopática e sepses, com índice de oxigenação maior que 15, destes, 872 pacientes foram excluídos. Foram randomizados em dois grupos, um recebeu surfactante (4 doses de Survanta[®] - 100mg/kg) e o outro ar (placebo), antes de serem tratados com ECMO. Evidenciando-se que a necessidade da ECMO reduziu com a terapia com surfactante em relação ao uso de placebo (p=0,038).⁵⁶

Em 1993, Khammash et al utilizaram 100mg/kg de surfactante bovino em 20 recém-nascidos a termo com insuficiência respiratória aguda com SAM e 29 recém-nascidos com síndrome do desconforto respiratório. Observando-se uma melhora no índice de oxigenação e redução da necessidade de ECMO.⁵⁷

Em um estudo clinico randomizado multicêntrico, realizado na China, em 19 Unidades de Cuidados Intensivos Neonatais, sessenta e um recém-nascidos a termo com SAM grave foram randomizados. Trinta e um recém-nascidos receberam uma dose inicial de 200mg/kg de surfactante porcino (Curosurf[®]), e repetidas doses de 200, 100 e 100mg/kg dadas a cada 6 –12 horas de intervalo com o máximo de 4 doses. Observou-se melhora da oxigenação neste grupo em comparação ao grupo de recém-nascidos (n=30) que não receberam surfactante.⁵⁸

Nas tabelas 1 e 2 estão apresentados os principais estudos com o uso de surfactante em SAM.

Tabela 1 - Resumo de estudos com surfactante em animais.

Autor	Ano	Surfactante (qual e dose)	Animal	Resultados
Sun et al ⁽⁵¹⁾	1996	Curosurf [®] - 200mg/kg	ratos	Melhora da oxigenação e mecânica pulmonar
Calkovska et al ⁽⁵²⁾	1999	Curosurf [®] - 200mg/kg	8 ratos	Melhora da oxigenação associada a ventilação de alta frequência
Robinson et al ⁽⁵⁰⁾	2002	Survanta [®] -100mg/kg	15 coelhos	Administração em 1 hora tem melhora da função pulmonar
Lyra et al ⁽⁵³⁾	2004	Surfactante Butantan 100 e 200mg/kg	40 coelhos	Sem diferenças entre as doses utilizadas
Kobayashi et al ⁽⁴⁹⁾	2008	Surfactante porcino – 100mg/kg	28 ratos	Recuperação do espaço aéreo

Tabela 2 - Resumo de estudos com surfactante em bolo em recém-nascidos humanos

Autor	Ano	Tipo de surfactante/dose	N	Resultados
Auten et al ⁽⁵⁴⁾	1991	Survanta [®] - 90mg/kg 4 doses 6/6h	7	↑A-aDO ₂ (p=0,03) ↓IO (p<0,001)
Khammash ⁵⁷	1993	Survanta [®] - 100mg/kg	20	↓IO(p<0,001) ↓ECMO
Halliday et al ⁵⁵	1996	Curosurf [®] - 200mg/kg	54	↑A-aDO ₂ ↓IO (p=0,02)
Findlay et al ¹³	1996	Survanta [®] - 150mg/kg 3 doses 6/6h	40	↑A-aDO ₂ ↓ECMO
Lotze et al ⁵⁶	1998	Survanta [®] 100mg/kg 4 doses 6/6h	328	↓ECMO
Estudo multicêntrico Chinês ⁵⁸	2005	Curosurf [®] - 200mg/kg (2 doses) e 100mg/kg (2 doses) 6/6h	61	↑A-aDO ₂ (p<0,01) ↓IO (p<0,05)

Abreviaturas: A-aDO₂ – gradiente alveolo-arterial de oxigênio; IO – índice de oxigenação; ECMO – oxigenação por membrana extracorpórea

1.1.3.2. Lavado broncoalveolar

O uso do lavado broncoalveolar (LBA) visa remover as substâncias nocivas presentes na via aérea dos recém-nascidos com SAM, entre elas o próprio mecônio, neutrófilos, *debris* protéicos e mediadores inflamatórios.⁵⁹ Diversas técnicas de lavado estão sendo estudadas nos últimos anos com diferentes resultados.

Quando realizado com soro fisiológico isoladamente, o LBA apresenta resultados conflitantes. Alguns autores observaram piora do desconforto

respiratório em recém-nascidos.⁶⁰ Outros autores observaram melhora da oxigenação arterial quando realizado em modelos experimentais de SAM em porcos.^{61, 62}

a. Estudos experimentais em animais

Paranka et al utilizaram porcos para realizar LBA com 5ml/kg de soro fisiológico observando-se melhora progressiva do A-aDO₂, mas não melhor do que o LBA com surfactante.⁶¹ Por outro lado, em 1998, Cochrane et al avaliaram diferentes formas da utilização do LBA no tratamento da SAM provocada em coelhos. Demonstraram que o LBA com soro fisiológico isolado não melhorava parâmetros gasométricos e até aumentava a reação inflamatória nos pulmões.⁶²

Em outro estudo experimental realizado por Marraro et al também demonstraram piora significativa da função pulmonar com o uso de LBA com soro fisiológico, fazendo com que os autores sugerissem a possibilidade de uma absorção parcial do soro fisiológico por parte dos alvéolos, comprometendo assim as trocas gasosas, além de uma provável retirada do surfactante, não recomendando seu uso isoladamente.⁶³ Os autores sugerem que parte do soro fisiológico administrado no lavado é prontamente absorvido no alvéolo piorando as trocas gasosas, além de inativar ou deslocar o surfactante. Todos os animais do grupo que utilizou LBA com soro fisiológico morreram (n=5) em até 20 minutos, sugerindo alguma limitação técnica nesse estudo. Uma possível limitação observada é que os autores administraram todo o volume do LBA (10ml/kg) em uma única

alíquota e aguardaram cerca de 5 minutos para aspirar o tubo endotraqueal.⁶³

Em nosso meio, Colvero e colaboradores, estudaram diferentes modalidades terapêuticas em porcos com SAM induzida, demonstraram que o LBA com solução salina, no volume de 15ml/kg, provoca uma melhora inicial na oxigenação, atribuída à remoção mecânica do mecônio da via aérea, mas não se mantinha após seis horas, provavelmente devido à remoção do surfactante pelo LBA. Neste estudo, as PaO₂ arteriais no grupo que recebeu LBA com solução salina eram piores do que as do grupo controle, em quem não havia sido efetivada qualquer intervenção, além da aspiração traqueal habitual realizada no tratamento da SAM.⁴⁵

Considerando aspectos histológicos, o LBA com soro fisiológico isoladamente ocasiona uma maior reação inflamatória, possivelmente associada à remoção do surfactante, levando à formação de áreas atelectásicas e diminuição da complacência pulmonar.^{62, 64} Assim, seria uma opção terapêutica o uso de LBA com surfactante diluído, onde o surfactante também seria repostado e não apenas removido com o LBA com soro fisiológico.

Resumo dos principais trabalhos que utilizaram LBA com soro fisiológico, sem surfactante está apresentado na tabela 3.

Tabela 3 - Resumo de estudos com LBA com soro fisiológico, sem surfactante em animais

Autor	Ano	Surfactante (qual e dose)	Animal	Resultados
Paranka et al ⁶¹	1992	LBA com SF	24 porcos	↑A-aDO ₂ (melhor com surfactante diluído)
Cochrane et al ⁶²	1998	LBA com SF	Coelhos/macacos	↓A-aDO ₂
Marraro et al ⁶³	1998	LBA com SF(10ml/kg)	10 porcos	Piora da função pulmonar
Colvero et al ⁴⁵	2008	LBA com SF(15ml/kg)	15 porcos	↓PaO ₂ (pior que o grupo controle)

Abreviaturas: A-aDO₂ – gradiente alveolo-arterial de oxigênio; PaO₂: pressão parcial de oxigênio

1.1.3.3. Lavado broncoalveolar com surfactante diluído

A combinação de estudos em animais e humanos sugere que o lavado traqueobrônquico com surfactante diluído remove os fatores inibidores do surfactante e aumenta a concentração de fosfolipídio do surfactante, ocorrendo uma melhor resposta a esta associação.^{13, 28, 36, 39, 65-68}

O uso do LBA com surfactante tem sido estudado, tendo em vista que este exerceria um efeito detergente, diminuindo a viscosidade do mecônio. Além desses efeitos mecânicos, sugere-se que reverteria a inibição pelo mecônio e reporia o *pool* original de surfactante endógeno, diminuindo a tensão superficial e melhorando as trocas gasosas.¹⁴

a. Estudos em animais com surfactante diluído

Paranka et al. foram os primeiros autores a realizar LBA com surfactante em modelos experimentais de SAM.⁶¹ Foram utilizados 24 porcos com uma semana de vida. Os animais foram randomizados em três grupos: aspirado traqueal (n=7), lavado com soro fisiológico (n=5) e lavado com solução de surfactante (n=7). Cinco animais foram excluídos (3 por pneumotórax durante a instilação do mecônio, 1 durante o LBA com soro fisiológico e 1 durante o LBA com surfactante). Os resultados observados sugerem que o LBA com surfactante é mais efetivo que o realizado com soro fisiológico no sentido de melhorar o A-aDO₂, o índice de oxigenação, a função pulmonar e reduzir as alterações histológicas.

Balaraman et al evidenciaram que o surfactante diluído e administrado através de LBA em modelos experimentais de SAM tem uma melhor distribuição no parênquima e até um terço da solução com surfactante permaneceu no pulmão.⁶⁹ Os mesmos autores, compararam a administração de duas diferentes formas de surfactante em LBA (Infrasurf[®] e Exosurf[®]) com surfactante em bolo. O surfactante do LBA foi em concentrações de 4 à 4,5 mg do fosfolipídio por mililitro (ml), com um volume de 35ml/kg em porcos com SAM experimental, seguindo-se a aspiração do tubo endotraqueal. Enquanto a administração do surfactante em bolo foi em uma alíquota apenas. Todas as soluções foram mais efetivas na reversão da lesão pulmonar comparadas ao uso da dose em bolo de surfactante.⁷⁰

Ohama et al demonstraram que o LBA com uma solução de surfactante, em coelhos com SAM induzida, foi eficaz em remover o mecônio

da via aérea, e melhorou a oxigenação e ventilação dos mesmos.⁷¹ Em 1999, os mesmos autores avaliaram diferentes concentrações de surfactante usadas no LBA. Em coelhos, observou que uma concentração de 10mg de fosfolípido/ml foi superior às concentrações de 2,5 e 5mg/ml no que se refere às trocas gasosas, quantidade de mecônio removido e diminuição do processo inflamatório alveolar. O grupo controle de LBA com soro fisiológico sem complementação de surfactante foi pior que os demais grupos em todos os aspectos.¹⁶

Cochrane et al realizaram uma abordagem mais vigorosa de LBA em coelhos adultos e macacos rhesus recém-nascidos, realizando três LBA com surfactante KL-4.⁶² Houve melhora substancial da oxigenação arterial e do padrão radiológico no grupo tratado, em comparação com o controle. Além da resposta observada em parâmetros clínicos, a comparação dos achados histológicos mostrou melhor expansão pulmonar e menos *debris* no grupo que utilizou surfactante no LBA em comparação com um grupo controle e com outro grupo que realizou LBA apenas com soro fisiológico.

Dargaville et al evidenciaram melhora no A-aDO₂ e diminuição da lesão pulmonar através de análise histológica em modelo experimental de SAM em porcos com duas semanas de vida submetidos a um LBA com surfactante diluído (2,5mg/ml) em duas alíquotas de 15ml/kg.⁷² Embora sendo criticado por Kinsella, pois em modelo experimental não há o efeito da asfixia comprometendo o débito cardíaco, causando choque e marcadas anormalidades vasculares pulmonar levando a HPPRN que normalmente cursam em SAM grave.⁷³

Calkovska et al, em um estudo experimental realizado em coelhos, compararam três grupos de tratamento da SAM. Um grupo usou LBA com solução salina, o outro Curosurf[®] diluído (10mg/ml), 10 ml/kg, em três alíquotas e no último usou Curosurf[®] diluído com o acréscimo de dextran. Observaram que a limpeza broncoalveolar e melhora da função pulmonar foi mais eficiente no grupo em que dextran foi adicionado à solução.⁷⁴

Jeng et al avaliaram o LBA em porcos com SAM com diferentes volumes de surfactante diluído (Survanta[®] 5mg/ml em duas alíquotas). Um grupo foi tratado com 10ml/kg, outro com 20ml/kg e outro com 30ml/kg Um grupo controle não foi tratado com LBA. Verificaram que nos grupos tratados com volumes de 20ml/kg e 30ml/kg os sinais de lesão pulmonar foram menores que nos tratados com um volume menor (10ml/kg) e nos não tratados com lavado broncoalveolar.⁷⁵

Em 2010, Wang et al avaliaram, em um estudo experimental com porcos recém-nascidos, a redução de citocinas pro-inflamatórias (Interleucina (IL)-1 beta, IL-6, e fator de necrose tumoral alfa) e da apoptose celular com o uso de LBA com surfactante diluído no tratamento da SAM. Observaram que os animais que receberam LBA obtiveram uma melhor troca gasosa e redução da concentração de IL-1, comparados com os do grupo controle ($p < 0,05$), bem como uma redução do número de células pulmonares apoptóticas.⁷⁶

Outro modelo animal utilizado foi o carneiro, em que foi induzida a SAM. Os carneiros foram randomizados em um grupo controle, um grupo que recebeu uma dose de lucinactant[®] 180mg/kg (30mg/ml) e outro que foi

tratado com lavado broncopulmonar, com ml/kg com lucinactant[®] (10mg/ml). Nesta pesquisa evidenciou-se, uma melhora do grupo que utilizou o LBA em relação ao grupo controle e ao grupo que utilizou apenas uma dose em bolo do surfactante.⁷⁷

b. LBA em recém-nascidos humanos

O primeiro estudo realizado em humanos para avaliar a eficácia e segurança do LBA com surfactante, foi um estudo piloto, em que Lam et al realizaram LBA com 15ml/kg de surfactante diluído em solução salina, a uma concentração de fosfolípido de 5mg/ml, nas primeiras 6 horas de vida, em 6 recém-nascidos com SAM grave, sendo estes comparados com controles históricos.¹⁴ Em 48 horas, foi observado melhora do IO, diminuição da pressão média de via aérea, diminuição da necessidade de oxigênio e melhora do A-aDO₂. Também foram observadas reduções no tempo de ventilação mecânica e uso de oxigênio no grupo tratado com surfactante. O procedimento foi bem tolerado e não teve complicações.

Wiswell et al realizaram um estudo piloto aberto, multicêntrico, randomizado e controlado avaliando o efeito do LBA com um surfactante que contém um peptídeo similar à proteína B (lucinactant[®]) na SAM.⁵⁹ Foram incluídos pacientes com mais de 35 semanas de idade gestacional, até o terceiro dia de vida, em ventilação mecânica com IO entre 8 e 25. Vinte e dois pacientes foram randomizados para receber o tratamento convencional para SAM ou LBA com solução de surfactante a 2,5 mg/ml, realizado com volume de 8ml/kg por duas vezes. O terceiro LBA foi realizado com uma

solução de 10mg/ml de fosfolipídio. Cerca de 50% da solução instilada foi recuperada com a aspiração traqueal, sendo mais efetiva quando os recém-nascidos estavam sedados. O procedimento foi considerado seguro e houve uma tendência do grupo do LBA ter um desmame mais precoce da ventilação mecânica e uma diminuição do IO nas primeiras 96 horas. O acompanhamento realizado no primeiro ano de vida não mostrou diferença entre os grupos em relação à necessidade de reinternações, mortalidade e desenvolvimento.

Em um estudo espanhol, em 2004, foram comparadas diferentes formas de tratamento de SAM em 3 grupos: um grupo controle em que os recém-nascidos receberam o tratamento habitual para SAM (sem LBA com surfactante e dexametasona); um segundo grupo foi utilizado LBA com surfactante diluído (5mg/ml, em um volume de 15ml/kg em quatro alíquota) e em um terceiro grupo recebeu LBA com surfactante diluído mais uma dose prévia de dexametasona (0,5mg/kg). Nos dois últimos grupos houve uma significativa melhora no índice de oxigenação, redução do tempo em ventilação mecânica, necessidade de óxido nítrico e período de hospitalização, em comparação com o grupo controle.⁷⁸

Para avaliar a eficácia e a segurança do LBA com surfactante porcino diluído em recém-nascidos ventilados mecanicamente com SAM, Lista et al utilizaram LBA com 15ml/kg de suspensão salina diluída com 5,3mg/ml de surfactante porcino (Curosurf®). Usaram alíquotas de 2,5ml administradas via intratraqueal. A média de idade dos recém-nascidos era de 3,5 horas (1-8h). Observaram melhora da oxigenação e do exame radiológico 6 horas

após o uso do LBA, não observando efeitos adversos e conseguindo reduzir a necessidade de óxido nítrico.⁷⁹

Em 2007, Dargaville et al exploraram o efeito de grandes volumes de LBA com surfactante (surfactante bovino diluído na concentração de 5mg/ml com um volume de 15ml/kg em duas alíquotas) comparados com um grupo controle sem LBA. Não observaram alterações hemodinâmicas durante a aplicação deste volume elevado, sugerindo novos estudos randomizados para maiores esclarecimentos quanto ao seu efeito.⁸⁰

Gadzinowski et al realizaram um estudo objetivo em que foi comparada a efetividade do tratamento com surfactante em *bolus* ou em lavado broncoalveolar, seguido do uso de óxido nítrico, em 13 recém-nascidos com SAM e HPPRN. Os pacientes foram randomizados entre 2 e 22 horas de vida, sendo que 6 recém-nascidos receberam surfactante em *bolus* e 7 foram tratados com lavado broncoalveolar com surfactante, seguido do uso de NO. Não foram observadas vantagens entre uma e outra terapia.⁸¹

Em um estudo multicêntrico, comparou-se a duração de suporte ventilatório e o uso do LBA com surfactante. Foi observado que não havia diferença no tempo de ventilação mecânica entre os recém-nascidos que fizeram o LBA e os que não o fizeram. Mas observaram redução da mortalidade, principalmente nos centros onde não havia ECMO.⁸²

Um resumo dos principais estudos descritos anteriormente, relacionados a utilização de LBA com surfactante em SAM estão nas tabelas 4 e 5.

Tabela 4 - Resumo de estudos em animais de LBA com surfactante em SAM.

Autor	Ano	Dose e tipo surfactante	Animal	Resultado
Paranka et al ⁶¹	1992	Survanta [®] 100mg/kg-15ml/kg	24 porcos	↑ A-aDO ₂ ↓IO
Cochrane et al ⁶²	1998	KL4 surfacatant (2mg/ml-20ml/kg em 2 doses)	Coelhos e macacos	↑PaO ₂ e melhora expansão pulmonar
Ohama et al ¹⁶	1999	Surfactante TA (2,5mg, 5mg e 10mg/ml – 10ml/kg em 3 doses)	29 coelhos	Melhora gasométricas no grupo de 10mg/ml
Dargaville et al ⁷²	2003	Survanta [®] (2,5mg/kg-30ml/kg em 2 doses)	Porcos	↑ A-aDO ₂ e ↓IO
Balarmann et al ⁶⁹	2004	Infrasurf [®] e Exosurf [®] (4mg/ml-35ml/kg)	29 porcos	↑PaO ₂ e função pulmonar
Calkovska et al ⁷⁴	2008	Curosuf [®] (10mg/ml-100mg/kg) 10ml/kg em 3doses+ dextran	18 coelhos	↑ limpeza broncoalveolar e função pulmonar
Jeng et al ⁷⁵	2009	Survanta [®] -5mg/ml-(10, 20 e 30ml/kg) em duas doses	24 porcos	Redução lesão pulmonar com 20 e 30ml/kg
Wang et al ⁷⁶	2010	Surfactante -5mg/ml-30ml/kg em 2 aliquotas	12 porcos	↓IO, ↓IL-1β, ↓Apoptose celular
Ray-Santano et al ⁷⁷	2011	Lucinactant [®] 10mg/ml e bolus lucinactant [®] 30mg/ml	18 carneiros	↑ A-aDO ₂ em relação ao controle e surf em bolus

Abreviaturas: A-aDO₂ – gradiente alveola-arterial de oxigênio; PaO₂: pressão parcial de oxigênio; IO – índice de oxigênio; IL-1β – interleucina 1 beta.

Tabela 5 - Resumo de estudos em humanos de LBA com surfactante em SAM

Autor	Ano	Dose e tipo surfactante	Pacientes (N)	Resultados
Lam et al ¹⁴	1999	Survanta [®] -5mg/ml-15ml/kg em alíquotas de 2ml	6	↓IO, ↓MAP, ↑A-aDO ₂
Wiswell et al ⁵⁹	2002	Lucinactant [®] 2,5mg/ml – 2 alíquotas de 8ml/kg + 10mg/ml 2 alíquotas de 8ml/kg	22	↓IO
Salvia-Roiges et al ⁷⁸	2004	Survanta [®] -5mg/ml-15ml/kg em 4 alíquotas	24	↓IO
Lista et al ⁷⁹	2006	Curosurf [®] (5,3mg/ml - 15ml/kg(em 6 alíquotas)	8	↑PaO ₂ e melhora radiológica
Dargaville et al ⁸⁰	2007	Survanta [®] (5mg/ml-30ml/kg em 2 doses)	8	↑ PaO ₂
Dargaville et al ⁸²	2011	Survanta [®] (5mg/ml-15ml/kg)	66	↓Óbitos + necessidade de ECMO ?

Abreviaturas: A-aDO₂ – gradiente alveolo-arterial de oxigênio; PaO₂: pressão parcial de oxigênio; IO – índice de oxigênio; MAP – pressão média vias aéreas

1.1.3.4 Lavado broncoalveolar com dose complementar de surfactante

A utilização de LBA, seguido de uma dose complementar de surfactante, teria quatro propósitos: (a) remoção do mecônio para desobstrução da via aérea; (b) restabelecimento da função surfactante inibida pelo mecônio;^{16, 83} (c) reposição do surfactante retirado nas aspirações; e (d) reduzir a vasoconstrição pulmonar.⁸⁴

a. Estudos em animais com LBA com dose complementar de surfactante

Em nosso meio, Colvero et al avaliaram o efeito da reposição do surfactante e o lavado broncoalveolar (LBA) em modelos experimentais (15 porcos com SAM). Randomizaram 3 grupos experimentais com SAM por 6 horas. Um grupo não recebeu LBA, um recebeu LBA com solução salina (15ml/kg) e o outro grupo recebeu LBA com solução salina (15ml/kg), seguida por suplementação com uma dose de 100mg/kg de surfactante (Curosurf[®]), sendo que este último grupo apresentou melhora da oxigenação em relação aos demais, sugerindo que esta intervenção melhora a oxigenação.⁴⁵ Em um outro estudo pelos mesmos autores, foram randomizados 4 grupos: grupo I - controle (n=9); grupo II (n=6) – LBA com surfactante diluído(15ml/kg – 5mg/ml); grupo III (n=5) LBA com surfactante diluído(15ml/kg – 5mg/ml) seguido de dose complementar de 100mg/kg de surfactante(Curosurf[®]); grupo IV (n=5) dose de surfactante (Curosurf[®] 100mg/kg) sem lavado broncoalveolar. Observou melhora da oxigenação em curto prazo no grupo III.⁸⁵

Pereira et al avaliaram o uso do LBA com surfactante diluído (15ml/kg com Curosurf[®] 5mg/ml), com uma dose adicional de surfactante (100mg/kg), comparando o uso imediato, logo após a indução da SAM com o uso tardio (3 horas após a indução da SAM). Observaram que em ambos os procedimentos terapêuticos ocorreu melhora similar da oxigenação.⁸⁶

b. Estudos em humanos com LBA com dose complementar de surfactante

Mosca et al relataram dois casos de recém-nascidos com SAM grave nos quais foi realizado LBA com 30 ml/kg de soro fisiológico em duas alíquotas.⁸⁷ O procedimento foi realizado com 3 e 7 horas de vida seguido de uma dose complementar do surfactante Alveofact[®], 100 mg/kg. Ambos toleraram bem o procedimento e apresentaram melhora gasométrica e radiológica.

Möller et al realizaram um estudo aberto em 12 recém-nascidos a termo entre 4 e 16 horas de vida, com critérios de uso de ECMO (IO maior que 40).⁸⁴ Foi realizado LBA com 5-10 ml/kg de soro fisiológico até clarear a secreção traqueal, sendo após administrada uma dose de 100 mg/kg de surfactante (Alveofact[®]). O procedimento foi bem tolerado e observou-se uma diminuição do IO de $49,4 \pm 13,3$ para $27,4 \pm 7,3$ ($p < 0,01$). Nove pacientes não necessitaram ECMO e todos sobreviveram sem comprometimento neurológico com 12 meses.

Em um relato de caso de SAM com hemorragia pulmonar, Kaneko et al. utilizaram uma pequena dose complementar de surfactante (40mg/kg) após o LBA com surfactante diluído, observando melhora na oxigenação e desmame da ventilação mecânica.⁸³

Em 2004, em um estudo polonês, foi utilizado LBA com surfactante bovino seguido de uma dose complementar de surfactante. Foi avaliada a mecânica pulmonar (complacência dinâmica, resistência da via aérea e pressão média das vias aéreas) com um pneumotacógrafo. Foram comparados os resultados com os de um grupo controle que não recebeu a

terapia com surfactante. Evidenciaram uma significativa e rápida melhora das condições pulmonares, que persistiram por pelo menos 24 horas.⁸⁸

Um resumo dos principais estudos descritos anteriormente, relacionados a utilização de LBA e surfactante exógeno em SAM é apresentado nas tabelas 6 e 7.

Tabela 6 - Resumo de estudos com LBA com e sem surfactante com acréscimo de uma dose de surfactante em animais recém-nascidos.

Autor	Ano	Volume LBA e dose de surfactante	Animal	Resultado
Colvero et al ⁴⁵	2008	LBA com SF0,9%15ml/kg+100mg/kg de Surf.	15 Porcos	↑PaO ₂
Colvero et al ⁸⁵	2009	LBA com Surf(5mg/ml)15ml/kg+100mg/kg de Surf. (3 horas observação)	25 porcos	↑PaO ₂
Pereira et al ⁸⁶	2009	LBA com Surf(5mg/ml)15ml/kg+100mg/kg de Surf. (imediate e após 3 h da SAM)	15 porcos	↑PaO ₂

Abreviaturas:PaO₂: pressão parcial de oxigênio; surf: Curosurf[®]

Tabela 7 - Resumo de estudos em humanos de LBA e bolus de surfactante em SAM.

Autor	Ano	Volume do LBA e tipo surfactante	N	Resultado
Mosca et al ⁸⁷	1996	LBA com SF 0,9%30ml/kg + Alveofact [®] 100mg/kg	2	Melhora gasométrica e radiológica
Moller et al ⁸⁴	1999	LBA com SF0,9% 5-10ml/kg + Alveofact [®] 100mg/kg	12	↓IO ↓ECMO
Szymankiewicz et al ⁸⁸	2004	LBA com Survanta [®] (5mg/ml-15ml/kg) + Survanta [®] 4ml/kg	16	↑PaO ₂ e ↑função pulmonar

Abreviaturas:LBA: Lavado broncoalveolar; IO – índice de oxigênio; ECMO – oxigenação por membrana extracorpórea; PaO₂: pressão parcial de oxigênio; SF: soro fisiológico

1.1.3.5 Considerações finais

A Sociedade Canadense de Pediatria, Comitê Fetal e Neonatal, recomenda o uso da terapia com surfactante exógeno em todos os bebês com SAM intubados, necessitando mais de 50% de FiO₂ (recomendação grau A).⁸⁹ A justificativa é que ocorre uma deficiência ou disfunção secundária do surfactante em recém-nascidos com SAM, pneumonia e hemorragia pulmonar, onde uma variedade de substâncias, incluindo albumina, mecônio e sangue inibem a função surfactante.^{56, 67, 87, 88, 90}

Numa revisão sistemática não foi observada diferença em relação à mortalidade e a incidência de pneumotórax, mas foi demonstrada diminuição da necessidade de ECMO (nível de evidência – 1a).⁹⁰

Conforme visto anteriormente, foram desenvolvidos diversos estudos em animais e estudos piloto em humanos, utilizando diferentes estratégias de LBA e surfactante, sugerindo atenuação da doença pulmonar induzida pelo mecônio. É possível que o LBA com surfactante diluído, acrescentado de uma dose final alta de surfactante, seja uma alternativa melhor do que o simples uso de surfactante ou de LBA com surfactante diluído, sem surfactante complementar. Doses altas poderiam superar a distribuição não homogênea do surfactante administrado na via aérea parcialmente obstruída e vencer a inativação do surfactante exógeno pelo mecônio.

1.2 JUSTIFICATIVA

A despeito da redução da mortalidade neonatal em decorrência da SAM, esta ainda vem sendo uma das etiologias importantes de morbimortalidade neste período. Novas intervenções estão sendo avaliadas, principalmente o uso de surfactante exógeno e do lavado brocoalveolar. A melhor forma de aplicação destas terapias ainda não está esclarecida. Em trabalhos anteriores o uso de surfactante no tratamento da SAM mostrou resultados modestos. A utilização repetida de lavado broncoalveolar com surfactante diluído seguida do uso de surfactante parece ser promissora.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo geral

Avaliar, em modelo experimental, o efeito sobre os gases sanguíneos arteriais e a mecânica pulmonar do tratamento da síndrome de aspiração de mecônio grave com surfactante exógeno, precedido ou não de lavado broncoalveolar com surfactante diluído em pequenos volumes.

1.3.2 Objetivos específicos:

Comparar as duas modalidades terapêuticas entre si e com um grupo controle no que se refere a:

- oxigenação do sangue arterial;
 - alterações do equilíbrio ácido-básico
 - alterações da mecânica pulmonar
-

1.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Escande B, Kuhn P, Rivera S, Messer J. Secondary surfactant deficiencies. *Arch Pediatr*. 2004;11:1351-9.
 2. Dargaville PA, Copnell B. The epidemiology of meconium aspiration syndrome: incidence, risk factors, therapies, and outcome. *Pediatrics*. 2006;117:1712-21.
 3. Colvero MO, Colvero AP, Fiori RM, Garcia PCR. Novas opções terapêuticas na síndrome da aspiração de mecônio. *Rev Bras Saude Mater Infant*. 2006;6:367-74.
 4. Engle WA. Surfactant-replacement therapy for respiratory distress in the preterm and term neonate. *Pediatrics*. 2008;121:419-32.
 5. Luz JH, Fiori HH, Pereira MR, Piva J, Fiori RM. Stable microbubble test for evaluation of surfactant inhibition by meconium, human albumin and blood and restoration of surfactant activity by dextran. *Annals of 17th International Workshop on Surfactant Replacement*; 2002 May;Cagliari, Italy; 2002.
 6. Moses D, Holm BA, Spitale P, Liu MY, Enhorning G. Inhibition of pulmonary surfactant function by meconium. *Am J Obstet Gynecol*. 1991;164:477-81.
 7. Davey AM, Becker JD, Davis JM. Meconium aspiration syndrome: physiological and inflammatory changes in a newborn piglet model. *Pediatr Pulmonol*. 1993;16:101-8.
 8. Kattwinkel J. Surfactant lavage for meconium aspiration: a word of caution. *Pediatrics*. 2002;109:1167-8.
 9. Clark DA, Nieman GF, Thompson JE, Paskanik AM, Rokhar JE, Bredenberg CE. Surfactant displacement by meconium free fatty acids: an alternative explanation for atelectasis in meconium aspiration syndrome. *J Pediatr*. 1987;110:765-70.
 10. Sun B, Curstedt T, Robertson B. Surfactant inhibition in experimental meconium aspiration. *Acta Paediatr*. 1993;82:182-9.
 11. Cleary GM, Wiswell TE. Meconium-stained amniotic fluid and the meconium aspiration syndrome. An update. *Pediatr Clin North Am*. 1998;45:511-29.
-

12. Liu WF, Harrington T. Delivery room risk factors for meconium aspiration syndrome. *Am J Perinatol.* 2002;19:367-78.
 13. Findlay RD, Taeusch HW, Walther FJ. Surfactant replacement therapy for meconium aspiration syndrome. *Pediatrics.* 1996;97:48-52.
 14. Lam BC, Yeung CY. Surfactant lavage for meconium aspiration syndrome: a pilot study. *Pediatrics.* 1999;103:1014-8.
 15. Whitsett JA PG, Rice WR, Warner BB, Wert SE. In: Avery GB, Fletcher MA, MacDonald MG (ed). *Neonatology – Pathophysiology and Management of the Newborn. Acute Respiratory Disorders.* 5th ed ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Williams; 1999.
 16. Ohama Y, Ogawa Y. Treatment of meconium aspiration syndrome with surfactant lavage in an experimental rabbit model. *Pediatr Pulmonol.* 1999;28:18-23.
 17. Qian LL, Liu CQ, Guo YX, Jiang YJ, Ni LM, Xia SW, Liu XH, Zhuang WZ, Xiao ZH, Wang SN, Zhou XY, Sun B. Current status of neonatal acute respiratory disorders: a one-year prospective survey from a Chinese neonatal network. *Chin Med J (Engl).* 2010;123:2769-75.
 18. van Ierland Y, de Boer M, de Beaufort AJ. Meconium-stained amniotic fluid: discharge vigorous newborns. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2010;95:69-71.
 19. Guinsburg R, Miyoshi MH. Síndrome da aspiração de mecônio. *Jornal de Perinatologia - Aparelho Respiratório em Neonatologia.* 2001;Parte II: 273-90.
 20. Wu JM, Yeh TF, Wang JY, Wang JN, Lin YJ, Hsieh WS, Lin CH. The role of pulmonary inflammation in the development of pulmonary hypertension in newborn with meconium aspiration syndrome (MAS). *Pediatr Pulmonol Suppl.* 1999;18:205-8.
 21. Donn SM, Dalton J. Surfactant replacement therapy in the neonate: beyond respiratory distress syndrome. *Respir Care.* 2009;54:1203-8.
 22. Angert RM, Pilon AL, Chester D, Davis JM. CC10 reduces inflammation in meconium aspiration syndrome in newborn piglets. *Pediatr Res.* 2007;62:684-8.
 23. de Beaufort AJ, Bakker AC, van Tol MJ, Poorthuis BJ, Schrama AJ, Berger HM. Meconium is a source of pro-
-

- inflammatory substances and can induce cytokine production in cultured A549 epithelial cells. *Pediatr Res.* 2003;54:491-5.
24. Mollnes TE, Castellheim A, Lindenskov PH, Salvesen B, Saugstad OD. The role of complement in meconium aspiration syndrome. *J Perinatol.* 2008;28:116-9.
25. Salvesen B, Stenvik J, Rossetti C, Saugstad OD, Espevik T, Mollnes TE. Meconium-induced release of cytokines is mediated by the TLR4/MD-2 complex in a CD14-dependent manner. *Mol Immunol.* 2010;47:1226-34.
26. Zagariya A, Bhat R, Uhal B, Navale S, Freidine M, Vidyasagar D. Cell death and lung cell histology in meconium aspirated newborn rabbit lung. *Eur J Pediatr.* 2000;159:819-26.
27. Zagariya A, Bhat R, Chari G, Uhal B, Navale S, Vidyasagar D. Apoptosis of airway epithelial cells in response to meconium. *Life Sci.* 2005;76:1849-58.
28. Tyler DC, Murphy J, Cheney FW. Mechanical and chemical damage to lung tissue caused by meconium aspiration. *Pediatrics.* 1978;62:454-9.
29. Murphy JD, Vawter GF, Reid LM. Pulmonary vascular disease in fatal meconium aspiration. *J Pediatr.* 1984;104:758-62.
30. Simpson CM, Smolich JJ, Shekerdemian LS, Penny DJ. Urotensin-II contributes to pulmonary vasoconstriction in a perinatal model of persistent pulmonary hypertension of the newborn secondary to meconium aspiration syndrome. *Pediatr Res.* 2010;67:150-7.
31. Zagariya A, Sierzputovska M, Navale S, Vidyasagar D. Role of meconium and hypoxia in meconium aspiration-induced lung injury in neonatal rabbits. *Mediators Inflamm.* 2010;2010:204831.
32. Davey AM, Becker JD, Davis JM. Meconium aspiration syndrome: physiological and inflammatory changes in a newborn piglet model. *Pediatr Pulmonol.* 1993;16:101-8.
33. Moses D HB, Spitale P, Liu M, Enhorning G. Inhibition of pulmonary surfactant function by meconium. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:477-81.
34. Cleary GM, Antunes MJ, Ciesielka DA, Higgins ST, Spitzer AR, Chander A. Exudative lung injury is associated with decreased levels of surfactant proteins in a rat model of meconium aspiration. *Pediatrics.* 1997;100:998-1003.
-

35. Higgins ST, Wu AM, Sen N, Spitzer AR, Chander A. Meconium increases surfactant secretion in isolated rat alveolar type II cells. *Pediatr Res*. 1996;39:443-7.
 36. Hilgendorff A, Rawer D, Doerner M, Tutdibi E, Ebsen M, Schmidt R, Guenther A, Gortner L, Reiss I. Synthetic and natural surfactant differentially modulate inflammation after meconium aspiration. *Intensive Care Med*. 2003;29:2247-54.
 37. Hilgendorff A, Doerner M, Rawer D, Leick J, Trotter A, Ebsen M, Ruppert C, Guenther A, Gortner L, Reiss I. Effects of a recombinant surfactant protein-C-based surfactant on lung function and the pulmonary surfactant system in a model of meconium aspiration syndrome. *Crit Care Med*. 2006;34:203-10.
 38. Clarck DA, Nieman GF, Thompson JE, Paskanik AM, Rokhar JE, Bredenberg CE. Surfactant displacement by meconium free fatty acids: an alternative explanation for atelectasis in meconium aspiration syndrome. *J Pediatr*. 1987;110:765-70.
 39. Sun B, Curstedt T, Robertson B. Surfactant inhibition in experimental meconium aspiration syndrome. *Acta Paediatr*. 1993;82:182-9.
 40. Oelberg DG, Downey SA, Flynn MM. Bile salt-induced intracellular Ca⁺⁺ accumulation in type II pneumocytes. *Lung*. 1990;168:297-308.
 41. Lopez-Rodriguez E, Echaide M, Cruz A, Taeusch HW, Perez-Gil J. Meconium impairs pulmonary surfactant by a combined action of cholesterol and bile acids. *Biophys J*. 2011;100:646-55.
 42. Janssen DJ, Carnielli VP, Cogo P, Bohlin K, Hamvas A, Luijendijk IH, Bunt JE, Tibboel D, Zimmermann LJ. Surfactant phosphatidylcholine metabolism in neonates with meconium aspiration syndrome. *J Pediatr*. 2006;149:634-9.
 43. Bae CW, Takahashi A, Chida S, Sasaki M. Morphology and function of pulmonary surfactant inhibited by meconium. *Pediatr Res*. 1998;44:187-91.
 44. Oh MH, Bae CW. Inhibitory effect of meconium on pulmonary surfactant function tested in vitro using the stable microbubble test. *Eur J Pediatr*. 2000;159:770-4.
 45. Colvero MO, Fiori HH, Fiori RM, Luz JH, de Paula D, Oppermann C, Pitrez PM, da Silva VD, Colvero AP.
-

- Bronchoalveolar lavage plus surfactant in a piglet model of meconium aspiration syndrome. *Neonatology*. 2008;93:188-92.
46. Been JV, Zimmermann LJ. What's new in surfactant? A clinical view on recent developments in neonatology and paediatrics. *Eur J Pediatr*. 2007;166:889-99.
47. Robertson B. New targets for surfactant replacement therapy: experimental and clinical aspects. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1996;75:1-3.
48. Seuryneck SL, Brown NJ, Wu CW, Germino KW, Kohlmeir EK, Ingenito EP, Glucksberg MR, Barro AE, Johnson M. Optical monitoring of bubble size and shape in a pulsating bubble surfactometer. *J Appl Physiol*. 2005;99:624-33.
49. Kobayashi T, Wu H, Cui X, Li W, Matsuhisa D, Tanaki N, Tashiro K. Effects of surfactant replacement on irregular overdistension of meconium-injured lungs in rats. *Neonatology*. 2008;93:117-24.
50. Robinson TW, Roberts AM. Effects of exogenous surfactant on gas exchange and compliance in rabbits after meconium aspiration. *Pediatr Pulmonol*. 2002;33:117-23.
51. Sun B, Curstedt T, Robertson B. Exogenous surfactant improves ventilation efficiency and alveolar expansion in rats with meconium aspiration. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;154:764-70.
52. Calkovska A, Sun B, Curstedt T, Renheim G, Robertson B. Combined effects of high-frequency ventilation and surfactant treatment in experimental meconium aspiration syndrome. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1999;43:135-45.
53. Lyra JC, Mascaretti RS, Precioso AR, Chang YC, Costa MT, Vaz FA, Okay Y, Rebello CM. Different doses of exogenous surfactant for treatment of meconium aspiration syndrome in newborn rabbits. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo*. 2004;59:104-12.
54. Auten RL, Notter RH, Kendig JW, Davis JM, Shapiro DL. Surfactant treatment of full-term newborns with respiratory failure. *Pediatrics*. 1991;87:101-7.
55. Halliday HL, Speer CP, Robertson B. Treatment of severe meconium aspiration syndrome with porcine surfactant. Collaborative Surfactant Study Group. *Eur J Pediatr*. 1996;155:1047-51.
-

-
56. Lotze A, Mitchell BR, Bulas DI, Zola EM, Shalwitz RA, Gunkel JH. Multicenter study of surfactant (beractant) use in the treatment of term infants with severe respiratory failure. Survanta in Term Infants Study Group. *J Pediatr.* 1998;132:40-7.
 57. Khammash H, Perlman M, Wojtulewicz J, Dunn M. Surfactant therapy in full-term neonates with severe respiratory failure. *Pediatrics.* 1993;92:135-9.
 58. Chinese Collaborative Study Group for Neonatal. Respiratory Diseases Treatment of severe meconium aspiration syndrome with porcine surfactant: a multicentre, randomized, controlled trial. *Acta Paediatr.* 2005;94:896-902.
 59. Wiswell TE, Knight GR, Finer NN, Donn SM, Desai H, Walsh WF, Sekar KC, Bernstein G, Keszler M, Visser VE, Merritt TA, Mannino FL, Mastroianni L, Marcy B, Revak SD, Tsai H, Cochrane CG. A multicenter, randomized, controlled trial comparing Surfaxin (Lucinactant) lavage with standard care for treatment of meconium aspiration syndrome. *Pediatrics.* 2002;109:1081-7.
 60. Carson BS, Losey RW, Bowes WA Jr., Simmons MA. Combined obstetric and pediatric approach to prevent meconium aspiration syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1976;126:712-5.
 61. Paranka MS, Walsh WF, Stancombe BB. Surfactant lavage in a piglet model of meconium aspiration syndrome. *Pediatr Res.* 1992;31:625-8.
 62. Cochrane CG, Revak SD, Merritt TA, Schraufstatter IU, Hoch RC, Henderson C, Andersson S, Takamori H, Oades ZG. Bronchoalveolar lavage with KL4-surfactant in models of meconium aspiration syndrome. *Pediatr Res.* 1998;44:705-15.
 63. Marraro G, Bonati M, Ferrari A, Barzaghi MM, Pagani C, Bortolotti A, Galbiati A, Luchetti M, Croce A. Perfluorocarbon broncho-alveolar lavage and liquid ventilation versus saline broncho-alveolar lavage in adult guinea pig experimental model of meconium inhalation. *Intensive Care Med.* 1998;24:501-8.
 64. Hansen T, Corbet A. Disorders of the transition. In: Taeusch W, Ballard RA editors. *Avery's diseases of the newborn 7th ed.* Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1998.p.620.
-

-
65. Rossi EM, Philipson EH, Williams TG, Kalhan SC. Meconium aspiration syndrome: intrapartum and neonatal attributes. *Am J Obstet Gynecol.* 1989;161:1106-10.
 66. Wiswell TE, Gannon CM, Jacob J, Goldsmith L, Szyld E, Weiss K, Schutzman D, Cleary GM, Filipov P, Kurlat I, Caballero CL, Abassi S, Sprague D, Oltorf C, Padula M. Delivery room management of the apparently vigorous meconium-stained neonate: results of the multicenter, international collaborative trial. *Pediatrics.* 2000;105:1-7.
 67. Dargaville PA, South M, McDougall PN. Surfactant and surfactant inhibitors in meconium aspiration syndrome. *J Pediatr.* 2001;138:113-5.
 68. Tegtmeier FK, Gortner L, Ludwig A, Brandt E. In vitro modulation of induced neutrophil activation by different surfactant preparations. *Eur Respir J.* 1996;9:752-7.
 69. Balaraman V, Sood SL, Finn KC, Hashiro G, Uyehara CF, Easa D. Physiologic response and lung distribution of lavage versus bolus Exosurf in piglets with acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;153:1838-43.
 70. Meister J, Balaraman V, Ramirez M, Uyehara CF, Killeen J, Ku T, Person D, Easa D. Lavage administration of dilute surfactant in a piglet model of meconium aspiration. *Lung.* 2004;182:227-40.
 71. Ohama Y, Itakura Y, Koyama N, Eguchi H, Ogawa Y. Effect of surfactant lavage in a rabbit model of meconium aspiration syndrome. *Acta Paediatr Jpn.* 1994;36:236-8.
 72. Dargaville PA, Mills JF, Headley BM, Chan Y, Coleman L, Loughnan PM, Morley CJ. Therapeutic lung lavage in the piglet model of meconium aspiration syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168:456-63.
 73. Kinsella JP. Meconium aspiration syndrome: is surfactant lavage the answer? *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168:413-4.
 74. Calkovska A, Mokra D, Drgova A, Zila I, Javorka K. Bronchoalveolar lavage with pulmonary surfactant/dextran mixture improves meconium clearance and lung functions in experimental meconium aspiration syndrome. *Eur J Pediatr.* 2008;167:851-7.
 75. Jeng MJ, Soong WJ, Lee YS. Effective lavage volume of diluted surfactant improves the outcome of meconium
-

- aspiration syndrome in newborn piglets. *Pediatr Res.* 2009;66:107-12.
76. Wang PW, Jeng MJ, Wang LS, Fang LJ, Soong WJ. Surfactant lavage decreases systemic interleukin-1 beta production in meconium aspiration syndrome. *Pediatr Int.* 2010;52:432-7.
77. Rey-Santano C, Alvarez-Diaz FJ, Mielgo V, Murgia X, Lafuente H, Ruiz-Del-Yerro E, Valls-I-Soler A, Gastiasoro E. Bronchoalveolar lavage versus bolus administration of lucinactant, a synthetic surfactant in meconium aspiration in newborn lambs. *Pediatr Pulmonol.* 2011;46:991-9.
78. Salvia-Roiges MD, Carbonell-Estrany X, Figueras-Aloy J, Rodriguez-Miguel JM. Efficacy of three treatment schedules in severe meconium aspiration syndrome. *Acta Paediatr.* 2004;93:60-5.
79. Lista G, Bianchi S, Castoldi F, Fontana P, Caviglioli F. Bronchoalveolar lavage with diluted porcine surfactant in mechanically ventilated term infants with meconium aspiration syndrome. *Clin Drug Investig.* 2006;26:13-9.
80. Dargaville PA, Mills JF, Copnell B, Loughnan PM, McDougall PN, Morley CJ. Therapeutic lung lavage in meconium aspiration syndrome: a preliminary report. *J Paediatr Child Health.* 2007;43:539-45.
81. Gadzinowski J, Kowalska K, Vidyasagar D. Treatment of MAS with PPHN using combined therapy: SLL, bolus surfactant and iNO. *J Perinatol.* 2008;28:56-66.
82. Dargaville PA, Copnell B, Mills JF, Haron I, Lee JK, Tingay DG, Rohana J, Mildenhall LF, Jeng MJ, Narayanan A, Battin MR, Kuschel CA, Sadowsky JL, Patel H, Kilburn CJ, Carlin JB, Morley CJ. Randomized Controlled Trial of Lung Lavage with Dilute Surfactant for Meconium Aspiration Syndrome. *J Pediatr.* 2011;158:383-9.
83. Kaneko M, Watanabe J, Ueno E. Surfactant lavage and replacement in meconium aspiration syndrome with pulmonary hemorrhage. *J Perinat Med.* 2001;29:351-6.
84. Moller JC, Kohl M, Reiss II, Diederich W, Nitsche EM, Gopel W, Gortner L. Saline lavage with substitution of bovine surfactant in term neonates with meconium aspiration syndrome (MAS) transferred for extracorporeal membrane oxygenation (ECMO): a pilot study. *Crit Care.* 1999;3:19-22.
-

85. Colvero MO. Uso de surfactante em modelo experimental de Síndrome de Aspiração de Mecônio.[doutorado]. Porto Alegre: Pontifca Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2009.
86. Pereira MR, Fiori HH, Luz JH, Colvero MO, Fiori AH, Bisinela F, Fiori RM. Early Versus Late Administration of Bronchoalveolar Lavage with Diluted Surfactant Followed by a Supplementary Dose of Surfactant in an Experimental Model of Meconium Aspiration Syndrome. *PAS/ASPR Joint Meeting, Poster Session: Neonatal Pulmonology*; Denver, Colorado 2011.
87. Mosca F, Colnaghi M, Castoldi F. Lung lavage with a saline volume similar to functional residual capacity followed by surfactant administration in newborns with severe meconium aspiration syndrome. *Intensive Care Med.* 1996;22:1412-3.
88. Szymankiewicz M, Gadzinowski J, Kowalska K. Pulmonary function after surfactant lung lavage followed by surfactant administration in infants with severe meconium aspiration syndrome. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2004;16:125-30.
89. Fetus and Newborn Committee, Canadian Paediatric Society. Recommendations for neonatal surfactant therapy. *Paediatr Child Health.* 2005;10:109-16.
90. El Shahed AI, Dargaville P, Ohlsson A, Soll RF. Surfactant for meconium aspiration syndrome in full term/near term infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007:CD002054
-

CAPÍTULO II

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo experimental no Laboratório de Habilidades Médicas da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul no período de maio de 2010 a outubro de 2010, onde se utilizou 27 porcos recém-nascidos da raça híbrida, com menos de 24 horas de vida. Após sedação com cloridrato de cetamina 2mg/kg por via intramuscular, os animais foram colocados em uma mesa cirúrgica, na posição supina, mantidos aquecidos, com o objetivo de manter a temperatura corporal entre 38° e 39° Celsius. Foi passado um cateter umbilical venoso 5French através do qual foi administrado citrato de fentanila intermitente (5µg/kg) para analgesia. Em seguida, a pele da região cervical anterior foi infiltrada com lidocaína 2%, sem vasoconstritor, para se proceder a traqueostomia. Foi utilizada uma cânula endotraqueal 3,5, sendo introduzida na traquéia de 3,5 a 4,0cm. (figura 1)



Figura 1 - animal sedado, traqueostomizado e com os vasos umbilicais cateterizados

Após a obtenção do acesso da via aérea, e já com ventilação com pressão positiva, foi administrado brometo de pancurônio 0,1mg/kg/dose para se obter paralisação. Foi então cateterizada a artéria umbilical para obtenção de gasometrias arteriais, tendo sido utilizado um cateter umbilical 3,5 *French* usando-se técnica semelhante à utilizada em recém-nascidos.¹

O citrato de fentanila e o brometo de pancurônio foram repetidos a cada 1 a 2 horas ou quando julgado necessário para mantê-los anestesiados e paralisados. Nos cateteres venoso e arterial foi infundido SG 5% num volume de cerca de 80ml/kg/dia.² Foram monitoradas a saturação, a frequência cardíaca e a temperatura axilar. Os porcos foram colocados em um ventilador limitado por pressão, ciclado a tempo (BP 200 – Pro-Medico – RJ - Brasil). Os parâmetros ventilatórios foram inicialmente padronizados, com uma frequência respiratória de 25 movimentos/minuto, pressão positiva no final da expiração – positive end-expiratory pressure (PEEP) de 5cmH₂O,

pico inspiratório de pressão (PIP) de 15cmH₂O, fluxo de 6 l/min, FiO₂ de 1,0 e um tempo inspiratório de 0,4 segundos. Foi coletada uma gasometria arterial de base (analisada no aparelho ABL 5 – ©Radiometer – Copenhagen – Denmark) e foi avaliada a função pulmonar com um pneumotacógrafo (©Hans Rudolph inc. Linear Pneumothach RSS 100) acoplado ao tubo endotraqueal.

Após a coleta da gasometria arterial de base e avaliação da função pulmonar, foi administrado mecônio humano 5ml/kg, diluído a 20% com soro fisiológico, via endotraqueal, em alíquota única, através de uma seringa conectada ao tubo endotraqueal, em cerca de 30 segundos.³

Seguindo-se a indução da aspiração de mecônio, os parâmetros ventilatórios foram ajustados e padronizados com uma frequência respiratória de 40 movimentos/minuto, PEEP de 5cmH₂O, PIP de 20cmH₂O, fluxo de 6 l/min, FiO₂ de 1,0 e um tempo inspiratório de 0,4 segundos. Esses parâmetros foram mantidos durante todo o experimento. Se houvesse queda de saturação importante (<60%) e/ou bradicardia (frequência cardíaca menor de 100 batimentos), ou gasometria arterial com retenção excessiva de CO₂ (>100mmHg) a PIP era aumentada transitoriamente em 5cmH₂O, de forma semelhante ao método utilizado por Dargaville et al.⁴

O mecônio foi coletado de recém-nascidos a termo saudáveis, internados na maternidade do Hospital Universitário de Santa Maria, e armazenado sob refrigeração por no máximo 3 dias. Várias amostras eram coletadas para formar um *pool* de mecônio. Momentos antes do experimento o mecônio era diluído numa concentração a 20%.⁵⁻⁶ Trinta minutos após

instilação de mecônio foi coletada nova gasometria arterial e feitas medições da função pulmonar (complacência, resistência, volume corrente) para avaliação da indução da SAM. Se após a indução da SAM a PaO₂ fosse superior a 100mmHg, repetia-se mais 2ml/kg de mecônio humano a 20%.

Após a coleta da segunda gasometria, os animais eram randomizados em 3 grupos: Grupo I (grupo controle) - foi feito apenas aspirado traqueal (AT); Grupo II – além do aspirado traqueal foi administrada uma dose de 200mg/kg de surfactante (Curosurf[®]) sem LBA; Grupo III - foi feito LBA com surfactante diluído (15ml/kg com 5mg/kg de Curosurf[®]) seguido de uma dose de surfactante (125mg/kg).

Foram feitas novas gasometrias e medições da função pulmonar 30 minutos, 3 e 6 horas após a intervenção terapêutica.

A aspiração traqueal foi realizada 30 minutos após a indução da SAM, instilando-se 3 alíquotas de 2ml de soro fisiológico seguida de aspiração através de uma sonda número 6, com pressão negativa de cerca de 100mmHg.

O LBA foi realizado com soro fisiológico adicionado de surfactante (Curosurf[®] - Chiesi Farmaceutici S.p.A. – Parma – Itália), 5mg do produto para cada ml de soro fisiológico, utilizando-se um volume de 15ml/kg, administrado através de um sistema de aspiração fechado, em alíquotas de 2ml, conforme a técnica descrita por Lam et al.⁷ (figura 2) As alíquotas instiladas na traquéia eram aspiradas subsequentemente através de uma sonda de aspiração traqueal número 6, com um aspirador elétrico (Aspiramax[©] - NS Indústria de Aparelhos Médicos Ltda – São Paulo – Brasil)

com reservatório. A aspiração foi feita sob uma pressão negativa de aproximadamente 100cmH₂O. Este processo era repetido até o término do volume previsto. Entre as aspirações, os animais eventualmente foram ventilados com balão auto-inflável se houvesse queda de saturação importante (menos de 60%) ou bradicardia (menos de 100 batimentos por minuto). A dose suplementar de surfactante (Curosurf[®] 125mg/kg) foi administrada conforme técnica usual em recém-nascidos.⁸ (figura 2)

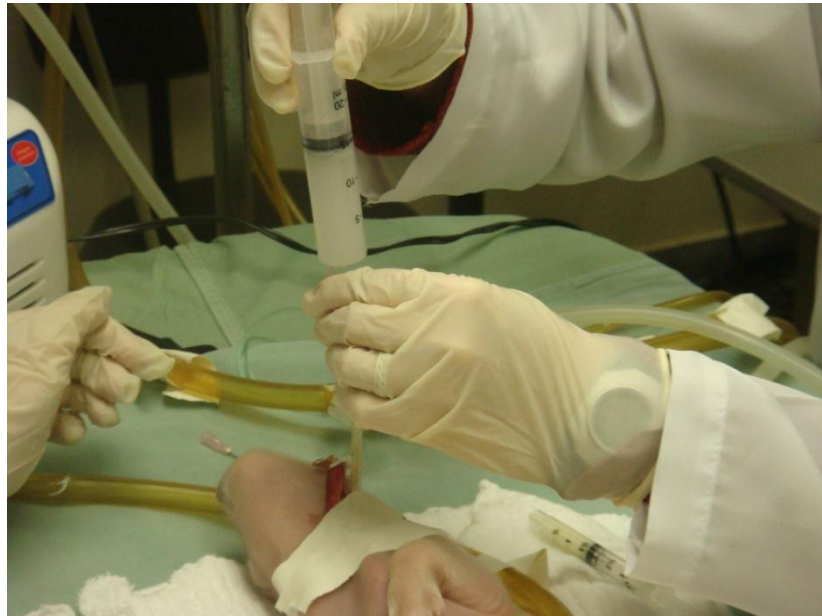


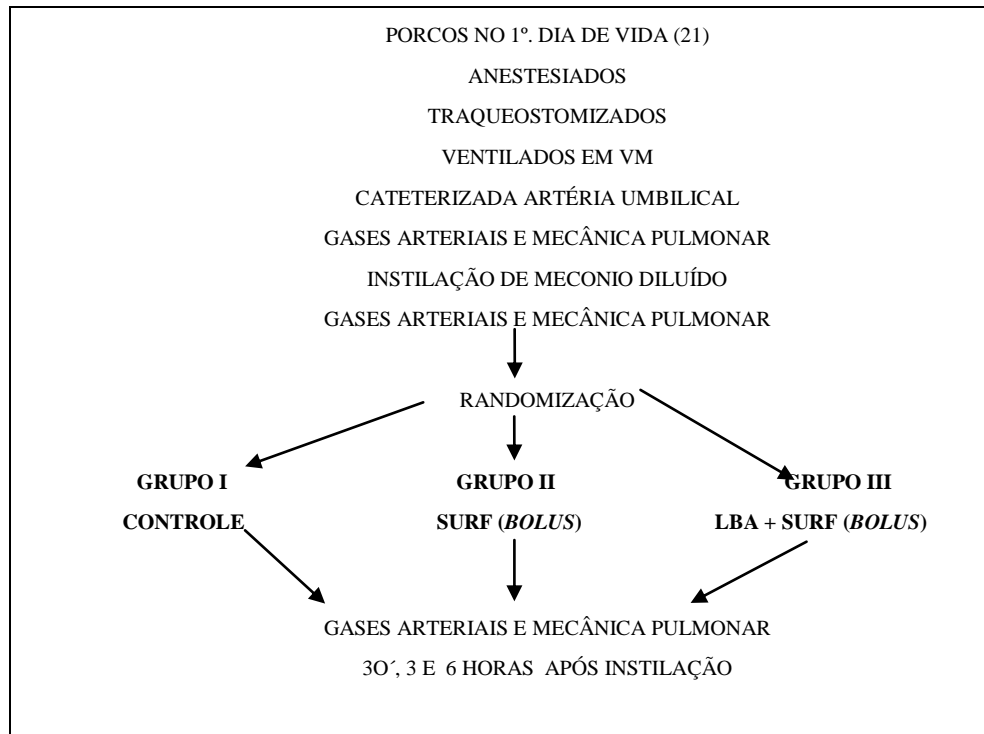
Figura 2 - administração do surfactante diluído para o lavado broncoalveolar



Figura 3 - administração do surfactante

Na avaliação da função pulmonar foram aferidos a complacência pulmonar, constante de tempo e o volume corrente. As variáveis gasométricas analisadas incluíram pH, PaO₂ (pressão arterial parcial de oxigênio), PaCO₂ (pressão arterial parcial de dióxido de carbono) aferidas com 30 minutos, 3 e 6 horas após o procedimento terapêutico.

Ao término do experimento, os animais foram sacrificados com injeção de cloreto de potássio com anestesia geral prévia com cloridrato de cetamina.



Abreviaturas: Surf: surfactante; LBA: lavado broncoalveolar.

Figura 4 - fluxograma do desenho do estudo.

2.1 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para detectar uma diferença estimada de efeito igual a 2 desvios-padrão, para uma probabilidade de erro tipo I (α) de 0,05 e poder de 80% foi calculado um tamanho de amostra mínimo de 5 animais por grupo para se detectar uma diferença de 30% na PaO_2 . Todas as variáveis foram expressas como média e erro padrão. Entre os grupos, em cada momento, foi utilizada a análise de variância de um fator (ANOVA). Para visualizar diferenças entre os grupos em cada momento foi utilizado o teste de Tukey. Foi considerada uma diferença estatisticamente significativa um $p \leq 0,05$. Foi utilizado o programa SPSS versão 11.0. Na eventualidade de morte de algum animal, este era excluído da análise e outro foi incluído.

2.2 ASPECTOS ÉTICOS

O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul registro do Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA) número 09/00134. O numero de animais empregados no estudo foi restringido ao mínimo. Os porcos foram transportados e alimentados adequadamente enquanto aguardavam a intervenção. Durante o experimento, os animais estiveram em ambiente aquecido e foram anestesiados desde o início até o fim dos procedimentos, para eliminar sofrimento e dor. No término do experimento os animais foram sacrificados com uma dose de cloreto de potássio, na vigência de anestesia.

2.3 REFERÊNCIAS:

1. Pereira MR, Luz JH. Procedimentos comuns em unidades de alto risco. In: Alves Filho N, Corrêa MD, editores. Manual de Perinatologia. 2^ªed. Rio de Janeiro: MedSi Editora Médica e Científica Ltda; 1997. p.986-95.
 2. Korhonen K, Soukka H, Halkola L, Peuravuori H, Aho H, Pulkki K, Kero P, Käätä P. Meconium induces only localized inflammatory lung injury in piglets. *Pediatr Res*. 2003;54:192-7.
 3. Wiswell TE, Peabody SS, Davis JM, Slayter MV, Bent RC, Merrit TA. Surfactant therapy and high-frequency jet ventilation in the management of a piglet model of the meconium aspiration syndrome. *Pediatr Res*. 1994;36:494-500
 4. Dargaville PA, Mills JF, Headley BM, Chan Y, Coleman L, Loughnan PM, Morley CJ. Therapeutic lung lavage in the piglet model of meconium aspiration syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168:456-63.
 5. Colvero MO, Fiori HH, Fiori RM, Luz JH, de Paula D, Oppermann C, Pitrez PM, da Silva VD, Colvero AP. Bronchoalveolar lavage plus surfactant in a piglet model of meconium aspiration syndrome. *Neonatology*. 2008;93:188-92.
 6. Paranka MS, Walsh WF, Stancombe BB. Surfactant lavage in a piglet model of meconium aspiration syndrome. *Pediatr Res*. 1992;31:625-8.
 7. Lam BC, Yeung CY. Surfactant lavage for meconium aspiration syndrome: a pilot study. *Pediatrics*. 1999;103:1014-8.
 8. Fiori HH, Fiori RM. Surfactante: o estado da arte. *Clínica de Perinatologia*. 2001;1: 429-41.
-

CAPÍTULO III

3 ARTIGO ORIGINAL

Surfactante com e sem lavado broncoalveolar em modelo experimental de síndrome de aspiração de mecônio

Roseli Henn¹, Renato Machado Fiori², Humberto Holmer Fiori³, Pedro Celeny
Ramos Garcia⁴, Priscila Padoim⁵

1. Doutora, Professora auxiliar do Departamento de Pediatria e Puericultura da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)
2. Doutor, Professor titular da Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul(PUCRS)
3. Doutor, Professor Adjunto da Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul(PUCRS)
4. Doutor, Professor titular da Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul(PUCRS)
5. Mestre pelo programa de Pós-Graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul(PUCRS)

Endereço para correspondência:

Hospital São Lucas da PUCRS, Av. Ipiranga 6690, 5º andar, Porto Alegre, RS, Brazil

Telefone: +55-51-33154188

E-mail: fiori@pucrs.br

RESUMO

INTRODUÇÃO: devido ao efeito obstrutivo do mecônio nas vias aéreas e a ação inibitória sobre o sistema surfactante, o lavado broncoalveolar e a reposição de surfactante estão sendo avaliados nos últimos tempos para o tratamento da síndrome da aspiração de mecônio.

OBJETIVO: avaliar, em modelo experimental, o efeito sobre os gases sanguíneos arteriais e a mecânica pulmonar do tratamento da síndrome de aspiração de mecônio grave com surfactante exógeno, precedido ou não de lavado broncoalveolar com surfactante diluído, em pequenas alíquotas.

MÉTODOS: 21 porcos recém-nascidos foram ventilados mecanicamente com parâmetros respiratórios predeterminados. Para induzir a síndrome de aspiração de mecônio foram instilados 5ml/kg de mecônio diluído a 20% em solução salina isotônica. Após, os porcos foram randomizados em 3 grupos: grupo I (n=7) - controle; grupo II (n=7) - surfactante (Curosurf®) 200mg/kg; grupo III (n=7) - lavado broncoalveolar com surfactante diluído – 5mg/ml (15ml/kg em alíquotas de 2ml) seguido de uma dose suplementar de surfactante 125mg/kg. Gases arteriais sanguíneos, complacência, resistência e volume corrente foram avaliados durante as 6 horas do estudo em 5 momentos específicos.

RESULTADOS: após a instilação de mecônio, antes do tratamento, a PaO₂ caiu para uma média em torno de 50mmHg e a PaCO₂ aumentou para uma média em torno de 76mmHg, não havendo diferença significativa entre os grupos. Após o tratamento a média da PaO₂(mmHg) nos grupos I, II e III aos 30 minutos, 3 e 6 horas foi de 72, 106 e 172 (p=0,01) - 70, 95 e 198 (p<0,01) e 79, 110 e 217 (p=0,01), respectivamente. A média da PaCO₂ (mmHg) nos grupos I, II e III foi 81, 65 e 35 (p=0,01) - 82, 59 e 37 (p=0,01) e 83, 75 e 33 (p<0,01), respectivamente. Após o tratamento a média da complacência (ml/cmH₂O) aos 30 minutos e 6 horas nos grupos I, II, III foi de 0,76, 1,01 e 1,57(p<0,05) e de 1,02, 0,69 e 1,79 (p<0,05), respectivamente. A média da resistência (cmH₂O/L/S) nos grupos I, II e III foi de 423, 385 e 269 (p<0,05) e de 409, 565 e 248 (p<0,05) aos 30 minutos e 6 horas, respectivamente.

CONCLUSÃO: o lavado broncoalveolar com surfactante diluído, em pequenas alíquotas, seguido por uma dose suplementar de surfactante, melhorou significativamente os gases sanguíneos arteriais e a mecânica pulmonar quando comparado com uma dose de surfactante sem lavado broncoalveolar e com um grupo controle, em um modelo experimental de síndrome de aspiração de mecônio.

UNITERMOS: aspiração de mecônio, surfactante pulmonar, lavado broncoalveolar, neonatologia, doença do recém nascido, porcos, modelo experimental.

INTRODUÇÃO

Em uma série de publicações na literatura internacional a frequência de mecônio no líquido amniótico variou de 5,6% a 24,6% (mediana 14%). Síndrome de aspiração de mecônio ocorreu em 1,7% a 35,8% (mediana 10,5%) das crianças que nasceram através de líquido amniótico meconial e 4,9% a 37% (mediana 12%) evoluíram para óbito.¹

No Brasil, a taxa de mortalidade neonatal precoce por SAM, entre 2005 e 2007, foi de 0,27 por mil nascidos vivos (2.382 óbitos), isto é, a cada dia a SAM foi responsável por 2 óbitos de recém-nascidos até o 6º dia de vida.² Dentre as complicações mais frequentes e graves destacam-se o pneumotórax e a hipertensão pulmonar persistente do recém-nascido, esta última observada em mais da metade dos pacientes com SAM grave.^{3, 4} Como a SAM é quase sempre associada à asfixia perinatal, ocorre, com frequência, nestes pacientes, comprometimento do sistema nervoso central e de outros órgãos como rins, coração, etc.

A fisiopatologia da SAM é complexa, com obstrução das vias aéreas, inflamação e alterações do sistema surfactante.⁴ O mecônio nas vias aéreas é um importante inibidor da função surfactante.⁵⁻⁸ Vários dos componentes do mecônio tais como a lisofosfatidilcolina, a bilirrubina, os sais biliares, agentes pro-inflamatórios e hemoglobina nas vias aéreas inibem a função surfactante, sendo capazes de romper sua formação monolinar e desestabilizar a tensão superficial pulmonar.⁹⁻¹¹ Além disso, concentrações

altas de mecônio têm um efeito citotóxico direto sobre os pneumócitos tipo II.¹²

Além do tratamento de suporte habitual da insuficiência respiratória ocasionada pela SAM, tem sido testados, nos últimos anos, a administração de surfactante exógeno¹³⁻¹⁷ e o lavado broncoalveolar (LBA) com soro fisiológico com ou sem surfactante diluído,¹⁸⁻³⁴ com resultados variáveis quanto à melhora da função pulmonar e quanto a resultados clínicos. A administração de surfactante exógeno produziria uma melhora da função surfactante pulmonar e o LBA teria um efeito detergente, diminuindo a viscosidade e retirando mecônio das vias aéreas. A otimização destes tratamentos tem sido buscada em vários estudos experimentais.

O objetivo deste estudo foi comparar o efeito sobre a função pulmonar do LBA com surfactante diluído, em pequenas alíquotas, seguido de uma dose adicional de surfactante em porcos recém-nascidos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo experimental no Laboratório de Habilidades Médicas da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, sendo utilizados 21 porcos recém-nascidos da raça híbrida, a termo, com menos de 24 horas de vida. Os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (2mg/kg intramuscular), e tiveram os vasos umbilicais cateterizados (cateter umbilical 5French) para obtenção de sangue para gasometrias arteriais e infusão de fluídos e mediações.

A pele da região cervical anterior era infiltrada com lidocaína 2%, sem vasoconstritor, para se proceder a traqueostomia. Foi utilizada uma cânula endotraqueal 3,5, sendo introduzida na traquéia de 3,5 a 4,0 cm. Os animais recebiam citrato de fentanila e brometo de pancurônio intermitentemente durante o procedimento. A temperatura axilar era mantida entre 38 e 39°C durante o procedimento

A saturação e a frequência cardíaca eram monitoradas durante o procedimento. Para a ventilação mecânica era utilizado um ventilador limitado por pressão, ciclado a tempo (BP 200 – Pro-Médico, RJ, Brasil). Os parâmetros ventilatórios eram inicialmente padronizados, com uma frequência respiratória de 25 movimentos/minuto, pressão positiva no final da expiração – positive end-expiratory pressure (PEEP) - de 5cmH₂O, pico inspiratório de pressão (PIP) de 15cmH₂O, fluxo de 6l/min, FiO₂ de 1,0 e tempo inspiratório de 0,4 segundos.

Era então coletado sangue para uma gasometria arterial de base, analisada no aparelho ABL 5 – Radiometer[®], Copenhagen, Dinamarca, e realizadas medições da mecânica pulmonar com um pneumotacógrafo Hans Rudolph inc. Linear Pneumothach RSS 100[®], acoplado ao tubo endotraqueal.

Após a coleta do sangue e avaliação da mecânica pulmonar, era administrado mecônio humano fresco, 5ml/kg, diluído a 20% com soro fisiológico, via endotraqueal, em alíquota única, através de uma seringa conectada ao tubo endotraqueal, em cerca de 30 segundos.

Seguindo-se a indução da aspiração de mecônio, os parâmetros ventilatórios eram ajustados e padronizados com uma frequência respiratória de 40 movimentos/minuto, PEEP de 5cmH₂O, PIP de 20cmH₂O, fluxo de 6 l/min, FiO₂ de 1,0 e tempo inspiratório de 0,4 segundos. Esses parâmetros eram mantidos durante todo o experimento. Se houvesse queda de saturação importante (<60%) e/ou bradicardia (frequência cardíaca menor de 100 batimentos por minuto), ou gasometria arterial com retenção excessiva de CO₂ (dióxido de carbono) (>100mmHg) a PIP era aumentada transitoriamente em 5cmH₂O, de forma semelhante ao método descrito por Dargaville et al.²⁶

O mecônio era coletado de recém-nascidos a termo saudáveis, diluído, e mantido refrigerado até o seu uso.^{18,32}

Trinta minutos após a instilação de mecônio era coletada nova gasometria arterial e feitas novas medições da mecânica pulmonar (complacência, resistência, volume corrente) para avaliação da indução da SAM. Se após a indução da SAM a PaO₂ fosse superior a 100mmHg, repetia-se mais 2ml/kg de mecônio humano a 20%.

Após a coleta da segunda gasometria, os animais eram randomizados em 3 grupos: Grupo I (grupo controle) - era feito apenas aspirado traqueal (AT); Grupo II - além do aspirado traqueal era administrada uma dose de 200mg/kg de surfactante (Curosurf[®]) sem LBA prévio; Grupo III - era feito LBA com surfactante diluído, seguido de uma dose de surfactante (125mg/kg).

Eram feitas novas gasometrias e medições da mecânica pulmonar 30 minutos, 3 e 6 horas após a intervenção terapêutica.

A aspiração traqueal era realizada 30 minutos após a indução da SAM, instilando-se 3 alíquotas de 2ml de soro fisiológico, seguida de aspiração através de uma sonda número 6 *French*, com pressão negativa de cerca de 100mmHg.

O LBA era realizado com soro fisiológico, adicionado de surfactante (Curosurf® - Chiesi Farmaceutici S.pA, Parma, Itália), 5mg do produto para cada ml de soro fisiológico, utilizando-se um volume de 15ml/kg, administrado através de um sistema de aspiração fechado, em alíquotas de 2ml, conforme a técnica descrita por Lam et al.²² As alíquotas instiladas na traquéia eram aspiradas subsequentemente através de uma sonda de aspiração traqueal número 6 *French*, com um aspirador elétrico (Aspiramax® - NS Indústria de Aparelhos Médicos Ltda, São Paulo, Brasil), com reservatório. A aspiração era feita sob uma pressão negativa de aproximadamente 100cmH₂O. Este processo era repetido até o término do volume previsto. Entre as aspirações, os animais eventualmente eram ventilados com balão auto-inflável se houvesse queda importante da de saturação (menos de 60%) ou bradicardia (menos de 100 batimentos por minuto). Uma dose suplementar de surfactante (Curosurf® 125mg/kg) era administrada ao final do lavado.

Na avaliação da mecânica pulmonar eram aferidos a complacência pulmonar, a resistência e o volume corrente. As variáveis gasométricas

analisadas incluíram pH, PaO₂, PaCO₂ aferidas com 30 minutos, 3 e 6 horas após o procedimento terapêutico.

Ao término do experimento, os animais foram sacrificados com injeção de cloreto de potássio com anestesia geral prévia com cloridrato de cetamina.

Para detectar uma diferença estimada de efeito igual a 2 desvios-padrão, para uma probabilidade de erro tipo I (α) de 0,05 e poder de 80% foi calculado um tamanho de amostra mínimo de 5 animais por grupo para se detectar uma diferença de 30% na PaO₂. Todas as variáveis foram expressas como média e erro padrão. Entre os grupos, em cada momento, foi utilizada a análise de variância de um fator (ANOVA). Para visualizar diferenças entre os grupos em cada momento foi usado o teste de Tukey. Foi considerada uma diferença estatisticamente significativa um $p \leq 0,05$. Foi utilizado o programa SPSS versão 11.0. Na eventualidade de morte de algum animal, este era excluído da análise e outro foi incluído.

O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul e pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA), registro número 09/00134. O número de animais empregados no estudo foi restringido ao mínimo. Os porcos eram transportados e alimentados adequadamente enquanto aguardavam a intervenção. Durante os experimentos, os animais estiveram em ambiente aquecido e eram anestesiados desde o início até o fim dos procedimentos.

RESULTADOS

Foram incluídos na análise 21 porcos recém nascidos. Seis deles evoluíram para o óbito, após a randomização, e foram substituídos por outros 6, incluídos nos mesmos grupos a que pertenciam os porquinhos que foram a óbito. Os óbitos ocorreram em 2 animais de cada grupo. Do grupo controle (Grupo I) um dos animais morreu por pneumotórax logo após a indução da SAM enquanto que o outro fez parada cardiorrespiratória 3 horas após a indução da SAM. Do grupo II um animal foi a óbito logo depois da indução da SAM, antes do tratamento, e o outro cerca de 30 minutos após administração de surfactante. Do grupo III, um animal morreu antes do LBA e o outro, duas horas e 30 minutos após. Todos os porcos tinham menos de 24 horas de vida.

A média e o erro padrão do peso do grupo I foi de 1364 ± 169 gramas, o do grupo II 1135 ± 81 gramas e do grupo III 1200 ± 111 gramas, não havendo diferença significativa entre eles ($p=0,433$).

Doses complementares de mecônio foram necessárias em três dos 21 animais.

Nos 3 grupos não houve diferença significativa das médias dos dados gasométricos (PaO_2 , $PaCO_2$, pH) e dos de mecânica pulmonar (complacência, resistência e volume corrente) basais (pré-mecônio) e 30 minutos após a administração de mecônio ($p>0,05$) - figura 1.

A PaO₂ caiu de uma média de 310mmHg antes da indução da SAM para 50mmHg 30 minutos após a introdução do mecônio nas vias aéreas

A partir de 30 minutos pós-tratamento verificou-se diferenças significativas entre os tratamentos ($p \leq 0,03$), em todos os momentos e em todos os parâmetros avaliados, com exceção apenas da complacência e da resistência após 3 horas de tratamento e do volume corrente após 30 minutos e 3 horas pós-tratamento (figura 1).

Em todos os três momentos em que os resultados das intervenções foram avaliados (30 minutos, 3 e 6 horas), não houve diferença estatisticamente significativa entre os Grupos I (controle) e o II, com uma única exceção: no pH 3 horas após o tratamento ($p=0,04$). Na comparação entre o Grupo III e o Grupo I observou-se que os dados gasométricos foram todos significativamente melhores no Grupo III, desde os 30 minutos até as 6 horas após o tratamento ($p \leq 0,05$), enquanto que os dados de complacência e resistência foram melhores após 30 minutos ($p < 0,05$) e os de volume corrente após 6 horas de tratamento ($p=0,01$).

No que se refere a comparação dos grupos II e III a PaO₂ média do Grupo III foi significativamente mais elevada com 3 e 6 horas de tratamento ($p=0,02$ e $0,05$), a PaCO₂ foi menor ($p=0,02$) e o pH em todos os momentos avaliados ($p \leq 0,05$). Por outro lado a complacência, a resistência e o volume corrente foram significativamente melhores no Grupo III com 6 horas de tratamento ($p \leq 0,02$).

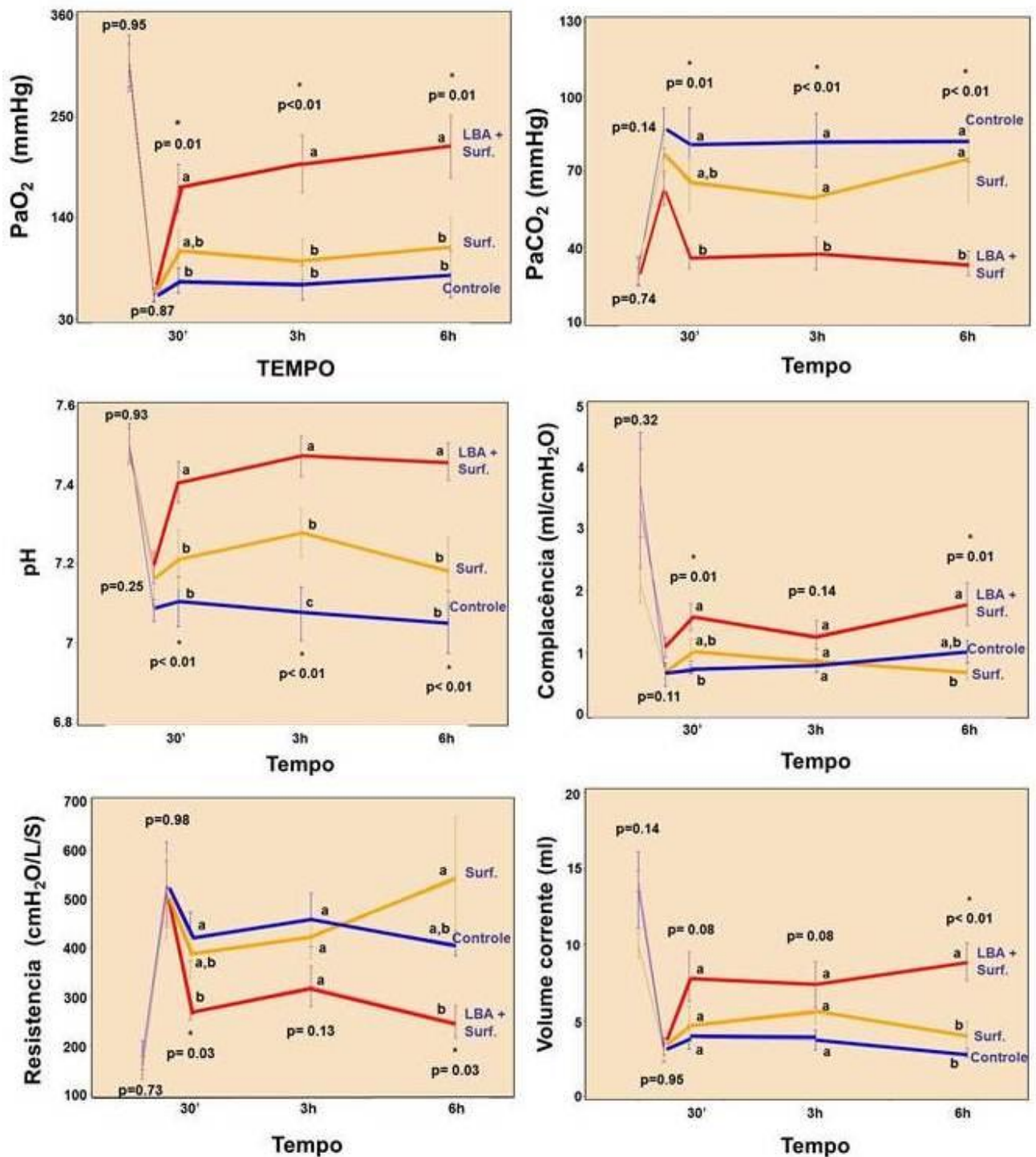


Figura 1 - Evolução dos dados de gasometria e de mecânica pulmonar (média e erro padrão) antes e depois da instilação de mecônio nas vias aéreas e 30 minutos, 3 e 6 horas após o tratamento para os 3 grupos - Grupo 1: controle; Grupo 2: somente surfactante sem lavado broncoalveolar (LBA); Grupo 3: LBA com surfactante mais uma dose final de surfactante. Surf. = Curosurf® (200mg/kg); LBA+Surf. = LBA com Curosurf® (5mg/ml)+uma dose de Curosurf® (125mg/kg). Letras diferentes indicam diferença significativa (p≤0,05).

DISCUSSÃO

No presente estudo experimental de SAM observou-se uma melhora significativa dos parâmetros gasométricos e da mecânica pulmonar quando se utilizou o LBA com surfactante diluído, com baixos volumes e pequenas alíquotas, seguido de uma dose de surfactante, em comparação a uma dose de surfactante sem LBA e a um grupo controle.

Ao contrário de outros estudos experimentais realizados em porcos, em que os animais tinham uma ou mais de uma semana de vida, os animais aqui utilizados tinham menos de 24 horas. Tentou-se assim chegar o mais próximo possível das condições da síndrome de aspiração de mecônio que ocorre em recém-nascidos humanos.

Como todos os modelos experimentais estudados este é um modelo de síndrome de aspiração meconial aguda. Recém-nascidos com SAM usualmente aspiraram mecônio intra-útero e podem, no momento do tratamento, já ter lesões pulmonares avançadas. Assim, é possível que os mesmos bons resultados obtidos experimentalmente não sejam reprodutíveis na mesma medida nestas crianças.

Neste modelo experimental o tratamento com surfactante (Curosurf® 200mg/kg) instilado nas vias aéreas não foi seguido de melhora significativa dos gases sanguíneos e da mecânica pulmonar. O mesmo já havia sido observado nesta instituição com o mesmo modelo experimental mas com uma dose mais baixa do mesmo surfactante (100mg/kg).^{35,36} Resultados similares foram descritos em recente estudo em cordeiros utilizando um

surfactante artificial (Surfaxin[®] 180mg/kg).³⁴ Outros estudos em animais e recém-nascidos humanos têm mostrado que a administração de surfactante em *bolus* é associada a resultados variáveis, em geral modestos, tanto do ponto de vista de melhora da fisiologia pulmonar como do ponto de vista de resultados clínicos. Uma metanálise de 4 estudos randomizados e controlados não mostrou diferenças entre grupos tratados com surfactante em *bolus* e tratados convencionalmente, com exceção de uma redução do número de casos requerendo ECMO.³⁷

Mais recentemente, tem sido testado o tratamento da SAM grave em animais e também em recém-nascidos humanos, com lavado broncoalveolar realizado com surfactante diluído. Porém, tanto quanto é do nosso conhecimento há apenas dois estudos em animais utilizando LBA com surfactante diluído, seguido de uma dose suplementar de surfactante (100mg/kg), ambos realizados nesta instituição por este mesmo grupo de pesquisa.^{35,36} Em um deles, também em porcos recém-nascidos, o LBA com soro fisiológico sem surfactante, mas com uma dose final de surfactante, mostrou uma melhora significativa da PaO₂ num período de 6 horas pós-tratamento. No outro o uso de LBA com surfactante diluído, utilizado da mesma forma que no presente estudo, mas seguido de uma dose final menor de surfactante (100mg/kg de Curosurf[®]) foi associado a uma melhora significativa da oxigenação do sangue arterial 3 horas após o procedimento

Em um estudo não controlado Moller et al trataram 12 recém-nascidos humanos com SAM, com indicação de ECMO, realizando LBA com soro fisiológico seguido de uma dose de surfactante, relatando melhora

significativa da oxigenação e sobrevivência de todos os 12 pacientes. Apenas 3 foram submetidos à ECMO.²³ Em outro estudo não randomizado 7 recém-nascidos foram tratados com LBA com surfactante diluído seguido de uma dose de Survanta[®] tendo sido observado melhora da complacência e diminuição da resistência pulmonar por 48 horas.²⁷

Os dados do presente estudo sugerem que a administração de uma dose suplementar de surfactante após o LBA pode ser vantajosa. O LBA com surfactante diluído, sem uma dose final de surfactante, talvez não deixe nas vias aéreas surfactante suficiente, uma vez que este é instilado e aspirado. No estudo experimental de Rey-Santano et al foi observado que somente 57% do total da dose de surfactante administrada permaneceu nos pulmões após a LBA.³⁴ No presente estudo LBA foi feito com baixos volumes e pequenas alíquotas, da mesma forma que em alguns estudos anteriores.^{22,30,38} Recentemente, tem sido sugerido que volumes maiores, em grandes alíquotas, podem ser mais eficazes que menores volumes, em pequenas alíquotas, para remover mecônio das vias aéreas.^{19,26,31,34,39} Entretanto, há preocupações quanto a efeitos adversos encontrados quando da utilização de volumes e alíquotas elevadas no LBA. Hung Y et al observaram hipoxemia e pulmões brancos após o LBA com volumes mais elevados, o que não ocorreu nos recém-nascidos tratados com volumes mais baixos.⁴⁰ No estudo de Dargaville et al, dos 30 recém-nascidos em que o LBA foi realizado com duas alíquotas de 15ml/kg, 26 (87%) tinham o fluido aspirado tinto de sangue. Após o LBA 5 crianças tiveram hipoxemia (saturação de oxigênio permaneceu abaixo de 80% por mais de 10 minutos),

duas apresentaram bradicardia e 6 necessitaram tratamento para hipotensão. Uma criança em que somente 10% do volume instilado foi recuperado na aspiração das vias aéreas foi a óbito 3 horas após a lavagem.³³ É possível que o método utilizado no presente estudo (LBA com pequeno volume em pequenas alíquotas), mais uma dose final de surfactante, produza melhora significativa da função pulmonar com menos complicações devido a instilação de volumes elevados de líquido nas vias aéreas. A utilização de pequenas alíquotas poderia permitir a suspensão do procedimento antes que ocorram alterações fisiológicas significativas no recém-nascido e a administração de uma dose final de surfactante, após o LBA, poderia completar um *pool* adequado, não satisfatório somente com o LBA. Em conclusão, o método empregado no presente estudo, ou seja, LBA com surfactante diluído mais uma dose final de surfactante pode ser uma alternativa para ser testada em recém-nascidos com SAM grave.

REFERÊNCIAS

1. Cleary GM, Wiswell TE. Meconium-stained amniotic fluid and the meconium aspiration syndrome. An update. *Pediatr Clin North Am.* 1998;45:511-29.
 2. Guinsburg R AM, Moreira LMO, Santos RMV, Anchieta LM, Daripa M. –. Mortalidade Neonatal Precoce Por Síndrome de Aspiração de Mecônio:Brasil 2005 a 2007. 4º SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REANIMAÇÃO NEONATAL; São Paulo2011. p. 19.
 3. Moses D HB, Spitale P, Liu M, Enhorning G. Inhibition of pulmonary surfactant function by meconium. *Am J Obstet Gynecol.* 1991;164:477-81.
 4. Whitsett JA, Pryhuber GS, Rice WR, Warner BB, Wert SE. Acute respiratory disorders. In: MacDonald MG, Mullett MD, Seshia MM, (ed). *Avery's Neonatology – Pathophysiology and Management of the Newborn.* 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.p.553-77.
 5. Tyler DC, Murphy J, Cheney FW. Mechanical and chemical damage to lung tissue caused by meconium aspiration. *Pediatrics.* 1978;62:454-9.
 6. Moses D, Holm BA, Spitale P, Liu MY, Enhorning G. Inhibition of pulmonary surfactant function by meconium. *Am J Obstet Gynecol.* 1991;164:477-81.
 7. Davey AM, Becker JD, Davis JM. Meconium aspiration syndrome: physiological and inflammatory changes in a newborn piglet model. *Pediatr Pulmonol.* 1993;16:101-8.
 8. Sun B, Curstedt T, Robertson B. Surfactant inhibition in experimental meconium aspiration syndrome. *Acta Paediatr.* 1993;82:182-9.
 9. Clarck DA, Nieman GF, Thompson JE, Paskanik AM, Rokhar JE, Bredenberg CE. Surfactant displacement by meconium free fatty acids: an alternative explanation for atelecatsis in meconium aspiration syndrome. *J Pediatr.* 1987;110:765-70.
 10. Hilgendorff A, Rawer D, Doerner M, Tutdibi E, Ebsen M, Schmidt R, Guenther A, Gortner L, Reiss I. Synthetic and natural surfactant differentially modulate inflammation after meconium aspiration. *Intensive Care Med.* 2003;29:2247-54.
 11. Lopez-Rodriguez E, Echaide M, Cruz A, Tausch HW, Perez-Gil J. Meconium impairs pulmonary surfactant by a combined action of cholesterol and bile acids. *Biophys J.* 2011;100:646-55.
 12. Cleary GM, Antunes MJ, Ciesielka DA, Higgins ST, Spitzer AR, Chander A. Exudative lung injury is associated with decreased levels
-

- of surfactant proteins in a rat model of meconium aspiration. *Pediatrics*. 1997;100:998-1003.
13. Auten RL, Notter RH, Kendig JW, Davis JM, Shapiro DL. Surfactant treatment of full-term newborns with respiratory failure. *Pediatrics*. 1991 ;87:101-7.
 14. Khammash H, Perlman M, Wojtulewicz J, Dunn M. Surfactant therapy in full-term neonates with severe respiratory failure. *Pediatrics*. 1993;92:135-9.
 15. Halliday HL, Speer CP, Robertson B. Treatment of severe meconium aspiration syndrome with porcine surfactant. Collaborative Surfactant Study Group. *Eur J Pediatr*. 1996;155:1047-51.
 16. Findlay RD, Taeusch HW, Walther FJ. Surfactant replacement therapy for meconium aspiration syndrome. *Pediatrics*. 1996 ;97:48-52.
 17. Lotze A, Mitchell BR, Bulas DI, Zola EM, Shalwitz RA, Gunkel JH. Multicenter study of surfactant (beractant) use in the treatment of term infants with severe respiratory failure. Survanta in Term Infants Study Group. *J Pediatr*. 1998 ;132:40-7.
 18. Paranka MS, Walsh WF, Stancombe BB. Surfactant lavage in a piglet model of meconium aspiration syndrome. *Pediatr Res*. 1992;31:625-8.
 19. Balaraman V, Sood SL, Finn KC, Hashiro G, Uyehara CF, Easa D. Physiologic response and lung distribution of lavage versus bolus Exosurf in piglets with acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;153:1838-43.
 20. Mosca F, Colnaghi M, Castoldi F. Lung lavage with a saline volume similar to functional residual capacity followed by surfactant administration in newborns with severe meconium aspiration syndrome. *Intensive Care Med*. 1996;22:1412-3.
 21. Cochrane CG, Revak SD, Merritt TA, Schraufstatter IU, Hoch RC, Henderson C, Andersson S, Takamori H, Oades ZG. Bronchoalveolar lavage with KL4-surfactant in models of meconium aspiration syndrome. *Pediatr Res*. 1998;44:705-15.
 22. Lam BC, Yeung CY. Surfactant lavage for meconium aspiration syndrome: a pilot study. *Pediatrics*. 1999;103:1014-8.
 23. Moller JC, Kohl M, Reiss II, Diederich W, Nitsche EM, Gopel W, Gortner L. Saline lavage with substitution of bovine surfactant in term neonates with meconium aspiration syndrome (MAS) transferred for extracorporeal membrane oxygenation (ECMO): a pilot study. *Crit Care*. 1999;3:19-22.
 24. Kaneko M, Watanabe J, Ueno E. Surfactant lavage and replacement in meconium aspiration syndrome with pulmonary hemorrhage. *J Perinat Med*. 2001;29:351-6.
 25. Wiswell TE, Knight GR, Finer NN, Donn SM, Desai H, Walsh WF, Sekar KC, Bernstein G, Keszler M, Visser VE, Merritt TA, Mannino FL,
-

- Mastrioianni L, Marcy B, Revak SD, Tsai H, Cochrane CG. A multicenter, randomized, controlled trial comparing Surfaxin (Lucinactant) lavage with standard care for treatment of meconium aspiration syndrome. *Pediatrics*. 2002;109:1081-7.
26. Dargaville PA, Mills JF, Headley BM, Chan Y, Coleman L, Loughnan PM, Morley CJ. Therapeutic lung lavage in the piglet model of meconium aspiration syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168:456-63.
27. Szymankiewicz M, Gadzinowski J, Kowalska K. Pulmonary function after surfactant lung lavage followed by surfactant administration in infants with severe meconium aspiration syndrome. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2004;16:125-30.
28. Meister J, Balaraman V, Ramirez M, Uyehara CF, Killeen J, Ku T, Person D, Easa D. Lavage administration of dilute surfactant in a piglet model of meconium aspiration. *Lung*. 2004;182:227-40.
29. Salvia-Roiges MD, Carbonell-Estrany X, Figueras-Aloy J, Rodriguez-Miguel JM. Efficacy of three treatment schedules in severe meconium aspiration syndrome. *Acta Paediatr*. 2004;93:60-5.
30. Lista G, Bianchi S, Castoldi F, Fontana P, Cavigioli F. Bronchoalveolar lavage with diluted porcine surfactant in mechanically ventilated term infants with meconium aspiration syndrome. *Clin Drug Investig*. 2006;26:13-9.
31. Dargaville PA, Mills JF, Copnell B, Loughnan PM, McDougall PN, Morley CJ. Therapeutic lung lavage in meconium aspiration syndrome: a preliminary report. *J Paediatr Child Health*. 2007;43:539-45.
32. Colvero MO, Fiori HH, Fiori RM, Luz JH, de Paula D, Oppermann C, Pitrez PM, da Silva VD, Colvero AP. Bronchoalveolar lavage plus surfactant in a piglet model of meconium aspiration syndrome. *Neonatology*. 2008;93:188-92.
33. Dargaville PA, Copnell B, Mills JF, Haron I, Lee JK, Tingay DG, Rohana J, Mildenhall LF, Jeng MJ, Narayanan A, Battin MR, Kuschel CA, Sadowsky JL, Patel H, Kilburn CJ, Carlin JB, Morley CJ. Randomized Controlled Trial of Lung Lavage with Dilute Surfactant for Meconium Aspiration Syndrome. *The Journal of Pediatrics*. 2011;158:383-9.e2.
34. Rey-Santano C, Alvarez-Diaz FJ, Mielgo V, Murgia X, Lafuente H, Ruiz-Del-Yerro E, Valls-I-Soler A, Gastiasoro E. Bronchoalveolar lavage versus bolus administration of lucinactant, a synthetic surfactant in meconium aspiration in newborn lambs. *Pediatr Pulmonol*. 2011;46:991-9.
35. Colvero MO FH, Luz JH, Pereira MR, Fiori AH, Silveira C. Surfactant Treatment in an Experimental Model of Meconium Aspiration Syndrome. 24th International Workshop on Surfactant Replacement; Ljubljana: Neonatology; 2009. p. 373.
-

-
36. Pereira M, Fiori H, Luz J, Colvero M, Fiori A, Bisinela F, Fiori RM. Early Versus Late Administration of Bronchoalveolar Lavage with Diluted Surfactant Followed by a Supplementary Dose of Surfactant in an Experimental Model of Meconium Aspiration Syndrome. PAS/ASPR Joint Meeting, Poster Session: Neonatal Pulmonology; Denver, Colorado 2011.
 37. El Shahed AI, Dargaville P, Ohlsson A, Soll RF. Surfactant for meconium aspiration syndrome in full term/near term infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007(3):CD002054.
 38. Ohama Y, Ogawa Y. Treatment of meconium aspiration syndrome with surfactant lavage in an experimental rabbit model. *Pediatr Pulmonol.* 1999;28:18-23.
 39. Jeng MJ, Soong WJ, Lee YS. Effective lavage volume of diluted surfactant improves the outcome of meconium aspiration syndrome in newborn piglets. *Pediatr Res.* 2009;66:107-12.
 40. Hung HY, Jim WT, Hsu CH, Chang JH, Peng CC, Shih SL, Chang HY, Kao HA. Small versus large volume dilute surfactant lavage for meconium aspiration syndrome. *Acta Paediatr Taiwan.* 2006;47:181-6.
-

CAPÍTULO IV

CONCLUSÕES

- O Grupo com Síndrome da Aspiração de Mecônio experimental, tratado com lavado broncoalveolar com surfactante diluído, com dose complementar de surfactante, mostrou melhora dos resultados gasométricos e de mecânica pulmonar em relação ao grupo que usou surfactante sem lavado broncoalveolar.
 - Seis horas após o tratamento, os animais do grupo submetido a lavado broncoalveolar com surfactante, mais dose complementar de surfactante, mostrou melhores resultados do que os do grupo tratado apenas com surfactante e os do grupo controle, considerando todos os parâmetros avaliados.
 - A terapia com surfactante sem LBA não mostrou melhores resultados que o tratamento do grupo controle, em que foi feita apenas aspiração.
-
-

CAPÍTULO V

TABELAS E RESULTADOS COMPLEMENTARES

Tabela 1- Médias e erros padrões dos Grupos e valor de probabilidade (valor de p) da Anova individual em cada momento.

	Variável	Grupos			p-valor
		1	2	3	
Pré-Mecônio	PESO	1364.29±169.28	1135.71±80.71	1200±111.27	0.4332
	PO ₂	310.29±28.04	313.37±16.28	303.29±25.23	0.9538
	PCO ₂	30.57 ±5.58	32.53±2.45	28.09±3.53	0.7449
	PH	7.51 ± 0.05	7.48±0.03	7.5±0.04	0.9278
	Complacência	3.71±0.84	2.1±0.31	3.33±0.97	0.3166
	Resistência	180.14±29.56	158.71±18.46	154.86±23.38	0.7330
	Vol_Corr	13.57±2.51	9.93±0.82	14.14±0.67	0,1492
30' Pós-mecônio	PO ₂	56.47±7.79	57.84±5.58	53.61±3.1	0,8722
	PCO ₂	87.14±8.13	77.47±9.22	63.33±6.74	0,1410
	PH	7.08±0.03	7.16±0.06	7.19±0.04	0,2489
	Complacência	0.64±0.19	0.69±0.09	1.09±0.17	0,1106
	Resistência	529.86±86.88	507.86±87.91	514±63.73	0,9802
	Vol_Corr	3.07±0.78	3±0.81	3.29±0.55	0,9589
30' pós-tratamento	PO ₂	72.10±13.38	105.93±20.93	172.43±26.26	0,0102
	PCO ₂	80.73±14.64	64.93±10.31	35.26±3.87	0,0218
	PH	7.10±0.06	7.21±0.08	7.41±0.05	0,0113
	Complacência	0.76±0.1	1.01±0.21	1.57±0.22	0,0176
	Resistência	422.57±50.34	385.29±46.68	268.86±16.19	0,0398
	Vol_Corr	3.86±0.77	4.71±1.23	7.86±1.61	0,0851
3 horas pós-tratamento	PO ₂	69.94±18.61	95.41±21.92	198.73±31.05	0,0036
	PCO ₂	82.37±10.69	59.57±9.73	37.33±6.49	0,0097
	PH	7.07±0.07	7.28±0.06	7.47±0.05	0,0008
	Complacência	0.79±0.11	0.89±0.18	1.29±0.23	0,1420
	Resistência	456.86±54.58	420±43.05	321±41.93	0,1346
	Vol_Corr	3.71±0.64	5.71±0.94	7.36±1.51	0,0891
6 horas pós-tratamento	PO ₂	79.10±25.4	109.96±30.55	217.61±33.84	0,0112
	PCO ₂	82.61±8.8	75.4±17.67	33.49±5.02	0,0177
	PH	7.05±0.08	7.19±0.08	7.46±0.05	0,0027
	Complacência	1.02±0.18	0.69±0.13	1.79±0.35	0,0193
	Resistência	408.83±25.4	546.86±119.18	248.43±34.17	0,0379
	Vol_Corr	2.83±0.28	3.93±1	8.86±1.25	0,0010

Grupo I: controle; Grupo II: surfactante 200mg/kg; Grupo III: Lavado broncoalveolar com surfactante diluído (15ml/kg – 5mg/ml) + surfactante 125mg/kg.

Abreviaturas: PaO₂ – pressão parcial de oxigênio (mmHg); PaCO₂ – pressão parcial de dióxido de carbono (mmHg); Vol Corr – volume corrente (ml); complacência (ml/cmH₂O); resistência (cmH₂O/L/S).

Tabela 2 - Médias dos Grupos e valor de probabilidade (valor de p) da Anova no teste do efeito simples em cada momento.

	Variável	Grupos			p-valor
		1	2	3	
Pré-Mecônio	PaO ₂ ¹	310.29	313.37	303.29	0.9538
	PaCO ₂ ¹	30.57	32.53	28.09	0.7644
	PH ¹	7.51	7.48	7.5	0.9607
	Complacência ¹	3.71	2.1	3.33	0.3166
	Resistência ¹	180.14	158.71	154.86	0.9802
	Vol_Corr ¹	13.57	9.93	14.14	0.1492
30' Pós-Mecônio	PaO ₂ ¹	56.47	57.84	53.61	0.8722
	PaCO ₂ ¹	87.14	77.47	63.33	0.3141
	PH ¹	7.08	7.16	7.19	0.3957
	Complacência ¹	0.64	0.69	1.09	0.1106
	Resistência ¹	529.86	507.86	514	0.7330
	Vol_Corr ¹	3.07	3	3.29	0.9589
30' pós-tratamento	PaO ₂	72.10b ²	105.93ab	172.43a	0.0102
	PaCO ₂	80.73a	64.93ab	35.26b	0.0158
	PH	7.10b	7.21b	7.41a	0.0016
	Complacência	0.76b	1.01ab	1.57a	0.0176
	Resistência	422.57a	385.29ab	268.86b	0.0398
	Vol_Corr ¹	3.86	4.71	7.86	0.0851
3 horas pós-tratamento	PaO ₂	69.94b	95.41b	198.73a	0.0036
	PaCO ₂	82.37a	59.57ab	37.33b	0.0133
	PH	7.07b	7.28a	7.47a	<.0001
	Complacência ¹	0.79	0.89	1.29	0.1420
	Resistência ¹	456.86	420	321	0.1346
	Vol_Corr ¹	3.71	5.71	7.36	0.0891
6 horas pós-tratamento	PaO ₂	79.10b	109.96ab	217.61a	0.0112
	PaCO ₂	82.61a	75.4a	33.49b	0.0071
	PH	7.05b	7.19b	7.46a	<.0001
	Complacência	1.02ab	0.69b	1.79a	0.0120
	Resistência	408.83ab	546.86a	248.43b	0.0399
	Vol_Corr	2.83b	3.93b	8.86a	0.0005

Grupo I: controle; Grupo II: surfactante 200mg/kg; Grupo III: Lavado broncoalveolar com surfactante diluído (15ml/kg – 5mg/ml) + surfactante 125mg/kg.

¹Médias dos Grupos não diferentes pelo teste F da Anova no teste do efeito simples de Tratamentos

²Médias dos Grupos seguidas de letras diferentes diferem significativamente (p<0,05) pelo teste de Tukey

Abreviaturas: PaO₂ – pressão parcial de oxigênio (mmHg); PaCO₂ – pressão parcial de dióxido de carbono (mmHg); Vol Corr – volume corrente (ml); complacência (ml/cmH₂O); resistência (cmH₂O/L/S).

ANEXO

ANEXO - BANCO DE DADOS:

GRUPO	PESO	PH1	PH2	PH3	PH4	PH5
1	1800	7.48	7.07	6.81	6.88	6.87
1	1650	7.73	7.11	7.17	7.2	7.21
1	1100	7.54	7.09	7.09	6.93	7.06
1	1200	7.56	6.97	7.18	7	7.19
1	2000	7.46	7.17	7.13	7.04	7.06
1	900	7.28	7.01	7.34	7.41	7.29
1	900	7.49	7.16	7.01	7.06	6.69
2	1000	7.4	7.34	7.2	7.49	7.33
2	1350	7.65	6.92	6.92	7.26	7.39
2	900	7.45	7.18	7.41	7.23	6.76
2	1100	7.54	6.95	7.04	6.97	7.04
2	1500	7.44	7.3	7.11	7.28	7.26
2	1100	7.5	7.26	7.33	7.34	7.21
2	1000	7.41	7.19	7.46	7.38	7.31
3	1500	7.72	7.31	7.31	7.4	7.42
3	1200	7.42	7.06	7.24	7.6	7.34
3	900	7.44	7.06	7.31	7.42	7.62
3	1000	7.53	7.23	7.43	7.51	7.51
3	1700	7.55	7.28	7.57	7.58	7.34
3	1000	7.42	7.27	7.39	7.22	7.36
3	1100	7.44	7.13	7.61	7.58	7.63

Grupo 1 = controle; Grupo 2 = surfactante 200mg/kg; Grupo 3 = Lavado broncoalveolar com surfactante 5mg/ml (15ml/kg) + surfactante 125ml/kg;

pH1=pH antes da instilação de mecônio; pH2=depois da instilação de mecônio, antes do tratamento; pH3 = pH 30 minutos após o tratamento; pH4 = pH 3 horas após o tratamento;

pH5 = pH 6 horas após o tratamento

GRUPO	PESO	PaCO ₂ -1	PaCO ₂ -2	PaCO ₂ -3	PaCO ₂ -4	PaCO ₂ -5
1	1800	34	95	164	89	119
1	1650	11	62	55	60	58
1	1100	19	81	65	100.1	98
1	1200	28	124	64	116	63
1	2000	35	74	78	110	93
1	900	58	103	52	46	59
1	900	29	71	87.1	55.5	88.3
2	1000	35	46	52	33	44
2	1350	21	119	94	53	35
2	900	39.1	74.6	41.7	60.7	171.2
2	1100	30	99.3	88.4	113	93
2	1500	40	67	96	61	66
2	1100	32.9	6 1.4	52.9	55.4	73.4
2	1000	29.7	75	29.5	40.9	45.2
3	1500	16	46	41	36	29
3	1200	16	45	28	36	30
3	900	36	98	48	40	21
3	1000	29.2	70.4	37.8	31.3	32.9
3	1700	27	59	25	25	47.5
3	1000	40.4	61.9	45	73	55
3	1100	32	63	22	20	19

Grupo 1 = controle; Grupo 2 = surfactante 200mg/kg; Grupo 3 = Lavado broncoalveolar com surfactante 5mg/ml (15ml/kg) + surfactante 125ml/kg;

PaCO₂(mmHg)=pressão parcial de dióxido de carbono; PaCO₂-1= PaCO₂antes da instilação de mecônio; PaCO₂=depois da instilação de mecônio, antes do tratamento; PaCO₂-3 = PaCO₂ 30 minutos após o tratamento; PaCO₂-4 = PaCO₂ 3 horas após o tratamento; PaCO₂-5 = PaCO₂ 6 horas após o tratamento

GRUPO	PESO	PaO ₂ -1	PaO ₂ -2	PaO ₂ -3	PaO ₂ -4	PaO ₂ -5
1	1800	282	45	65	60	35
1	1650	300	42	44	59	50
1	1100	303	38	53	42	54
1	1200	459	97	101	68	189
1	2000	327	69	52	39	32
1	900	286	55.8	139.8	178.8	163
1	900	215	48.5	49.9	42.8	30.7
2	1000	345	81	186	174	237
2	1350	363	45	60	72	102
2	900	336.9	71.8	128.2	64.7	71.6
2	1100	323	41.6	62.3	49	32
2	1500	314	62	65	74	67
2	1100	241.7	46.5	68	50.2	50.1
2	1000	270	57	172	184	210
3	1500	355	61	122	159	213
3	1200	291	58	100	95	131
3	900	357	43	240	221	338
3	1000	334	45	94.1	200.8	265.3
3	1700	169	65	236	311.8	143
3	1000	277	49.9	162.9	115.6	121
3	1100	340	53.4	252	287.9	312

Grupo 1 = controle; Grupo 2 = surfactante 200mg/kg; Grupo 3 = Lavado broncoalveolar com surfactante 5mg/ml (15ml/kg) + surfactante 125ml/kg;

PaO₂(mmHg)=pressão parcial de oxigênio; PaO₂-1= PaO₂ antes da instilação de mecônio;

PaO₂=depois da instilação de mecônio, antes do tratamento; PaO₂-3 = PaO₂ 30 minutos após o tratamento; PaCO₂-4 = PaCO₂ 3 horas após o tratamento;

PaO₂-5 = PaO₂ 6 horas após o tratamento

GRUPO	PESO	compl1	compl2	compl3	compl4	compl5
1	1800	7.3	0.3	0.6	0.8	0.9
1	1650	5	1.6	0.9	0.8	0.9
1	1100	1.6	0.6	0.6	0.7	1.2
1	1200	5	0.01	1.1	0.7	0.6
1	2000	2.2	0.5	0.8	0.6	0.7
1	900	3.8	0.8	1	1.4	1.8
1	900	1.1	0.7	0.3	0.5	
2	1000	2.7	1.1	1.6	1.7	1.3
2	1350	2.4	0.4	1.6	1.3	0.7
2	900	0.6	0.6	0.8	0.4	
2	1100	2.6	0.6	0.3	0.4	0.4
2	1500	2.8	0.9	0.5	0.8	0.55
2	1100	2.2	0.5	0.8	0.8	0.5
2	1000	1.4	0.7	1.5	0.8	0.7
3	1500	9	1	1.5	1	1.7
3	1200	1.5	1.3	1.6	1	1.4
3	900	2.8	1.6	1.2	1.3	0.9
3	1000	2.7	1.6	2.3	2	1.7
3	1700	3.1	1	2.4	2.2	2.4
3	1000	2.2	0.6	0.9	0.5	0.9
3	1100	2	0.5	1.1	1	3.5

Grupo 1 = controle; Grupo 2 = surfactante 200mg/kg; Grupo 3 = Lavado broncoalveolar com surfactante 5mg/ml (15ml/kg) + surfactante 125ml/kg;

Compl (ml/cmH₂O)= complacência; Compl1= Compl antes da instilação de mecônio;

Compl2=depois da instilação de mecônio, antes do tratamento; Compl 3 = Compl 30 minutos após o tratamento; Compl 4 = Compl 3 horas após o tratamento;

Compl 5 = Compl 6 horas após o tratamento

GRUPO	PESO	resist1	resist2	resist3	resist4	resist5
1	1800	171	625	430	320	457
1	1650	134	355	310	299	465
1	1100	190	494	565	517	308
1	1200	148	1000	315	515	430
1	2000	171	373	292	345	358
1	900	102	505	412	500	435
1	900	345	357	634	702	
2	1000	166	242	320	266	272
2	1350	81	973	477	335	363
2	900	211	538	275	463	1000
2	1100	110	535	561	520	1000
2	1500	153	340	316	545	411
2	1100	180	507	498	503	460
2	1000	210	420	250	308	322
3	1500	81	373	302	299	271
3	1200	277	472	271	423	296
3	900	160	850	298	352	196
3	1000	150	426	230	225	141
3	1700	151	359	199	193	320
3	1000	105	570	320	500	373
3	1100	160	548	262	255	142

Grupo 1 = controle; Grupo 2 = surfactante 200mg/kg; Grupo 3 = Lavado broncoalveolar com surfactante 5mg/ml (15ml/kg) + surfactante 125ml/kg;

Resist= resistencia(cmH₂O/L/S); Resist1= Resist antes da instilação de mecônio; Resist 2=depois da instilação de mecônio, antes do tratamento; Resist 3 = Resist 30 minutos após o tratamento; Resist 4 = Resist 3 horas após o tratamento;

Resist 5 = Resist 6 horas após o tratamento

GRUPO	PESO	Vol.Cor1	Vol.Cor2	Vol.Cor3	Vol.Cor4	Vol.Cor5
1	1800	17	2	3	5	3.5
1	1650	25	5	6	5	2
1	1100	12	2.5	4	2	2
1	1200	14	1	3	2	3
1	2000	15	6.5	7	6	3.5
1	900	5	1	3	4	3
1	900	7	3.5	1	2	
2	1000	12	6	10	10	7
2	1350	7	1	2	5	6
2	900	9	1.5	5	4	0.5
2	1100	7.5	1.5	1	2	0.5
2	1500	12	6	4	7	5.5
2	1100	10	2	3	6	3
2	1000	12	3	8	6	5
3	1500	16	5	7	7	7
3	1200	15	1.5	5	4	6
3	900	13	4	5	4.5	9.5
3	1000	16	3	7	8	9
3	1700	14	5	16	14	13
3	1000	11	1.5	4	3	4.5
3	1100	14	3	11	11	13

Grupo 1 = controle; Grupo 2 = surfactante 200mg/kg; Grupo 3 = Lavado broncoalveolar com surfactante 5mg/ml (15ml/kg) + surfactante 125ml/kg;

Vol cor = volume corrente(ml); Vol cor 1= Vol cor antes da instilação de mecônio; Vol cor 2=depois da instilação de mecônio, antes do tratamento; Vol cor 3 = Vol cor 30 minutos após o tratamento; Vol cor 4 = Vol cor 3 horas após o tratamento; Vol cor 5 = Vol cor 6 horas após o tratamento