FABIO GAVA AOKI

MODELOS MATEMÁTICOS APLICADOS NA AVALIAÇÃO DA
MECÂNICA RESPIRATÓRIA EM CAMUNDONGOS COM DESAFIOS
DE AGONISTA DA MUSCULATURA LISA

São Paulo

2013

FABIO GAVA AOKI

MODELOS MATEMÁTICOS APLICADOS NA AVALIAÇÃO DA
MECÂNICA RESPIRATÓRIA EM CAMUNDONGOS COM DESAFIOS
DE AGONISTA DA MUSCULATURA LISA

Dissertação apresentada à Escola
Politécnica da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

São Paulo

2013

FABIO GAVA AOKI

MODELOS MATEMÁTICOS APLICADOS NA AVALIAÇÃO DA
MECÂNICA RESPIRATÓRIA EM CAMUNDONGOS COM DESAFIOS
DE AGONISTA DA MUSCULATURA LISA

Dissertação apresentada à Escola
Politécnica da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Área de Concentração:
Sistemas Eletrônicos

Opção:
Engenharia Biomédica

Orientador:
Prof. Dr. Henrique Takachi Moriya

São Paulo

2013

Este exemplar foi revisado e corrigido em relação à versão original, sob responsabilidade única do autor e com a anuência de seu orientador.

São Paulo, de abril de 2013.

Assinatura do autor _____

Assinatura do orientador _____

FICHA CATALOGRÁFICA

Aoki, Fabio Gava

Modelos matemáticos aplicados na avaliação da mecânica respiratória em camundongos com desafios de agonista da musculatura lisa / F.G. Aoki. -- versão corr. -- São Paulo, 2013. 122 p.

Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia de Telecomunicações e Controle.

1. Bioengenharia 2. Músculo liso 3. Experimentos animais 4. Modelos matemáticos 5. Mecânica respiratória I. Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de Engenharia de Telecomunicações e Controle II. t.

Dedico este trabalho a meus pais, João Carlos e Marina.

AGRADECIMENTOS

A Deus, antes de tudo, por ter criado este maravilhoso universo e todos os mistérios a serem revelados.

A meus pais, João Carlos e Marina, que sempre estiveram ao meu lado; a Kleber e Clarissa que me hospedaram e me aturaram nos finais de semana; à minha irmã que, mesmo longe, sempre me apoiou e ao meu tio Estevam, que me apresentou ao mundo das artes.

A João Antônio Gimenes Júnior por fornecer os dados experimentais dos camundongos do grupo basal de seu trabalho de doutorado.

Ao Prof. Dr. Wothan Tavares de Lima por gentilmente ceder seu laboratório para o treino experimental com animais; à Zilma pelo cafezinho que me manteve acordado durante as tardes de pesquisa e a todos os membros do Laboratório de Fisiopatologia da Inflamação Experimental do ICB-USP.

À Prof.^a Dr.^a Caroline Marcantonio Ferreira por me ensinar como utilizar o *flexiVent*.

À Prof.^a Dr.^a Fernanda Magalhães Arantes Costa que contribuiu com valiosas informações na qualificação.

Ao Prof. Dr. Henrique Takachi Moriya por sua paciência e compreensão nos momentos em que mais precisei; a Jimmy Mauricio Valencia Rivas pela parceria e por me passar sua rotina computacional que realiza integrais e a todos os colegas e professores do Laboratório de Engenharia Biomédica.

Ao Prof. Dr. João Tadeu Ribeiro Paes que me ingressou no meio científico durante a graduação.

Às amigas Carolina, Diana e Kátia pela colaboração por todos estes anos, à Mônica Yonashiro por ter me apresentado ao Prof. Henrique e a todos os colegas da UNESP de Assis.

Aos amigos Rafael Neves e João Marcos e a todos que colaboraram direta ou indiretamente na execução deste trabalho.

“Assim eu concluí que nada é melhor para o homem do que alegrar-se e procurar o bem-estar durante sua vida; e que comer, beber e gozar do fruto de seu trabalho é um dom de Deus.”

(Ecl 3,12s)

RESUMO

Modelos matemáticos são utilizados como ferramentas na avaliação da mecânica respiratória para a compreensão da fisiologia e patologias do sistema respiratório. A presente pesquisa visou avaliar, através da aplicação de modelos matemáticos, a mecânica respiratória em camundongos submetidos à metacolina. Deu-se ênfase no modelo linear de compartimento único e suas variantes não lineares. Camundongos C57BL/6 ($n = 8$) foram traqueostomizados, ventilados mecanicamente (*flexiVent*, SCIREQ, Canadá) e perturbações em volume foram aplicadas para a modelagem do sistema respiratório. O protocolo experimental foi elaborado de forma a se analisar a variação dos parâmetros respiratórios durante a aplicação do agente broncoativo e também se verificou a divisão do sinal quasi-senoidal em expirações e inspirações durante a técnica de oscilação forçada (FOT) com perturbação de frequência 2,5 Hz. Com base nisso, uma rotina computacional própria foi desenvolvida para a análise dos experimentos realizados no ventilador mecânico e foram pesquisadas as vantagens e desvantagens dos modelos matemáticos aplicados. Os resultados demonstraram um aumento no desvio padrão dos parâmetros do modelo linear unicompartimental e suas variantes não lineares após a aplicação do broncoconstritor. Acredita-se que esta grande variação nos parâmetros esteja relacionada com o enrijecimento do parênquima e da heterogeneidade da ventilação pulmonar após a utilização da droga. Devido à correlação dos parâmetros do modelo com a fisiologia ocorrer somente no modelo linear, acredita-se que este ainda é o mais indicado na avaliação da mecânica respiratória e as variantes não lineares seriam indicadas como opção em casos onde o modelo linear é incapaz de realizar ajustes adequados ou para informações complementares.

Palavras-chave: Bioengenharia. Músculo liso. Experimentos animais. Modelos matemáticos. Mecânica Respiratória.

ABSTRACT

Mathematical models are used as tools in the assessment of respiratory mechanics for the understanding of the physiology and pathologies of the respiratory system. This study aimed to assess the respiratory mechanics by applying mathematical models in mice subjected to challenges with methacholine. Emphasis was placed on linear single-compartment model and its nonlinear variants. C57BL/6 mice ($n = 8$) were tracheostomized, mechanically ventilated (*flexiVent*, SCIREQ, Canada) and disturbances in volume were applied to the modeling of the respiratory system. The experimental protocol was developed in order to analyze the variation of respiratory parameters during the application of the bronchoactive agent. The division of quasi-sinusoidal signal in expirations and inspirations during the forced oscillation technique (FOT) with frequency perturbation of 2.5 Hz was also observed. Based on that, a proper computational routine was developed in order to analyze the experiments in the mechanical ventilator and the advantages and disadvantages of the applied mathematical models. The results demonstrated an increase in the standard deviation of the linear single-compartment model and its nonlinear variants parameters after the application of bronchoconstrictor. It is believed that this large variation in the parameters relates to the parenchyma stiffening and to the heterogeneity of pulmonary ventilation after the use of the drug. Due to the fact that the correlation between the model parameters and the physiology occurred only in the linear model, it is believed that this is still the most suitable model in the assessment of respiratory mechanics. Nonlinear variations of the single-compartment model would be indicated only as an option, for example, in cases where the linear model is incapable of performing appropriate fits or when additional information about the respiratory system is required.

Keywords: Bioengineering. Smooth muscle. Animal experiment. Mathematical models. Respiratory mechanics.

LISTA DE EQUAÇÕES

Nº	Equação	Página
(1)	$P(t) = E \cdot V(t) + R \cdot \dot{V}(t)$	42
(2)	$P_{el}(t) = E \cdot V(t)$	42
(3)	$C = \frac{1}{E}$	43
(4)	$\Delta P(t) = R \cdot \dot{V}(t)$	43
(5)	$P = P_{el} + \Delta P$	43
(6)	$P(t) = E \cdot V(t) + R \cdot \dot{V}(t) + P_0$	43
(7)	$SSR = \sum_{i=1}^N [P_i - \hat{P}_i]^2 = \sum_{i=1}^N [P_i - E \cdot V_i - R \cdot \dot{V}_i - P_0]^2$	44
(8)	$\frac{\partial SSR}{\partial E} = -2 \cdot \sum_{i=1}^N V_i \cdot [P_i - E \cdot V_i - R \cdot \dot{V}_i - P_0] = 0$	44
(9)	$\frac{\partial SSR}{\partial R} = -2 \cdot \sum_{i=1}^N \dot{V}_i \cdot [P_i - E \cdot V_i - R \cdot \dot{V}_i - P_0] = 0$	44
(10)	$\frac{\partial SSR}{\partial P_0} = -2 \cdot \sum_{i=1}^N [P_i - E \cdot V_i - R \cdot \dot{V}_i - P_0] = 0$	44
(11)	$\sum_{i=1}^N V_i \cdot P_i = E \cdot \sum_{i=1}^N V_i^2 + R \cdot \sum_{i=1}^N V_i \cdot \dot{V}_i + P_0 \cdot \sum_{i=1}^N V_i$	44
(12)	$\sum_{i=1}^N \dot{V}_i \cdot P_i = E \cdot \sum_{i=1}^N V_i \cdot \dot{V}_i + R \cdot \sum_{i=1}^N \dot{V}_i^2 + P_0 \cdot \sum_{i=1}^N \dot{V}_i$	44
(13)	$\sum_{i=1}^N P_i = E \cdot \sum_{i=1}^N V_i + R \cdot \sum_{i=1}^N \dot{V}_i + P_0$	45
(14)	$Z(f) = \frac{P(f)}{\dot{V}(f)}$	46
(15)	$\eta = \frac{\omega \cdot R_t}{E_L}$	47
(16)	$Z_{rs} = Z_{aw} + Z_{ti}$	47
(17)	$Z_{aw} = R_N + j \cdot 2 \cdot \pi \cdot f \cdot I_{aw}$	48

- (18) $Z_{ii} = \frac{G - j \cdot H}{(2 \cdot \pi \cdot f)^\alpha}$ 48
- (19) $Z_{rs}(f) = R_N + j \cdot 2 \cdot \pi \cdot f \cdot I_{aw} + \frac{G - j \cdot H}{(2 \cdot \pi \cdot f)^\alpha}$ 48
- (20) $\alpha = \frac{2}{\pi} \arctan \frac{H}{G}$ 48
- (21) $\eta = \frac{G}{H}$ 49
- (22) $P_{ao} = K_1 \cdot \dot{V}(t) + K_2 \cdot \dot{V}(t) \cdot |\dot{V}(t)|$ 51
- (23) $P(t) = E_R \cdot V(t) + [K_1 + K_2 \cdot |\dot{V}(t)|] \cdot \dot{V}(t) + P_0$ 52
- (24) $E = E_1 + E_2 \cdot V(t)$ 53
- (25) $P(t) = [E_1 + E_2 \cdot V(t)] \cdot V(t) + R_E \cdot \dot{V}(t) + P_0$ 54
- (26) $P(t) = [E_1 + E_2 \cdot V(t)] \cdot V(t) + [K_1 + K_2 \cdot |\dot{V}(t)|] \cdot \dot{V}(t) + P_0$ 54
- (27) $\% E_2 = 100 \cdot \left(\frac{E_2 \cdot V_T}{E_1 + E_2 \cdot V_T} \right)$ 55
- (28) $F = \frac{(SSR_1 - SSR_2) / (df_1 - df_2)}{SSR_2 / df_2}$ 58
- (29) $AIC = m \cdot \ln \left(\frac{SSR}{m} \right) + 2 \cdot n$ 58
- (30) $AIC_c = m \cdot \ln \left(\frac{SSR}{m} \right) + 2 \cdot n + \left(\frac{2 \cdot n \cdot (n+1)}{m - n - 1} \right)$ 59
- (31) $P(t) = E_{gas} \cdot V(t)$ 68
- (32) $\dot{V}_{tr}(t) = \dot{V}(t) - \dot{P}(t) / E_{gas}$ 68
- (33) $P(t) = \dot{V}_{tr}(t) \cdot R_{tube} + \ddot{V}_{tr}(t) \cdot I_{tube}$ 69
- (34) $P_{tr}(t) = P(t) - \dot{V}_{tr}(t) \cdot R_{tube} - \ddot{V}_{tr}(t) \cdot I_{tube}$ 69
- (35) $COD = 1 - \frac{SSR}{\sum_{i=1}^N (P_i - \bar{P})^2}$ 75
- (36) $outlier = \begin{cases} outlier \sup > Q_3 + 3 \cdot IQR \\ outlier \inf < Q_1 - 3 \cdot IQR \end{cases}$ 77

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – A – Montagem experimental para obtenção da curva de volume por pressão. B – Gráfico de volume por pressão em pulmão excisado de gato. Observar histerese durante a insuflação e desinflação (adaptado de West, 2010).	30
Figura 2 – Curvas de volume por pressão de pulmões de gato com insuflação e desinflação de solução salina e de ar (WEST, 2010).	31
Figura 3 – Exemplo de ciclo ventilatório com onda de fluxo quadrada. A – Início da inspiração; B – Inspiração; C – Fim da inspiração; D – Início da expiração; E – Expiração e F – Fim da expiração (modificado de Waugh, Deshpande e Harwood, 1999).	37
Figura 4 – Modelo simplificado do sistema respiratório por meio de tubo e balão. ...	41
Figura 5 – Representação mecânica simplificada do modelo linear de compartimento único. Nesta configuração, podem-se acrescentar novos elementos representativos, exemplificado pela mola e os cilindros sobrepostos (BATES, 2009).	42
Figura 6 – Montagem do equipamento <i>flexiVent</i> (SCIREQ, Canadá) que se encontra no Laboratório de Fisiopatologia da Inflamação Experimental do ICB-USP.	65
Figura 7 – Visão aproximada da tubulação tipo "Y" que conecta o animal às válvulas de inspiração e expiração. Acima da tubulação "Y", encontra-se o transdutor de pressão de entrada das vias aéreas (P_{ao}). Podem-se verificar parcialmente as válvulas à esquerda e, à direita, a cânula metálica <i>18-gauge</i>	66
Figura 8 – Camundongo C57BL/6 traqueostomizado sendo ventilado mecanicamente no ventilador para pequenos animais (<i>flexiVent</i> , SCIREQ, Canadá).	67
Figura 9 – Sequência da perturbação ventilatória adotada (<i>SnapShot-150</i>) para as coletas PBS, MCh 50 mg/mL e MCh 100 mg/mL. O retângulo inferior representa a linha de tempo em segundos após a nebulização.	71

Figura 10 – Perturbação quasi-senoidal em volume à frequência de 150 respirações/minuto (ou 2,5 Hz).	71
Figura 11 – Ordem das etapas do experimento realizado. Obs. TLC – capacidade pulmonar total. Basal – aplicação da perturbação <i>SnapShot-150</i> sem nebulização. PBS – aplicação das perturbações com utilização apenas de solução tampão fosfato-salina. MCh – nebulização de solução tampão mais determinada concentração do fármaco metacolina. O retângulo central representa os instantes de tempo do experimento com um dos animais. Os instantes de tempo podem variar de animal para animal.	72
Figura 12 – Diagrama de blocos demonstrando a estruturação do código em ambiente matemático (<i>Matlab R2010a</i> , The MathWorks, EUA).	73
Figura 13 – A onda gerada pela perturbação quasi-senoidal foi dividida em 5 partes (os dois últimos terços, expirações 1 e 2 e inspirações 1 e 2) para a análise dos parâmetros do modelo linear de compartimento único e modelos não lineares. Foram calculados R , E , variantes não lineares e COD para cada trecho.	76
Figura 14 – Esquema geral da interface gráfica da rotina computacional desenvolvida: 1 – Menu arquivo; 2 – Menu sobre a rotina computacional; 3 – Lista de eventos, nome do arquivo e dados calculados com o modelo linear unicompartimental; 4 – Parâmetros calculados pelo software <i>flexiVent 5.2</i> (SCIREQ, Canadá); 5 – Parâmetros calculados do trecho selecionado pelo usuário; 6 – Botões de selecionar, zerar informações, separar as ondas senoidais, salvar dados do evento escolhido, voltar ao menu principal, voltar à onda senoidal antes da seleção e salvar os dados de todos os eventos em planilha; 7 – Escolher qual tipo de calibração: software <i>flexiVent 5.2</i> ou calibração da própria rotina computacional (para ser usada no salvamento de todos os eventos); 8 – Dados anotados pelo usuário durante o experimento com o animal; 9 – Parâmetros do modelo com variante não linear; 10 – Gráficos de pressão, volume e fluxo e 11 – Relatório para anotações do evento selecionado.	79
Figura 15 – Tela de apresentação da rotina computacional para análises de perturbação em volume do modelo linear unicompartimental e sua	

variante não linear com resistência dependente do fluxo. Foi selecionada para ilustração a inspiração da segunda onda quasi-senoidal do sinal completo.	80
Figura 16 – Tela de apresentação da rotina computacional para análises de perturbação em volume do modelo linear unicompartimental e sua variante não linear com elastância dependente do volume. Foi selecionada para ilustração a expiração da primeira onda quasi-senoidal do sinal completo.	81
Figura 17 – Tela de apresentação da rotina computacional para análises de perturbação em volume do modelo linear unicompartimental e sua variante não linear com resistência dependente do fluxo e elastância dependente do volume. Foi selecionado um ciclo correspondente à terceira onda quasi-senoidal do sinal completo.	82
Figura 18 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores de elastância durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal. As setas indicam o instante inicial de cada coleta.	84
Figura 19 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores de resistência durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal. As setas indicam o instante inicial de cada coleta.	84
Figura 20 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores do coeficiente de determinação durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal. As setas indicam o instante inicial de cada coleta.	85
Figura 21 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para a elastância nos instantes de tempo representativos calculada para os dois últimos terços do sinal. As médias são estatisticamente diferentes (ANOVA, $p < 0,0001$). As diferenças apresentadas pelo teste <i>post hoc</i> estão representadas pelos símbolos. Barras com mesmo símbolo apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).	86
Figura 22 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para a resistência nos instantes de tempo representativos calculada para os dois últimos terços do sinal. As médias são estatisticamente diferentes (ANOVA, $p < 0,0001$). As diferenças apresentadas pelo teste <i>post hoc</i> estão representadas pelos símbolos. Barras com mesmo símbolo apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).	86

- Figura 23 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para o coeficiente de determinação nos instantes de tempo representativos calculado para os dois últimos terços do sinal. As médias são estatisticamente diferentes (ANOVA, $p < 0,05$). As diferenças apresentadas pelo teste *post hoc* estão representadas pelos símbolos. Barras com mesmo símbolo apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$). 87
- Figura 24 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para a elastância nos instantes de tempo representativos calculada para os dois últimos terços do sinal (E), expirações (E exp1 e E exp2) e inspirações (E insp1 e E insp2). Os elementos dentro de cada coleta não apresentaram diferença estatística significativa (ANOVA). 88
- Figura 25 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para a resistência nos instantes de tempo representativos calculada para os dois últimos terços do sinal (R), expirações (R exp1 e R exp2) e inspirações (R insp1 e R insp2). Os elementos dentro de cada coleta apresentaram diferença estatística significativa apenas na coleta PBS (ANOVA, $p = 0,0353$). Contudo, para a coleta PBS, o teste *post hoc* de comparação múltipla não apresentou diferença estatística em nenhuma combinação de pares. 88
- Figura 26 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para o coeficiente de determinação nos instantes de tempo representativos calculado para os dois últimos terços do sinal (COD), expirações (COD exp1 e COD exp2) e inspirações (COD insp1 e COD insp2). Os elementos dentro de cada coleta apresentaram diferença estatística significativa em todas as coletas (ANOVA, * $p = 0,0281$, *** $p < 0,0001$). O teste *post hoc* de comparação múltipla apresentou diferença estatística entre o COD para os dois últimos terços do sinal em comparação com expirações e inspirações nas coletas Basal, PBS e MCh 50 mg/mL. Para a coleta MCh 100 mg/mL, houve diferença no teste *post hoc* apenas entre COD e COD exp2. 89
- Figura 27 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores de K_2 durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal. As setas indicam a posição inicial de cada coleta. 90

- Figura 28 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para o coeficiente de determinação do modelo com resistência dependente do fluxo nos instantes de tempo representativos calculado para os dois últimos terços do sinal. As médias são estatisticamente diferentes (ANOVA, $p < 0,0001$). As diferenças apresentadas pelo teste *post hoc* estão representadas pelos símbolos. Barras com mesmo símbolo apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$). 92
- Figura 29 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores de E_2 durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal. As setas indicam a posição inicial de cada coleta..... 94
- Figura 30 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para o coeficiente de determinação do modelo com elastância dependente do volume nos instantes de tempo representativos calculado para os dois últimos terços do sinal. As médias são estatisticamente diferentes (ANOVA, $p < 0,01$). As diferenças apresentadas pelo teste *post hoc* estão representadas pelos símbolos. Barras com mesmo símbolo apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$). 96
- Figura 31 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores de E_2 durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal. As setas indicam a posição inicial de cada coleta..... 99
- Figura 32 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores de K_2 durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal. As setas indicam a posição inicial de cada coleta..... 99
- Figura 33 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para o coeficiente de determinação do modelo com resistência dependente do fluxo e elastância dependente do volume nos instantes de tempo representativos calculado para os dois últimos terços do sinal. As médias são estatisticamente diferentes (ANOVA, $p < 0,0001$). As diferenças apresentadas pelo teste *post hoc* estão representadas pelos símbolos. Barras com mesmo símbolo apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$). 101
- Figura 34 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores da $\%E_2$ durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal com o modelo de

elastância dependente de volume. As setas indicam a posição inicial de cada coleta. 104

Figura 35 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores da $\%E_2$ durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal com o modelo de resistência dependente do fluxo e elastância dependente de volume. As setas indicam a posição inicial de cada coleta. 105

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIC	Critério de Informação de Akaike
ALI	Lesão Pulmonar Aguda
AMV	Ventilação Mandatória Assistida
ANOVA	do inglês, <i>Analysis of Variance</i>
CMV	Ventilação Mandatória Controlada
CPT	Capacidade Pulmonar Total
CRF	Capacidade Residual Funcional
CV	Capacidade Vital
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
EPUSP	Escola Politécnica da Universidade de São Paulo
ETT	Tubo Endotraqueal
FOT	Técnica de Oscilação Forçada
GUI	do inglês, <i>Graphical User Interface</i>
ICB-USP	Instituto de Ciências Biomédicas
IMV	Ventilação Mandatória Intermitente
LEB	Laboratório de Engenharia Biomédica
LVDT	Transdutor Diferencial Variável Linear
Matlab	do inglês, <i>Matrix Laboratory</i>
MCh	Cloreto de Acetil- β -Metilcolina ou, simplesmente, Metacolina
PEEP	Pressão Positiva ao Final da Expiração
PIP	Pressão de Pico Inspiratório
SDRA	Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo
SIMV	Ventilação Mandatória Intermitente Sincronizada
TLC	Capacidade Pulmonar Total
UP	Pletismografia em Animais não Contidos
VC	Volume Corrente
VM	Ventilação Mecânica
VR	Volume Residual

LISTA DE SÍMBOLOS

C	complacência
cmH_2O	centímetros de água
COD	coeficiente de determinação do modelo linear unicompartimental
COD_E	coeficiente de determinação do modelo com elastância dependente do volume
COD_R	coeficiente de determinação do modelo com resistência dependente do fluxo
COD_{R-E}	coeficiente de determinação do modelo com resistência dependente do fluxo e elastância dependente do volume
ΔENV	percentual de melhora da ENV
η	histeresividade
E	elastância calculada com o modelo linear unicompartimental
E_1	componente da elastância independente do volume
$E_2 \cdot V$	componente da elastância dependente do volume
$\%E_2$	contribuição de E_2 na elastância total do sistema respiratório
E_{gas}	elastância do gás
E_L	elastância pulmonar
E_R	elastância calculada com o modelo não linear com resistência dependente do fluxo
E_{rs}	elastância do sistema respiratório
ENV	variância estimada do ruído
FIO_2	fração inspirada de O_2
G	viscância do tecido
H	elastância do tecido
I_{aw}	inertância devido às vias aéreas
I_{tube}	inertância do tubo
$Im(Z)$	componente imaginário da impedância do sistema respiratório
j	unidade imaginária
kg	quilogramas

K_1	componente da resistência independente do fluxo
$K_2 \cdot \dot{V}$	componente da resistência dependente do fluxo
$\ln(\cdot)$	logaritmo natural
mg	miligramas
mL	mililitros
π	constante pi
P	pressão
$P(f)$	pressão no domínio da frequência
P_A	pressão alveolar
P_{ao}	pressão na abertura das vias aéreas
P_{cyl}	pressão no cilindro
P_{el}	pressão de recolhimento elástico
P_{tr}	pressão corrigida e aplicada na ponta da cânula
$\dot{P}(t)$	derivada da pressão em função do tempo
R	resistência calculada com o modelo linear unicompartimental
$\text{Re}(Z)$	componente real da impedância do sistema respiratório
R_E	resistência calculada com o modelo não linear com elastância dependente do volume
R_N	resistência Newtoniana
R_s	resistência devido ao vazamento
R_t	resistência do tecido
R_{tube}	resistência do tubo
SSR	soma dos resíduos quadrados
t	tempo
V	volume
$\dot{V}$	fluxo
$\dot{V}(f)$	fluxo no domínio da frequência
$ \dot{V}(t) $	módulo do fluxo em função do tempo
V_{cyl}	volume do cilindro
V_T	volume corrente
V_{tr}	volume corrigido e aplicado na ponta da cânula

$\dot{V}_{tr}(t)$	fluxo corrigido em função do tempo
$\ddot{V}_{tr}(t)$	derivada do fluxo corrigido em função do tempo
Z	impedância
Z_{aw}	impedância devido às vias aéreas
Z_{in}	impedância de entrada
Z_{rs}	impedância do sistema respiratório
Z_{ti}	impedância do tecido
Z_{tr}	impedância de transferência
ω	frequência angular

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	22
1.1 OBJETIVOS.....	23
1.1.1 Objetivo Geral.....	23
1.1.2 Objetivos Específicos	23
1.2 JUSTIFICATIVAS	24
1.3 ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO	25
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	26
2.1 MECÂNICA RESPIRATÓRIA	26
2.2 VENTILAÇÃO MECÂNICA	33
2.3 MODELOS MATEMÁTICOS LINEARES	39
2.3.1 Modelo Linear de Compartimento Único	40
2.3.2 Modelo de Fase Constante	45
2.4 NÃO LINEARIDADE	50
2.4.1 Não Linearidade das Vias Aéreas	50
2.4.2 Não Linearidade dos Tecidos	52
2.4.3 $%E_2$	54
2.5 COMPARAÇÃO ENTRE MODELOS	56
2.5.1 Variância Estimada do Ruído (<i>ENV</i>).....	57
2.5.2 Teste <i>F</i>	57
2.5.3 Critério de Informação de Akaike (AIC)	58
2.6 AVALIAÇÃO DA MECÂNICA RESPIRATÓRIA EM ANIMAIS	59
2.7 DESAFIOS COM BRONCOCONSTRITORES.....	62
3 METODOLOGIA	65
3.1 VENTILADOR MECÂNICO PARA PEQUENOS ANIMAIS	65
3.2 PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	69
3.3 IMPLEMENTAÇÃO DA ROTINA COMPUTACIONAL	72
3.4 APLICAÇÃO DOS MODELOS	73
3.4.1 Calibração das Cânulas.....	74

3.4.2 Modelo Linear de Compartimento Único	74
3.4.3 Variantes Não Lineares	74
3.4.4 $\%E_2$	75
3.5 ANÁLISE DOS DADOS.....	75
4 RESULTADOS.....	78
4.1 DESENVOLVIMENTO COMPUTACIONAL	78
4.2 PARÂMETROS DE CALIBRAÇÃO DE CÂNULA.....	82
4.3 MODELO LINEAR DE COMPARTIMENTO ÚNICO	83
4.4 VARIANTE NÃO LINEAR COM RESISTÊNCIA DEPENDENTE DO FLUXO	89
4.5 VARIANTE NÃO LINEAR COM ELASTÂNCIA DEPENDENTE DO VOLUME.....	93
4.6 VARIANTE NÃO LINEAR COM RESISTÊNCIA DEPENDENTE DO FLUXO E ELASTÂNCIA DEPENDENTE DO VOLUME.....	97
4.7 $\%E_2$	104
5 DISCUSSÃO	106
6 CONCLUSÃO	116
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	117

1 INTRODUÇÃO

O estudo da modelagem matemática nas áreas biomédicas promove ao pesquisador a melhor compreensão da fisiologia e patologia dos seres vivos (COBELLI; CARSON, 2001). No estudo da avaliação da mecânica respiratória, modelos matemáticos podem ser utilizados como ferramentas para se calcular parâmetros que podem ser relacionados ou não com a fisiologia, tomando como base dados obtidos junto à coleta com transdutores (BATES, 2009).

Na área clínica, a determinação dos parâmetros respiratórios fornece informações clínicas importantes sobre o paciente (CARVALHO; ZIN, 2011). Por outro lado, na pesquisa básica, tais parâmetros podem ser empregados em modelos animais para a avaliação da mecânica pulmonar no estudo de doenças (WAGERS et al., 2002).

A pesquisa aqui apresentada foi desenvolvida principalmente em dois centros de pesquisa da Universidade de São Paulo. Os modelos matemáticos do projeto foram aplicados no *Laboratório de Engenharia Biomédica (LEB)* da *Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (EPUSP)*. Os experimentos em modelo animal foram realizados no *Laboratório de Fisiopatologia da Inflamação Experimental, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB-USP)* sob a supervisão do Prof. Dr. Wothan Tavares de Lima. Seguindo o princípio de ética em experimentação animal dos três Rs (do inglês, “*replacement, reduction and refinement*”) dos pesquisadores William Russell e Rex Burch (1959), este trabalho utilizou o grupo basal de um projeto de doutorado em andamento. A pesquisa recebeu a autorização da Comissão de Ética em Experimentação Animal do ICB-USP (nº 113, folha 75, livro 02).

Um ventilador mecânico para pequenos animais (*flexiVent*, SCIREQ, Canadá) foi utilizado para efetivar a ventilação e as perturbações em volume necessárias para a modelagem do sistema respiratório. A captação dos sinais foi feita por meio de transdutores de pressão e volume do próprio ventilador. Após os experimentos, as variáveis obtidas foram empregadas nos cálculos de modelos matemáticos. Para isso, uma rotina computacional foi desenvolvida em ambiente matemático (*Matlab R2010a*, The MathWorks, EUA) com a ferramenta GUI (do inglês, “*Graphical User Interface*”). Esta ferramenta possibilitou a elaboração de uma interface gráfica com o

objetivo de facilitar o processamento dos dados por parte do pesquisador e, além disso, permitir uma melhor análise e depuração dos dados.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

A presente pesquisa visa realizar a avaliação da mecânica respiratória em camundongos submetidos a desafios de agonista da musculatura lisa através da aplicação de modelos matemáticos com ênfase no modelo linear de compartimento único e suas variantes não lineares.

1.1.2 Objetivos Específicos

- a) Estudar os modelos matemáticos aplicados na avaliação da mecânica respiratória;
- b) Compreender o funcionamento do ventilador mecânico para pequenos animais (*flexiVent*, SCIREQ, Canadá) e aprender a operar o software *flexiVent 5.2*;
- c) Implementar uma rotina computacional própria para a análise de experimentos realizados no *flexiVent*;
- d) Pesquisar e compreender as vantagens e desvantagens dos modelos matemáticos aplicados.

1.2 JUSTIFICATIVAS

Nos últimos anos, a avaliação da função mecânica pulmonar em modelos animais por meio de ventiladores mecânicos tem colaborado para a melhor compreensão da fisiologia das doenças que afetam a mecânica respiratória, como a asma (BATES; RINCON; IRVIN, 2009), a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) (WRIGHT; COSIO; CHURG, 2008) e a fibrose pulmonar (COHEN et al., 2004).

Os modelos matemáticos lineares são amplamente utilizados no estudo da avaliação da mecânica respiratória em animais para melhorar o entendimento de sua fisiologia respiratória. Existem modelos que são aplicados no domínio do tempo, como o modelo linear de compartimento único (JONASSON et al., 2009), e modelos aplicados no domínio da frequência, como o modelo de fase constante (COHEN et al., 2004). Apesar de fornecerem informações significativas, tais modelos dependem que o sistema se comporte de forma linear, fazendo que o experimento esteja sujeito a algumas condições, como perturbações de baixa amplitude e homogeneidade do sistema respiratório (MORIYA, 2003).

O estudo da hiper-responsividade das vias aéreas, por exemplo, muito empregado em modelos murinos de asma, utiliza métodos de broncoconstrição causados pelo emprego de desafios com agonistas da musculatura lisa (BATES; RINCON; IRVIN, 2009). Entretanto, a constrição das vias aéreas faz com que o sistema se comporte de maneira não linear, criando um obstáculo à utilização dos modelos lineares (WAGERS et al., 2002).

Com base nos problemas enfrentados pelos modelos lineares, deve-se destacar a importância dos modelos não lineares que, apesar de serem mais complexos, demonstraram, em alguns casos, melhores ajustes aos dados experimentais (BATES, 2005).

Atualmente, as pesquisas que utilizam ventiladores mecânicos comerciais para pequenos animais adotam os parâmetros das vias aéreas obtidos pelos softwares proprietários como verdade, sem indagar sua veracidade. Além disso, os usuários destes equipamentos ficam restritos às análises dos modelos matemáticos disponibilizados por estes softwares.

Neste sentido, justifica-se uma pesquisa voltada para uma análise mais profunda dos parâmetros gerados através da aplicação do modelo linear de um compartimento, objetivando verificar a coerência dos dados, para permitir a utilização correta de tais informações no meio científico. Igualmente, justifica-se também a aplicação de outros modelos matemáticos não lineares no domínio do tempo disponíveis na literatura.

1.3 ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

Esta dissertação apresenta-se, basicamente, dividida em seis capítulos. O presente capítulo proporciona uma introdução ao leitor do tema a ser tratado, além dos objetivos e justificativas do trabalho.

O capítulo 2 fornece uma revisão da literatura, investigando os tópicos principais que foram abordados nas análises, como a mecânica respiratória, a ventilação mecânica e os modelos matemáticos utilizados.

O capítulo 3 descreve o funcionamento do ventilador mecânico para pequenos animais, a implementação da rotina computacional desenvolvida e a realização das análises dos dados. Neste mesmo capítulo, encontra-se também o delineamento do protocolo experimental empregado nos animais ventilados.

Os capítulos 4, 5 e 6 dispõem, respectivamente, os resultados das análises dos dados, as discussões referentes aos resultados e à conclusão final da dissertação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MECÂNICA RESPIRATÓRIA

Para um indivíduo saudável, os músculos da respiração devem ser capazes de suplantar o impedimento à passagem de ar ao longo das vias aéreas e de forças de recolhimento elástico dos tecidos pulmonares e parede torácica, para que ar puro seja constantemente renovado aos pulmões. Desta forma, a mecânica pulmonar tem como finalidade estudar tais propriedades subjacentes à fisiologia (BATES, 2009).

O esforço respiratório realizado pelos músculos não é percebido conscientemente. Contudo, tal esforço é sentido quando é necessário realizá-lo além do normal, como ocorre em pacientes com disfunções da mecânica respiratória (ZIN; ROCCO, 1995).

O sistema respiratório é separado fundamentalmente em parede torácica, vias aéreas condutoras, pulmões e ramo do sistema nervoso responsável pelo controle dos músculos respiratórios. As funções do sistema respiratório incluem equilíbrio ácido-base, fonação, defesa, metabolização e, principalmente, a realização de trocas gasosas (RAFF; LEVITZKY, 2011).

As trocas gasosas nos pulmões ocorrem em uma fina barreira de tecido, que separa as vias aéreas dos vasos sanguíneos, permitindo que os gases transitem em seu meio por difusão simples. Para que as trocas gasosas aconteçam, os pulmões possuem uma alta superfície de contato originada por meio de uma cadeia de subdivisões que diminuem o diâmetro das vias aéreas a cada ramificação (WEST, 2010).

A parede torácica é constituída pelos componentes, à exceção dos pulmões, que se movem durante o ciclo respiratório, incluindo o abdômen. O ar inspirado é conduzido pelo sistema respiratório por meio de condutos. Tais condutos são denominados vias aéreas e se dividem entre os ramos superior e inferior. As vias aéreas superiores compreendem nariz, boca e regiões da faringe, enquanto as vias aéreas inferiores se iniciam na traqueia, que se ramifica basicamente em brônquios, bronquíolos e alvéolos. Em seguida, o centro nervoso de controle respiratório

encontra-se no tronco encefálico, mais precisamente em regiões da ponte e bulbo (WEST, 2010; ZIN; ROCCO, 1995).

Os músculos são os principais responsáveis pelo movimento na respiração espontânea. A expansão dos pulmões é causada tanto pela contração do músculo diafragma, como pela elevação da caixa torácica, causada pelos músculos auxiliares. O diafragma é um músculo de estrutura fina que divide as cavidades torácica e abdominal. Durante o repouso, a maior parte da respiração é realizada por esse músculo. Quando contraído, se movimenta para baixo, comprimindo a cavidade abdominal. Apesar do diafragma sozinho ser capaz de propiciar a inspiração, outros músculos são recrutados durante a atividade física para o seu auxílio, denominados músculos auxiliares (GUYTON; HALL, 1997; WEST, 2010).

Os músculos auxiliares da respiração elevam a caixa torácica, aumentando as medidas laterais e o comprimento ântero-posterior, como a musculatura intercostal externa e os músculos acessórios que são recrutados durante o exercício físico mais intenso. Os músculos acessórios são compostos pelos escalenos, serráteis anteriores e esternocleidomastóideos, além de outros músculos da cabeça e pescoço (GUYTON; HALL, 1997; WEST, 2010).

Ao final da inspiração, energia potencial é armazenada devido à natureza elástica do sistema respiratório e, conseqüentemente, a expiração durante o repouso é passiva. Assim, após o pulmão ter sido insuflado, sua tendência natural é permitir a saída de ar. Contudo, no exercício físico, a expiração pode ser assistida pela musculatura intercostal interna e pela musculatura abdominal que comprimem a cavidade torácica e a cavidade abdominal para a expulsão do ar (GUYTON; HALL, 1997; WEST, 2010).

As medidas pulmonares variam dependendo das características do corpo de cada indivíduo, como altura e peso, além de outros fatores como sexo e idade. A variação do volume pulmonar durante o ciclo respiratório em repouso é o *volume corrente* (VC) e, para um adulto de 70 kg, é de aproximadamente 500 mL (RAFF; LEVITZKY, 2011). Já o volume adquirido pelo pulmão após a máxima inspiração é denominado *capacidade pulmonar total* (CPT). Caso, após a máxima inspiração, se realizar uma expiração forçada ao limite, o volume expirado é a *capacidade vital* (CV). Subtraindo-se a CV da CPT, obtém-se o *volume residual* (VR), que impede o colapamento dos pulmões. Em seguida, a *capacidade residual*

funcional (CRF) é o volume restante nos pulmões após uma expiração em repouso (BATES, 2009; ZIN; ROCCO, 1995).

Ao entrar no sistema respiratório, o ar encontra certas dificuldades para alcançar os alvéolos e assim ocorrer as trocas gasosas. A força necessária para se expandir o tecido pulmonar e o pequeno calibre das vias aéreas são dois exemplos de obstáculos enfrentados pelo ar inspirado.

A influência desses obstáculos pode ser estimada através da avaliação da mecânica respiratória, utilizando-se variáveis medidas junto ao sistema respiratório (tipicamente pressões, volumes e fluxos) e aplicando-se modelos matemáticos adequados.

A mecânica respiratória pode ser avaliada tanto na ventilação espontânea (ZIN; PENGELLY; MILIC-EMILI, 1982), como durante a ventilação mecânica (BATES, 1996).

A ventilação mecânica respiratória mais utilizada atualmente é por meio de pressão positiva (ou seja, há gradiente de pressão entre a entrada das vias aéreas e os alvéolos), forçando o ingresso de determinado volume de gás para dentro dos pulmões (CARVALHO; TOUFEN JUNIOR; FRANCA, 2007). Em alguns casos, é necessária a realização de uma traqueostomia ou a inserção de tubo endotraqueal para a ventilação mecânica. Contudo, vários problemas podem decorrer disso, dentre elas as infecções nas vias aéreas, o aumento exacerbado da temperatura do ar inserido (devido ao aparelho umidificador), ar excessivamente umidificado, alteração da geometria das vias aéreas superiores e variação do espaço morto anatômico (PILBEAM, 1998).

Grande parte dos problemas apresentados anteriormente é devido ao desvio do ar pelas vias aéreas superiores e que acabam entrando diretamente na traqueia, não passando pelo sistema de filtragem, umidificação, acondicionamento do ar e mecanismos de defesa naturais do corpo humano (PILBEAM, 1998).

Além dos problemas fisiológicos expostos, há também os problemas físicos que podem comprometer a ventilação mecânica. Jandre e colaboradores (2008) observaram que a não inclusão da resistência dos tubos endotraqueais nos cálculos dos parâmetros das vias aéreas pode enviesar a estimativa de recrutamento e hiperdistensão do sistema respiratório. Rocco e Zin (1995) perceberam que ocorre uma perda de volume durante a inspiração e aumento do trabalho respiratório

quando tubos traqueais são utilizados durante a ventilação, devido a seus pequenos calibres.

Os animais de experimentação são muito utilizados atualmente no estudo de doenças que comprometem a mecânica respiratória. Desta forma, este trabalho dará ênfase na avaliação da mecânica respiratória durante a ventilação mecânica em camundongos.

Propriedades Elásticas

Para compreender as propriedades elásticas de um pulmão, é preciso analisar as variações de pressão e volume envolvidas no movimento respiratório. O pulmão se encontra em pressão negativa (aproximadamente $-5 \text{ cmH}_2\text{O}$) dentro da caixa torácica. Para que não ocorra atrito entre os tecidos pulmonares (pleura visceral) e os tecidos torácicos (pleura parietal), o espaço intrapleural é preenchido com um líquido lubrificante. O constante transporte desse líquido pleural para os canais linfáticos deixa a pressão em seu interior negativa. Esta pressão negativa é importante para manter os pulmões insuflados após a expiração. Na ausência desta pressão, os pulmões simplesmente colabariam. Ao montar um gráfico de pressão pleural por volume pulmonar, percebe-se que a curva da inspiração é diferente da curva da expiração. Este fenômeno é denominado histerese (fig. 1) (GUYTON; HALL, 1997).

Figura 1 – A – Montagem experimental para obtenção da curva de volume por pressão. B – Gráfico de volume por pressão em pulmão excisado de gato. Observar histerese durante a insuflação e desinflação (adaptado de West, 2010).

O sistema respiratório possui propriedades elásticas. Estas propriedades têm origem nas forças elásticas dos tecidos do sistema respiratório e na força causada pela tensão superficial. As forças elásticas dos tecidos contribuem com um terço das forças elásticas totais e são causadas principalmente pela elastina e fibras colágenas. Isto ocorre devido à disposição entrelaçada destas fibras, que permitem ao pulmão e à caixa torácica a capacidade de retornarem a seu volume de repouso após o estiramento (GUYTON; HALL, 1997; WEST, 2010).

A tensão superficial gerada pelo líquido que reveste internamente os alvéolos contribui com os outros dois terços das forças elásticas. Esta tensão pode ser verificada em experimento onde se compara o comportamento de pulmões excisados insuflados com solução salina e insuflados com ar. A análise do gráfico volume por pressão (ou em jargão para estudos fisiológicos: “curvas PV”) de ambos permite concluir que pulmões com solução salina em seu interior apresentam uma maior facilidade de se expandir. Além disso, a histerese é acentuadamente menor nos pulmões com solução salina (fig. 2). Tais propriedades são devidas à ausência de tensão superficial no pulmão cheio de líquido (GUYTON; HALL, 1997; WEST, 2010).

Figura 2 – Curvas de volume por pressão de pulmões de gato com insuflação e desinflação de solução salina e de ar (modificado de WEST, 2010).

Fisiologicamente, para diminuir a alta tensão superficial causada pelo filme de água que reveste internamente os alvéolos, é produzido pelos pneumócitos tipo II um material denominado surfactante pulmonar, uma mistura lipídica e proteica que reduz tal tensão (GUYTON; HALL, 1997; WEST, 2010).

Não só os pulmões possuem propriedades elásticas, mas também a parede torácica. Em uma expiração em repouso, a tendência do pulmão se contrair é equilibrada pela tendência da caixa torácica se expandir. No entanto, a altos volumes pulmonares, tanto o pulmão como a caixa torácica tendem a retrair. Já a volumes abaixo da capacidade residual funcional (CRF), ambos tendem a se expandir (RAFF; LEVITZKY, 2011).

Calibre das Vias Aéreas e Atrito dos Tecidos

A mecânica pulmonar é também influenciada pelo diâmetro das vias aéreas condutoras e pelo atrito causado pelo estiramento dos tecidos do sistema respiratório (WEST, 2010).

O calibre das vias aéreas diminui à medida que se adentra no pulmão. Os condutos aéreos possuem uma estrutura geométrica complexa com diversas ramificações, formando a árvore traqueobrônquica. A passagem do fluxo de ar é proporcional ao diâmetro e ao comprimento dos condutos. O maior impedimento ao fluxo de ar se encontra nos brônquios de tamanho médio, diminuindo ao chegar aos bronquíolos pequenos (WEST, 2010).

O calibre das vias aéreas também é influenciado pelo volume pulmonar. Altos volumes pulmonares aumentam o diâmetro das vias aéreas, causado pela tração do tecido ao redor. O inverso também é verdadeiro, ou seja, com a queda do volume pulmonar, ocorre diminuição de seus diâmetros. As vias aéreas possuem musculatura lisa, e a contração desta musculatura lisa, controlada pelo sistema nervoso autônomo, causa a constrição dos condutos e, conseqüentemente, dificultando a passagem dos gases (WEST, 2010).

Quando o sistema respiratório se movimenta ocorre fricção entre as pleuras e os componentes internos dos tecidos, como células e fibras. Este atrito intra e entre tecidos resulta na liberação de calor. Tal fenômeno é mais intenso com a administração de drogas broncoconstritoras que causam o estreitamento do tecido parenquimático. Contudo, de acordo com Bates (2009), os processos físicos envolvidos na dissipação de energia ainda não são bem compreendidos, pois os tecidos são estruturas complexas que possuem diversos materiais, como fibras, células e fluidos.

Em seguida, será apresentado que as propriedades da mecânica respiratória vistas até o momento são alteradas em algumas doenças. A compreensão destas propriedades é, portanto, importante para o diagnóstico e tratamento das patologias que alteram a mecânica respiratória.

Patofisiologia Pulmonar

Pulmões saudáveis devem ser capazes de se expandir e contrair com certa facilidade. Em algumas doenças, porém, a mecânica do sistema respiratório é alterada. As enfermidades que afetam a mecânica respiratória podem ser classificadas, basicamente, em restritivas e obstrutivas (BATES, 2009).

As doenças restritivas são representadas por aquelas que reduzem a capacidade do pulmão em armazenar ar. Isto pode ser causado tanto por aumento na tensão superficial devido à diminuição de surfactante pulmonar, ou pela formação de tecido cicatricial ao redor dos pulmões (por exemplo, fibrose pulmonar) (BATES, 2009).

As doenças obstrutivas compreendem aquelas que têm como característica a diminuição do fluxo máximo durante a expiração. Essa característica ocorre quando há diminuição dos calibres das vias aéreas, ou quando a estrutura do tecido pulmonar é severamente afetada (por exemplo, enfisema pulmonar e asma) (BATES, 2009).

Nos casos mais graves, onde o paciente é incapaz de respirar por si só ou durante uma cirurgia que necessite anestesia geral, utiliza-se a ventilação mecânica (VM).

2.2 VENTILAÇÃO MECÂNICA

A ventilação mecânica (VM), também denominada suporte ventilatório, é obtida por meio de aparelhos que introduzem determinados volumes de ar dentro dos pulmões por meio de gradientes de pressão entre as vias aéreas proximais e os alvéolos. Estes aparelhos, os ventiladores mecânicos, podem ter várias de suas propriedades controladas pelo operador (modo controlado) e, em alguns casos, até pelo próprio paciente (modo assistido). A VM é uma forma de apoio a indivíduos com insuficiência respiratória aguda ou crônica agudizada. Dentre seus objetivos, está a correção da hipoxemia e hipercapnia, auxílio aos músculos respiratórios, atenuação do gasto de oxigênio e no uso de terapias respiratórias (CARVALHO; TOUFEN JUNIOR; FRANCA, 2007).

Segundo Pilbeam (1998), os ventiladores mecânicos podem ser divididos em três categorias.

A primeira categoria consiste nos ventiladores por pressão negativa. Para isso, pressão negativa é aplicada ao redor do tronco, fazendo com que a pressão alveolar se torne menor que a pressão atmosférica, causando a entrada de ar para

os pulmões. Este tipo de ventilação foi mais utilizado em meados do século XIX até início do século XX. Como exemplos, têm-se os “*pulmões de aço*” e a “*couraça de tórax*”.

Outra categoria é a ventilação por pressão positiva. Neste caso, ar é injetado ativamente nas vias aéreas proximais. Ao final da expiração, a pressão na entrada das vias aéreas (P_{ao}) e a pressão alveolar (P_A) são iguais à pressão atmosférica (adotada como zero). Aumentando-se a P_{ao} , o ar se dirige aos alvéolos, devido ao gradiente de pressão. Ao final da injeção de ar, a P_{ao} se torna zero e a P_A positiva. Esta diferença de pressão entre o alvéolo e a entrada das vias aéreas causa a saída passiva de ar.

Por último, existe a ventilação de alta frequência com pressão positiva. Esta categoria, como diz o nome, baseia-se no uso de altas taxas ventilatórias, ou seja, acima do normal, que podem variar 60 a 4000 respirações por minuto.

Deste ponto em diante, devido à sua importância clínica atualmente, somente serão abordadas as formas de VM por pressão positiva e com frequências próximas à fisiológica.

O suporte ventilatório em pacientes pode ser classificado em ventilação mecânica invasiva e ventilação mecânica não invasiva. A forma invasiva supre o ar para os pulmões por meio de injeção do gás através de um tubo inserido na traqueia, enquanto a forma não invasiva fornece ar por uma máscara posicionada no rosto do paciente (CARVALHO; TOUFEN JUNIOR; FRANCA, 2007).

Os ventiladores mecânicos não apenas fornecem volumes de gás aos pulmões, mas igualmente são capazes de controlar a concentração de O_2 inspirada, variando de 21 a 100%, conhecida como *fração inspirada de O_2* ou, simplesmente, FIO_2 . Caso seja necessário, alguns ventiladores são capazes de veicular medicamento durante a fase inspiratória por meio de nebulizadores (SALOMÃO NETO, 1995).

A VM é utilizada nos casos em que o indivíduo é incapaz de sustentar níveis apropriados de O_2 e CO_2 no sangue, devido a alguma insuficiência respiratória. É indicada principalmente nas seguintes ocorrências: reanimação em casos de parada cardiorrespiratória; insuficiência respiratória e hipoxemia; distúrbios na mecânica respiratória, como causadas por fraqueza muscular ou comando respiratório

instável; na prevenção em alguns pós-operatórios e para a diminuição do esforço respiratório e da fadiga muscular (CARVALHO; TOUFEN JUNIOR; FRANCA, 2007).

As quatro principais variáveis na VM são: a pressão (P), o volume (V), o fluxo ($\dot{V}$) e o tempo (t). Os gráficos mais comuns em VM são as variações de pressão, volume e fluxo por tempo. Funções pulmonares podem também ser analisadas por meio dos gráficos de fluxo por volume e volume por pressão (WAUGH; DESHPANDE; HARWOOD, 1999).

A pressão positiva utilizada pelos ventiladores mecânicos pode ser obtida através de compressores de ar internos ou externos ao equipamento. Estes compressores podem trabalhar com palhetas rotativas, pistões rotativos ou motores lineares. Uma válvula redutora de pressão é empregada para diminuir a alta pressão de entrada, caso necessário, e liberar o gás a uma pressão constante. Após passar por esta válvula, o gás pode seguir diretamente para o paciente ou passar por um sistema de equalização de pressão (TAMUL; SCOPE; CRAIG, 2006).

Os ventiladores mecânicos para pequenos animais utilizados em pesquisa científica, como o *Harvard* modelo 683 (Harvard Apparatus, EUA) e o *flexiVent* (SCIREQ, Canadá), geram pressão positiva através de um pistão comandado por motor linear.

Existem vários tipos de ventilação que podem ser ajustados nos ventiladores mais modernos. Tais tipos são comumente denominados de modos ventilatórios e podem apresentar variações ou combinações entre si, dependendo do objetivo clínico ou terapêutico. Além disso, a ventilação pode ser ajustada para manter o volume ou a pressão controlada. Quando o volume é controlado, o operador determina qual será o volume entregue durante a inspiração, enquanto que na pressão controlada, determina-se a pressão que será mantida constante durante a fase inspiratória (PILBEAM, 1998).

Alguns dos modos ventilatórios utilizados são a *Ventilação Mandatória Controlada (ou Contínua)*, a *Ventilação Mandatória Assistido Controlada*, a *Ventilação Mandatória Assistida* e a *Ventilação Mandatória Intermitente*, sendo que todos podem ser controlados a pressão ou a volume (CARVALHO; TOUFEN JUNIOR; FRANCA, 2007; PILBEAM, 1998).

A *Ventilação Mandatória Controlada* (CMV) é totalmente comandada pelo ventilador, ou seja, o paciente não tem controle sobre o funcionamento do aparelho.

O disparo ocorre a uma frequência determinada pelo próprio operador (PILBEAM, 1998). Como exemplo, o ventilador pode disparar a inspiração a cada 2 segundos (ou frequência de 30 respirações/minuto).

A ideia principal da *Ventilação Mandatória Assistida Controlada* é deixar que o próprio paciente conduza a respiração, mas o ventilador assume o comando quando o tempo entre cada respiração chega a um limiar máximo, ou quando o esforço do paciente não é suficientemente capaz de causar o disparo do aparelho. Além disso, o ventilador auxilia no controle da pressão ou do volume pré-determinados pelo operador (PILBEAM, 1998).

Na *Ventilação Mandatória Assistida* (AMV) todas as respirações são desencadeadas pelo paciente (espontâneas). Contudo, o ventilador auxilia no controle da pressão ou do volume pré-determinados pelo operador (PILBEAM, 1998).

A *Ventilação Mandatória Intermitente* (IMV), por sua vez, consiste em combinações de respiração disparadas pelo ventilador e pelo paciente. Assim, o paciente pode respirar espontaneamente entre duas ventilações mecânicas. Atualmente, utiliza-se com mais frequência uma variação desta modalidade, denominada *Ventilação Mandatória Intermitente Sincronizada* (SIMV). A diferença desta com aquela é que o ventilador auxilia no controle da pressão ou do volume entre as ventilações mecânicas (PILBEAM, 1998).

As mudanças realizadas nos ajustes do ventilador mecânico podem promover alterações previsíveis nos sinais de pressão e volume/fluxo. Da mesma forma, as propriedades mecânicas dos pulmões podem ser distinguidas através dos padrões dos sinais adquiridos. Os distintos modos ventilatórios podem apresentar diferentes formas de ondas para fluxo, volume e pressão por tempo. Dentre as formas de onda para o fluxo estão a quadrada, as rampas ascendente e descendente, a senoidal e a senoidal deslocada. Observa-se na fig. 3, um exemplo de uma onda de fluxo quadrada, muito utilizada na prática clínica (SALOMÃO NETO, 1995; WAUGH; DESHPANDE; HARWOOD, 1999).

Figura 3 – Exemplo de ciclo ventilatório com onda de fluxo quadrada. A – Início da inspiração; B – Inspiração; C – Fim da inspiração; D – Início da expiração; E – Expiração e F – Fim da expiração (modificado de Waugh, Deshpande e Harwood, 1999).

O ciclo ventilatório na VM é compreendido pelas seguintes etapas: a) início da inspiração, b) inspiração, c) fim da inspiração, d) início da expiração, e) expiração e f) fim da expiração (fig. 3).

O início da inspiração ocorre logo após o término da expiração do ciclo anterior e é marcado pela abertura da válvula inspiratória. No modo controlado, o ventilador inicia o ciclo em um instante de tempo pré-determinado. Já no modo assistido ou na *Ventilação Mandatória Intermitente Sincronizada* (SIMV), a VM é iniciada pelo esforço do próprio paciente. Durante a *inspiração*, a válvula inspiratória é aberta e o pulmão insuflado. Neste caso, o fluxo, o volume e a pressão dependem de vários fatores, tais como as propriedades mecânicas pulmonares e o volume corrente. O fim da inspiração está sujeito ao mecanismo de ciclagem determinado no aparelho ou, em alguns casos, ao próprio paciente (CARVALHO; TOUFEN JUNIOR; FRANCA, 2007; WAUGH; DESHPANDE; HARWOOD, 1999;).

A expiração se inicia quando uma válvula de escape é aberta e termina quando se inicia uma nova inspiração. A expiração ocorre de forma passiva e suas características estão sujeitas às propriedades elásticas do paciente e dos diâmetros das vias aéreas e dos tubos e conexões do próprio ventilador (CARVALHO; TOUFEN JUNIOR; FRANCA, 2007; WAUGH; DESHPANDE; HARWOOD, 1999).

O início da inspiração pelo ventilador é também conhecido como mecanismo de disparo ou *triggering*. O disparo no modo controlado é ativado por intervalos regulares de tempo pré-determinados, independentemente do esforço que o paciente possa ocasionar. Porém, nas modalidades assistidas e espontâneas, é ativada por um limiar de sensibilidade de fluxo ou pressão. Neste último, o disparo ocorre quando o paciente faz esforço para inspirar, causando uma queda na pressão. Caso tal queda seja o suficiente para vencer o limiar de sensibilidade de pressão, o disparo é realizado (CARVALHO; TOUFEN JUNIOR; FRANCA, 2007).

Os dados de pressão do sistema respiratório são obtidos por meio de transdutores de pressão. Algumas medidas que podem ser úteis na análise dos dados de pressão são a pressão de pico inspiratório (PIP), que revela a máxima pressão durante a inspiração, e a pressão estática ou pressão de platô ($P_{platô}$), que representa a pressão alcançada com uma pausa na respiração após o final da inspiração (CARVALHO; TOUFEN JUNIOR; FRANCA, 2007; PILBEAM, 1998). Uma característica observada nos sinais de pressão é que a deflexão negativa no início do ciclo respiratório pode significar que o próprio paciente esteja realizando o esforço inspiratório (WAUGH; DESHPANDE; HARWOOD, 1999).

Normalmente, o traçado de pressão inicia e termina o ciclo ventilatório à pressão zero (relativa à pressão atmosférica). Entretanto, em alguns casos, pode-se ajustar o ventilador a uma pressão positiva ao final da expiração ou PEEP (do inglês, "*positive end-expiratory pressure*"). Quando ajustado neste modo, o gráfico de pressão por tempo não irá mais ter a linha base como pressão zero, mas o valor da própria PEEP determinada pelo operador (CARVALHO; TOUFEN JUNIOR; FRANCA, 2007; PILBEAM, 1998). Segundo Gaspar e Silva (1995), a PEEP foi inicialmente utilizada na década de 80 para o tratamento da síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), em pacientes ventilados mecanicamente ou não. Além disso, a PEEP pode ser associada aos modos ventilatórios, como exemplo, associada à IMV.

Com o objetivo de quantificar as propriedades mecânicas dos pulmões, foram aplicados modelos matemáticos baseados nos dados de pressão, fluxo e volume obtidos em ventilação mecânica. O tópico seguinte tem por objetivo apresentar alguns modelos matemáticos e como estes são aplicados em dados experimentais.

2.3 MODELOS MATEMÁTICOS LINEARES

A avaliação da mecânica respiratória é realizada analisando-se basicamente pressões, volumes e fluxos. Contudo, para poder explicar as transformações que ocorrem nestas variáveis, seria necessária uma observação direta dos tecidos pulmonares, o que nem sempre é possível. Portanto, muitas avaliações do sistema respiratório são, na verdade, inferências do que pode estar ocorrendo em seu interior (BATES, 2009).

Com base em tais inferências, modelos teóricos são desenvolvidos para se analisar as variáveis de pressão, volume e fluxo envolvidas na mecânica respiratória. O estudo dos modelos teóricos parte da simplificação do objeto em estudo, sendo que, à medida que forem necessários, são acrescentados novos componentes para que o modelo se aproxime da realidade. Como exemplo, as vias aéreas são, num primeiro momento, abordadas como um único tubo rígido em que passa um gás incompressível (BATES, 2009).

O sistema fisiológico é altamente complexo e compreendido por uma hierarquia, que compreende desde os níveis moleculares até órgãos e organismo. Os modelos têm como objetivo obter, de forma indireta, valores de eventos biológicos que nem sempre podem ser experimentados diretamente em seres vivos. O termo “modelo” constitui uma representação, mesmo que limitada, da realidade. Este pode ser usado para descrever, interpretar, prever, testar hipóteses e realizar simulações e melhorias no projeto experimental (BATES, 2009; COBELLI; CARSON, 2001).

Os modelos matemáticos podem apresentar duas abordagens principais. A primeira baseia-se em dados experimentais, também denominados modelos de caixa preta, orientado a dados ou modelagem inversa. A segunda abordagem é a modelagem do sistema ou modelagem direta, que procura representar a fisiologia subjacente (BATES, 2009; COBELLI; CARSON, 2001).

A modelagem inversa baseia-se em sinais de entrada e saída do sistema e é utilizada em casos de carência do conhecimento total da fisiologia e para oferecer uma representação da dinâmica do sistema (COBELLI; CARSON, 2001). Os parâmetros descobertos com as equações matemáticas deste modelo tentam representar as propriedades do sistema real. A estruturação da modelagem inversa

se fundamenta na própria forma do sistema. Como visto anteriormente, esta estrutura parte de um modelo mais simples, seguindo para o mais complexo. No caso do modelo linear de compartimento único, o próximo passo seria estudar as consequências de um segundo compartimento, e assim por diante (BATES, 2009).

A modelagem direta é, na verdade, uma simulação do sistema estudado. Assim, representações do sistema real são elaboradas computacionalmente com o intuito de se verificar os dados de saída, de acordo com dados de entrada no próprio modelo desenvolvido. Com esta modelagem, é possível realizar simulações de testes que seriam inviáveis de se realizar experimentalmente (BATES, 2009; COBELLI; CARSON, 2001).

Em seguida, será dada uma introdução ao modelo linear de compartimento único. Todos os sistemas fisiológicos apresentam, na maioria das vezes, comportamento não linear em seus parâmetros. Contudo, em alguns casos, pode-se aproximar um sistema de parâmetros não lineares por lineares quando determinadas condições (por exemplo, baixas perturbações) são respeitadas. Em tais casos, é necessário levar em consideração a compatibilidade do modelo com a fisiologia em questão (COBELLI; CARSON, 2001).

2.3.1 Modelo Linear de Compartimento Único

O sistema respiratório como um todo possui uma miríade de componentes, tornando complexo o seu estudo. Desta forma, o primeiro passo para a modelagem matemática na mecânica respiratória é representar a realidade de maneira simples, mas precisa, do comportamento mecânico. O importante é que tal modelo seja suficiente para abordar o estudo em análise (BATES, 2009).

O modelo de tubo e balão é, intuitivamente, o modelo mais simples possível para se representar a anatomia/fisiologia do sistema respiratório (fig. 4). O tubo representa as vias aéreas, enquanto o balão representa o tecido elástico (BATES, 2009).

Figura 4 – Modelo simplificado do sistema respiratório por meio de tubo e balão.

Os parâmetros encontrados neste modelo são a *elastância* (E) do balão e a *resistência* (R) que o fluido sofre ao passar pelo tubo. Supõe-se, também, que as propriedades do sistema sejam independentes do volume (V) e fluxo ($\dot{V}$), e que as forças inerciais sejam desprezíveis para frequências abaixo de 2 Hz (BATES, 2009; ZIN, 1999).

Apesar da fig. 4 conceber o par anatomia/fisiologia do sistema respiratório de forma simples e clara, a conformação da fig. 5 é a mais utilizada nos estudos de modelos matemáticos. Nesta analogia mecânica, podem-se acrescentar novos elementos representativos, como a mola, que simboliza a elasticidade, e os cilindros sobrepostos, que retratam as variações do volume pulmonar (BATES, 2009).

Figura 5 – Representação mecânica simplificada do modelo linear de compartimento único. Nesta configuração, podem-se acrescentar novos elementos representativos, exemplificado pela mola e os cilindros sobrepostos (BATES, 2009).

O modelo linear de compartimento único é também muito conhecido, porém erroneamente, como *equação do movimento*. Este termo é considerado incorreto, pois nenhum modelo é capaz de representar de forma fiel a realidade, por mais preciso que seja (BATES, 2009; MORIYA, 2003). O modelo unicompartimental consiste numa equação diferencial de primeira ordem (eq.(1)).

$$P(t) = E \cdot V(t) + R \cdot \dot{V}(t) \quad (1)$$

Os parâmetros E e R simbolizam, respectivamente, as propriedades elásticas e resistivas do sistema respiratório, também determinadas propriedades constitutivas (BATES, 2009).

Admitindo-se que a mola da fig. 5 tenha as características de uma mola de *Hook*, a tensão aumenta linearmente com o comprimento. Assim, tem-se que

$$P_{el}(t) = E \cdot V(t) \quad (2)$$

sendo que P_{el} representa a pressão de recolhimento elástico do balão. Neste caso, o volume é considerado zero após uma expiração normal passiva, ou seja, na *capacidade residual funcional* (CRF). Desta forma, a elastância denota a dificuldade para insuflar o pulmão, ou seja, quanto maior o E , mais difícil será para inflá-lo. Outro parâmetro muito utilizado em estudos clínicos é a *complacência* (C), que nada mais é do que o inverso da elastância (eq.(3)). Na prática, a complacência é proporcional à facilidade para se insuflar o pulmão (BATES, 2009).

$$C = \frac{1}{E} \quad (3)$$

A diferença entre a *pressão de entrada das vias aéreas* (P_{ao}) e a *pressão alveolar* (P_A) indica a queda de pressão do ar ao passar pelos condutos aéreos e é igual à resistência (R) vezes o fluxo de ar ($\dot{V}$) (eq.(4)).

$$\Delta P(t) = R \cdot \dot{V}(t) \quad (4)$$

O modelo linear de compartimento único, então, pode ser relacionado como a soma das pressões de recolhimento elástico e a diferença de pressão no tubo (eq.(5)) (BATES, 2009).

$$P = P_{el} + \Delta P \quad (5)$$

Contudo, a pressão P não é zero na CRF e quando não há fluxo de ar. Isto se dá por causa da pressão pleural, que é levemente negativa para impedir o colapamento dos pulmões. Desta forma, acrescenta-se o parâmetro P_0 à eq.(1):

$$P(t) = E \cdot V(t) + R \cdot \dot{V}(t) + P_0 \quad (6)$$

Com a equação do modelo de compartimento único em mãos mais os dados mensurados durante a ventilação mecânica (variações de P , V e $\dot{V}$), os parâmetros podem ser calculados por meio do ajuste dos dados com a técnica de regressão

múltipla linear. A ideia principal desta técnica é descobrir qual o melhor conjunto de parâmetros que se encaixa no modelo utilizado. Para que isso aconteça, a soma dos resíduos quadrados (SSR) deve ser mínima, ou seja, deseja-se obter o valor de mínimos quadrados, como observado em:

$$SSR = \sum_{i=1}^N [P_i - \hat{P}_i]^2 = \sum_{i=1}^N [P_i - E \cdot V_i - R \cdot \dot{V}_i - P_0]^2 \quad (7)$$

sendo que P_i representa a pressão medida experimentalmente, $\hat{P}_i$ a pressão prevista pelo modelo e P_0 a pressão quando V e $\dot{V}$ valem zero. O próximo passo é derivar parcialmente a SSR em relação a cada um dos parâmetros (E , R e P_0), enquanto os outros dois são mantidos fixos. Depois, o resultado é igualado a zero (equações (8), (9) e (10)) (BATES, 2009).

$$\frac{\partial SSR}{\partial E} = -2 \cdot \sum_{i=1}^N V_i \cdot [P_i - E \cdot V_i - R \cdot \dot{V}_i - P_0] = 0 \quad (8)$$

$$\frac{\partial SSR}{\partial R} = -2 \cdot \sum_{i=1}^N \dot{V}_i \cdot [P_i - E \cdot V_i - R \cdot \dot{V}_i - P_0] = 0 \quad (9)$$

$$\frac{\partial SSR}{\partial P_0} = -2 \cdot \sum_{i=1}^N [P_i - E \cdot V_i - R \cdot \dot{V}_i - P_0] = 0 \quad (10)$$

Reescrevendo as equações anteriores, obtém-se:

$$\sum_{i=1}^N V_i \cdot P_i = E \cdot \sum_{i=1}^N V_i^2 + R \cdot \sum_{i=1}^N V_i \cdot \dot{V}_i + P_0 \cdot \sum_{i=1}^N V_i \quad (11)$$

$$\sum_{i=1}^N \dot{V}_i \cdot P_i = E \cdot \sum_{i=1}^N V_i \cdot \dot{V}_i + R \cdot \sum_{i=1}^N \dot{V}_i^2 + P_0 \cdot \sum_{i=1}^N \dot{V}_i \quad (12)$$

$$\sum_{i=1}^N P_i = E \cdot \sum_{i=1}^N V_i + R \cdot \sum_{i=1}^N \dot{V}_i + P_0 \quad (13)$$

Em seguida, os parâmetros podem ser encontrados por meio deste sistema de equações (equações (11), (12) e (13)) (BATES, 2009).

Segundo Zin (1999), além da regressão múltipla linear, outros métodos são descritos na literatura. Um desses métodos, por exemplo, obtém os parâmetros R e E por meio de expiração relaxada em animais anestesiados (ZIN; PENGELLY; MILIC-EMILI, 1982).

Deve-se levar em consideração que o modelo linear de compartimento único é um modelo idealizado e não aborda uma série de fatores que acontecem na realidade. Como exemplo, podem-se citar a variação de temperatura e umidificação do ar inspirado e as trocas gasosas de oxigênio e gás carbônico, que causam uma leve variação no volume (BATES, 2009). Além disso, o modelo não consegue descrever o leve decaimento de pressão após oclusão de ar no final da inspiração, da dependência da frequência dos parâmetros e da histerese, como descrita no tópico 2.1 (ZIN, 1999).

2.3.2 Modelo de Fase Constante

O modelo linear de compartimento único é aplicado no domínio do tempo. Contudo, a modelagem do sistema respiratório pode também ser realizada no domínio da frequência. O estudo das propriedades mecânicas do sistema respiratório no domínio da frequência investiga a função complexa que reúne propriedades conservativas e dissipativas do sistema, denominada impedância mecânica (Z) (MORIYA, 2003).

A impedância de um sistema aborda as forças do sistema analisado que se opõem ao movimento. No caso do sistema respiratório, a impedância tem origem, principalmente, nas forças resistivas, elásticas e inertivas que se opõem aos movimentos inspiratório e expiratório (CARVALHO; ZIN, 2011).

A impedância mecânica do sistema respiratório é normalmente obtida pela técnica de oscilações forçadas (FOT). Esta técnica compreende o emprego de variações de pressão ou fluxo a frequências determinadas ao sistema respiratório e posterior investigação do conteúdo espectral do fluxo ou pressão resultantes (PESLIN, 1999). A avaliação do conteúdo espectral é obtida pela impedância mecânica, que compreende em uma função complexa envolvendo as transformadas de Fourier da pressão e do fluxo, como verificado em:

$$Z(f) = \frac{P(f)}{\dot{V}(f)} \quad (14)$$

onde $P(f)$ e $\dot{V}(f)$ são, respectivamente, a pressão e o fluxo no domínio da frequência.

Para que a FOT gere resultados adequados, é necessário que o sistema respiratório apresente comportamento linear. Com base nisso, uma condição é que os sinais de entrada sejam de baixa amplitude (NUCCI; COBELLI, 2001).

Existem várias formas de se obter os dados para a impedância mecânica. Dentre elas, encontra-se a impedância de entrada (Z_{in}), a impedância de transferência (Z_{tr}), a impedância pulmonar regional e a impedância de saída (BATES, 2005).

A Z_{in} pode ser calculada pelo ventilador de pequenos animais *flexiVent* (SCIREQ, Canadá). Neste ventilador, a Z_{in} é obtida quando o fluxo é aplicado na abertura das vias aéreas e a pressão resultante é medida neste mesmo local (MORIYA, 2003). Dependendo do valor das frequências utilizadas, diferentes informações podem ser obtidas pelo cálculo da impedância. A frequências abaixo de 2 Hz, grande parte da impedância é causada pelas propriedades reológicas dos tecidos (BATES, 2005). Por outro lado, frequências altas (acima de 100 Hz) retratam a mecânica das vias aéreas e da caixa torácica (NUCCI; COBELLI, 2001).

Uma forma de se calcular a impedância mecânica é adaptando-se a equação dos modelos compartimentais (dentre eles o modelo linear de compartimento único) ao domínio da frequência. Deste modo, a parte real da função complexa se relaciona à resistência e a parte imaginária à reatância. O modelo unicompartmental adaptado

ao domínio da frequência é capaz de apresentar a dependência da resistência e da elastância em relação à frequência (MORIYA, 2003).

Contudo, Bates (2009, p. 169) pondera que os modelos compartimentais, que apresentam os parâmetros separados em grupos, representam apenas, segundo suas próprias palavras, “uma visão bastante artificial de como o mundo realmente funciona”. Para justificar sua afirmativa, expõe que os dados reais e imaginários da impedância mantêm uma relação quase constante em um grande intervalo de frequências, como observado no cálculo da *histeresividade* (η) (eq.(15)).

$$\eta = \frac{\omega \cdot R_t}{E_L} \quad (15)$$

A constância da *histeresividade* em diferentes frequências evidencia que a resistência do tecido pulmonar (R_t) e a elastância do pulmão (E_L) são dependentes uma da outra, ou seja, as estruturas que armazenam a energia elástica estão intimamente ligadas às estruturas que dissipam esta mesma forma de energia (BATES, 2009; CARVALHO; ZIN, 2011).

Com base nessas informações, Hantos e colaboradores no ano de 1987 (MORIYA, 2003) desenvolveram um modelo que apresenta uma razão entre as propriedades elásticas e dissipativas, e esta relação é independente da frequência. Este modelo, denominado de modelo de fase constante, é muito utilizado no ajuste dos dados da Z_{in} para baixas frequências por ser considerado superior aos modelos compartimentais (NUCCI; COBELLI, 2001).

A equação do modelo de fase constante separa os componentes da impedância originada pelas vias aéreas (Z_{aw}) e da impedância originada pelos tecidos (Z_{ti}). Assim,

$$Z_{rs} = Z_{aw} + Z_{ti} \quad (16)$$

sendo que Z_{rs} é a impedância do sistema respiratório. A impedância das vias aéreas é apresentada na seguinte equação:

$$Z_{aw} = R_N + j \cdot 2 \cdot \pi \cdot f \cdot I_{aw} \quad (17)$$

R_N , ou resistência Newtoniana, simboliza a resistência das vias aéreas, I_{aw} a inertância das vias aéreas, j a unidade imaginária e f a frequência em Hz.

Já a Z_{ti} consiste na seguinte configuração:

$$Z_{ti} = \frac{G - j \cdot H}{(2 \cdot \pi \cdot f)^\alpha} \quad (18)$$

neste caso, G representa o componente dissipativo da impedância dos tecidos, também chamado de “viscância” do tecido, e o parâmetro H aborda o armazenamento elástico dentro dos tecidos.

Enfim, substituindo-se as equações (17) e (18) na eq.(16), tem-se que:

$$Z_{rs}(f) = R_N + j \cdot 2 \cdot \pi \cdot f \cdot I_{aw} + \frac{G - j \cdot H}{(2 \cdot \pi \cdot f)^\alpha} \quad (19)$$

onde

$$\alpha = \frac{2}{\pi} \arctan \frac{H}{G} \quad (20)$$

Analisando-se os parâmetros relacionados aos tecidos, percebe-se que há uma relação entre G e a resistência dos tecidos (R_t), devido à dissipação de energia, e o parâmetro H possui uma relação com a elastância pulmonar (E_L), devido ao armazenamento de energia elástica. Apesar da aparente relação entre G e R_t , ambos não possuem as mesmas dimensões, sendo que o mesmo ocorre para os parâmetros H e E_L (BATES, 2009).

A *histeresividade* (η) pode ser recalculada à luz dos parâmetros descobertos no modelo de fase constante, ficando então da seguinte forma:

$$\eta = \frac{G}{H} \quad (21)$$

ou seja, a razão entre o componente dissipativo e o componente que armazena energia por ciclo (CARVALHO; ZIN, 2011).

O fato do modelo de fase constante apresentar componentes relacionados à impedância das vias aéreas e à impedância dos tecidos constitui uma vantagem em relação aos outros modelos. Assim, como exemplo, pode-se relacionar o aumento da impedância das vias aéreas com o uso de broncoconstritores. Por outro lado, o aumento dos parâmetros G e H pode ser esperado no caso de fechamento dos alvéolos ou no colapso alveolar (CARVALHO; ZIN, 2011).

O ajuste dos parâmetros do modelo de fase constante pode ser realizado com regressão múltipla linear, da mesma forma como evidenciado nas equações (7) a (13) para o modelo linear de compartimento único. Contudo, a regressão linear não pode ser feita de modo direto neste caso, devido ao fato do valor α estar elevado à potência no último termo da eq.(19). Assim, primeiramente, é necessário encontrar uma boa estimativa de α que ajuste os dados do modelo de fase constante aos dados experimentais.

Para encontrar um valor de α adequado, Bates (2009) apresenta uma forma iterativa onde o primeiro passo consiste em se calcular a regressão múltipla linear com o valor de α igual à unidade. Em seguida, os valores dos parâmetros G e H obtidos são substituídos na eq.(20) e, então, realiza-se novamente a regressão múltipla linear, só que agora com o novo valor de α encontrado. Estas etapas podem ser repetidas quantas vezes forem necessárias. Segundo o autor, há uma convergência para os valores dos parâmetros obtidos logo após quatro ou cinco iterações.

Além desta, outras técnicas para o ajuste dos parâmetros do modelo de fase constante podem ser utilizadas¹.

¹ HANTOS, Z.; CSENDES, T.; DAROCZY, B. Identification of models of respiratory mechanics by a global optimization technique. Bulletin Européen de Physiopathologie Respiratoire-Clinical Respiratory Physiology, v. 22, p. S108-S108, 1986.

2.4 NÃO LINEARIDADE

A respiração a volume corrente em um indivíduo saudável pode ser bem descrita pelo modelo linear unicompartimental. Tal modelo admite que a elastância e a resistência do sistema respiratório se comportem aproximadamente de forma linear e que, variando o fluxo ou volume (variáveis independentes), a pressão (variável dependente) irá variar de forma diretamente proporcional se os parâmetros forem mantidos constantes (BATES, 2009). Porém, os modelos lineares nem sempre resultam em dados satisfatórios. Como exemplos, têm-se os casos onde há ventilação de grandes volumes pulmonares, frequências respiratórias além da normal ou mesmo em doenças, como as que causam a rigidez do tecido pulmonar, que interferem no ajuste dos dados (BATES, 2005, 2009).

Se o ajuste com o modelo linear é insuficiente, provavelmente a relação pressão-volume/fluxo não é mais diretamente proporcional, e desta forma o ajuste dos dados pode ser mais bem acomodado, por exemplo, com uma função curvilínea no domínio do tempo (BATES, 2005).

Atualmente não existem modelos não lineares consagrados aplicáveis no domínio da frequência. Por isto, essa dissertação é baseada apenas em modelos não lineares no domínio do tempo.

2.4.1 Não Linearidade das Vias Aéreas

Na analogia mecânica do sistema respiratório por tubo e balão (fig. 4), as vias aéreas são representadas por um tubo, que apresenta certa resistência à passagem do fluxo de gás devido ao gradiente de pressão entre as duas extremidades. Para intensidades de fluxo relativamente baixas, o fluido dentro do tubo apresenta uma distribuição de velocidades na forma de uma paraboloide com velocidade nula nas paredes do tubo. Este fluxo, organizado em linhas paralelas, é denominado fluxo laminar e pode ser representado linearmente pela eq.(4) (WEST, 2010).

Com o aumento da velocidade do fluxo, porém, o movimento do gás passa a não seguir mais linhas paralelas ao tubo, surgindo então turbulências que se

intensificam nas regiões de ramificação dos condutos aéreos. Os casos intermediários entre o fluxo laminar e o turbulento são denominados de fluxo transicional (WEST, 2010).

O sistema respiratório como um todo, entretanto, possui uma geometria complexa e a reprodução por um mero tubo consiste em uma demasiada simplificação deste sistema. Logo, é pouco provável que o processo mecânico respiratório se comporte de forma linear em toda sua extensão. Devido à sua forma ramificada, com uma miríade de subdivisões de diferentes diâmetros, diversos padrões de fluxo podem ser encontrados. Acredita-se que ocorra fluxo transicional na maior parte da árvore brônquica, verificando-se fluxo turbulento nas vias aéreas mais calibrosas (principalmente na traqueia e vias aéreas centrais, durante o exercício físico quando os fluxos são maiores e quando o ar passa pelo caminho tortuoso da laringe) e fluxo laminar nas vias aéreas de menor calibre (BATES, 2009; WEST, 2010).

Fritz Rohrer, no ano de 1915, em estudo sobre a resistência ao fluxo das vias aéreas em seres humanos, apresentou uma equação em que a perda de pressão nas vias aéreas é representada como uma função quadrática do fluxo (MORIYA, 2003). Tal equação é conhecida como *equação de Rohrer* (BATES, 2009), apresentada abaixo:

$$P_{ao} = K_1 \cdot \dot{V}(t) + K_2 \cdot \dot{V}(t) |\dot{V}(t)| \quad (22)$$

onde K_1 e K_2 são constantes que podem ser relacionadas à viscosidade e à densidade do gás, respectivamente, e $|\dot{V}(t)|$ é o módulo do fluxo em função do tempo utilizado para fluxos que se alternam em dois sentidos (HANTOS, 1999). Alguns autores (CARVALHO; ZIN, 2011; HANTOS, 1999) consideram que o segundo termo da equação (K_1) de Rohrer desempenha o papel da pressão para números muito baixos de Reynolds (fluxo predominantemente laminar), enquanto que o terceiro termo (K_2) exibe a pressão desenvolvida em altíssimos números de Reynolds (fluxo predominantemente turbulento). Contudo, não há fundamento em teoria física para poder afirmar que os termos da equação de Rohrer sejam relacionados a tipos de fluxos laminares ou turbulentos (BATES, 2009).

Uma forma de se estudar a não linearidade em vias aéreas é substituindo-se a eq.(22) na eq.(6), como verificado em:

$$P(t) = E_R \cdot V(t) + [K_1 + K_2 \cdot |\dot{V}(t)|] \cdot \dot{V}(t) + P_0 \quad (23)$$

onde E_R é a elastância calculada com o modelo não linear com resistência dependente do fluxo. Esta equação também é conhecida como modelo de compartimento único dependente do fluxo (KANO et al., 1994).

2.4.2 Não Linearidade dos Tecidos

Assim como a resistência varia com alterações no fluxo, a elastância pode também variar com incursões de volume. Como exemplo, ventilações com volumes próximos do limite da capacidade pulmonar causam uma variação abrupta de pressão em relação ao acréscimo gradual de gás, resultando em uma conduta não linear (KANO et al., 1994). Infelizmente, o comportamento não linear do tecido pulmonar é considerado complexo e ainda pouco compreendido (HANTOS, 1999). O arcabouço do tecido pulmonar é composto basicamente por dois tipos principais de proteínas estruturais, sendo elas as fibras de elastina e as de colágeno. Acredita-se que estas duas proteínas sejam responsáveis pela constituição da maior tensão de suporte do tecido pulmonar (MAKSYM; BATES, 1997).

As fibras de colágeno são constituídas por cadeias polipeptídicas que mantêm a integridade mecânica dos órgãos e tecidos. Além disso, quando o pulmão está pouco insuflado as fibras de colágeno se encontram frouxas e num formato ondulado, mas quando tensionadas são altamente resistentes à tensão. Tais fibras possuem baixíssima extensibilidade, aumentando apenas de 1 a 3% seu comprimento original antes de se romperem. As fibras de elastina, como o próprio nome sugere, conferem elasticidade ao tecido pulmonar e paredes de artérias. Quando tensionadas, têm grande extensibilidade (podem ficar acima de 250% do seu tamanho original antes do rompimento) e baixa resistência à tensão, mas

retornam ao tamanho original após o relaxamento (MAKSYM; BATES, 1997; ROMERO, 1999).

Estudos em pulmões excisados que sofreram tratamento com a enzima elastase, ou seja, houve a destruição da elastina, exibiram diminuição da elastância a volumes médios e baixos e não apresentaram alteração no volume ou elastância a altas pressões. Por outro lado, pulmões excisados tratados com collagenase tiveram a elastância diminuída a altos volumes pulmonares, sem maiores alterações a baixos volumes pulmonares (ROMERO, 1999).

Acredita-se que estes principais tipos de fibras atuem conjuntamente, de forma a fornecer as propriedades características do tecido pulmonar. Uma propriedade de grande importância é a interdependência, em que um alvéolo, quando tende a colabar, é impedido pelos demais por estarem ligados pelas paredes alveolares (ROMERO, 1999).

O gráfico de tensão-deformação de tiras pulmonares de ratos revelam que a deformação oscilatória uniaxial apresenta uma linha curva suave com concavidade voltada para cima. Este procedimento mostra que o recolhimento elástico do tecido pulmonar durante uma respiração normal possui características de tensão-deformação marcadamente não lineares (ROMERO, 1999).

Apesar das pesquisas realizadas visando a compreensão do comportamento mecânico dos elementos microscópicos do tecido pulmonar, o comportamento macroscópico não pode ser explicado meramente pelo estudo separado das propriedades de cada um de seus constituintes. Em trabalho publicado recentemente, Suki e Bates (2011) sugerem que o comportamento macroscópico da mecânica do tecido pulmonar pode ser entendido como um fenômeno emergente. Deste ponto de vista, não se pode compreender a atuação dinâmica do tecido pulmonar pesquisando-se apenas suas partes (por exemplo, células, fibras, fluidos) de forma isolada, mas fazem sentido apenas quando pesquisadas em conjunto.

Uma forma de se obter um modelo matemático não linear é partindo do modelo linear de compartimento único. Primeiro, adota-se um parâmetro, como, por exemplo, a elastância (E) (eq.(2)), e o transforma em não linear, como se segue (WAGERS et al., 2002):

$$E = E_1 + E_2 \cdot V(t) \quad (24)$$

onde E_1 é um parâmetro independente do volume e $E_2 \cdot V(t)$ o elemento da equação dependente do volume. Carvalho e Zin (2011) apontam o parâmetro E_1 como a inclinação da curva pressão-volume elástica no início da inspiração e o E_2 como descritor da concavidade desta mesma curva através da inspiração. O cálculo da elastância pela eq.(24), como exemplo, pode ser utilizado para o estudo das patologias que afetam a elasticidade pulmonar (BATES, 2005). Assim como na não linearidade das vias aéreas, a eq.(24) pode ser substituída na eq.(6), ficando da seguinte forma:

$$P(t) = [E_1 + E_2 \cdot V(t)] \cdot V(t) + R_E \cdot \dot{V}(t) + P_0 \quad (25)$$

onde R_E é a resistência calculada com o modelo não linear com elastância dependente do volume. Desta forma, obtém-se o modelo de compartimento único dependente do volume.

A eq.(26) abaixo representa uma adaptação do modelo unicompartimental (eq.(6)) à não linearidade dependente tanto do fluxo quanto do volume aplicando a equação de Rohrer (eq.(22)) e a elastância não linear (eq.(24)).

$$P(t) = [E_1 + E_2 \cdot V(t)] \cdot V(t) + [K_1 + K_2 \cdot |\dot{V}(t)|] \cdot \dot{V}(t) + P_0 \quad (26)$$

O uso da eq.(26) pode apresentar melhores ajustes em pacientes de tratamento intensivo do que a eq.(6) (NUCCI; COBELLI, 2001).

Existem outros modelos não lineares além dos apresentados neste trabalho, como exemplos, o modelo unicompartimental quasi-estático que descreve a curva pressão-volume por uma expressão exponencial (BATES, 2005) e os modelos dinâmicos não lineares de Wiener e Hammerstein (BATES, 2009).

2.4.3 % E_2

Com o intuito de verificar a influência da não linearidade nos parâmetros da mecânica respiratória, Kano et al. (1994) elaboraram uma forma de calcular a

contribuição da elastância dependente de volume (E_2) em relação à elastância total do sistema respiratório ($E_{rs} = E_1 + E_2 \cdot V_T$), conhecida como $\%E_2$ (eq.(27)), sendo que V_T representa o volume corrente.

$$\%E_2 = 100 \cdot \left(\frac{E_2 \cdot V_T}{E_1 + E_2 \cdot V_T} \right) \quad (27)$$

Para verificar as potencialidades da $\%E_2$, foram realizados testes em filhotes de cães imobilizados com brometo de pancurônio e crianças em centros de tratamento intensivo de 3 a 66 meses de idade. Os dados revelaram que o modelo linear de compartimento único, o modelo de compartimento único dependente do fluxo e o modelo dependente de volume possibilitaram bons ajustes de curvas, verificados pelo coeficiente de determinação (COD) próximo da unidade (na maioria das vezes com $COD > 0,99$) para volumes correntes normais. Contudo, à medida que o volume corrente foi aumentando para regiões não lineares da curva pressão-volume, o modelo linear e o modelo dependente do fluxo apresentaram uma gradual deterioração no COD (valores entre 0,96 e 0,99), enquanto que o modelo dependente do volume manteve um bom ajuste com o aumento do volume pulmonar corrente.

Outra observação importante obtida no trabalho de Kano et al. (1994) foi que os pesquisadores perceberam que a deterioração do COD acontecia para valores de $\%E_2$ acima de 30%. Assim, convencionou-se que valores acima deste limiar seriam relacionados a uma hiperdistensão pulmonar, devido ao aumento da não linearidade. Além disso, os autores sugeriram que valores negativos de $\%E_2$ estariam relacionados ao recrutamento/desrecrutamento alveolar a ventilações a baixos volumes pulmonares.

Bersten (1998) avaliou a hiperinsuflação de pacientes com lesão pulmonar aguda (ALI) com a $\%E_2$. Pacientes com ALI tendem a apresentar uma marcante heterogeneidade pulmonar, ocorrendo o colapamento de certas regiões dos pulmões. Desta maneira, é importante que o clínico escolha com cautela o volume corrente em pulmões de pacientes com ALI, para se evitar uma possível lesão pulmonar causada por hiperinsuflação dos alvéolos não colabados. Para isso, o

autor sugere a manutenção da $\%E_2$ como uma ferramenta interessante para a avaliação da função pulmonar e auxílio na escolha do volume corrente ideal para se evitar possíveis traumas causados por hiperdistensão.

Jandre et al. (2008) advertem que a não consideração do tubo endotraqueal (ETT) nos cálculos de um modelo unicompartimental com parâmetros não lineares podem enviesar os dados. A influência do ETT na pressão do circuito foi calculada segundo a equação de Rohrer (eq.(22)) mais a influência das forças inertivas. Simulações numéricas revelaram que a $\%E_2$ foi sempre subestimada quando os parâmetros da ETT não eram levados em consideração. Além disso, o erro tendia a aumentar com tubos de menor calibre.

2.5 COMPARAÇÃO ENTRE MODELOS

Quando se utiliza mais de um modelo, existe a necessidade de comparação entre estes. Contudo, comparar modelos envolve alguns problemas. Dentre eles, encontram-se o número limitado de dados coletados e a dispersão inerente dos experimentos com instrumentos de medição. Assim, uma forma de se escolher o modelo mais apropriado pode ser feito estatisticamente, com o uso de probabilidades. O modo de comparação ideal deve levar em consideração tanto o número de parâmetros como o menor valor da soma dos quadrados dos valores encontrados (obtido como a diferença dos pontos do sinal com a curva de ajuste, elevando-se cada ponto ao quadrado e, ao final, somando-se todos os pontos) (MOTULSKY; CHRISTOPOULOS, 2004).

A menor soma dos quadrados dos valores não deve ser tomada como única prova de escolha de um modelo. Isto porque modelos com maior número de parâmetros geralmente oferecem melhores ajustes de curvas, mas nem sempre estes parâmetros terão uma contraparte fisiológica. Tornando, assim, necessário o bom senso do pesquisador em pesar o modelo que realize um bom ajuste de curva, mas que também seus parâmetros tenham algum sentido fisiológico (MOTULSKY; CHRISTOPOULOS, 2004).

Algumas formas diferentes de se comparar modelos podem ser encontradas na literatura. Dentre elas, encontram-se a variância estimada do ruído (ENV), o teste F e o critério de informação de Akaike (AIC).

2.5.1 Variância Estimada do Ruído (ENV)

A variância estimada do ruído, ou simplesmente ENV , é um parâmetro utilizado para determinar a qualidade do ajuste do sinal com os dados do modelo. O ajuste será melhor para menores valores de ENV . Para seu cálculo, são utilizados os valores de graus de liberdade e a soma dos quadrados dos resíduos (MORIYA, 2003; WAGERS et al., 2002).

Uma forma de se comparar dois modelos distintos é determinar a porcentagem do melhoramento do ajuste, conhecido como ΔENV . Wagers et al. (2002), baseados em uma distribuição tipo F , perceberam que há uma diferença estatística significativa ($p < 0,05$) para valores de ΔENV maiores que 30%. Contudo, Moriya (2003) adverte ser necessário que os dados do modelo sejam distribuídos de forma gaussiana. Do contrário, o critério dos 30% não é válido.

2.5.2 Teste F

Assim como o ENV , o teste F é calculado com valores de graus de liberdade e soma dos quadrados dos resíduos. Com estes valores determinados, encontra-se a proporção F e, em seguida, o “ p value”. O teste F é uma adequação do teste de análise de variância (ANOVA) (MOTULSKY; CHRISTOPOULOS, 2004).

Uma condição necessária para o teste F é que ambos os modelos sejam aninhados, ou seja, um deles deve ser uma versão mais simples do outro. No caso deste trabalho, o modelo linear unicompartimental é o mais simples dos modelos, possuindo apenas 3 parâmetros. O teste F é calculado da seguinte maneira:

$$F = \frac{(SSR_1 - SSR_2)/(df_1 - df_2)}{SSR_2 / df_2} \quad (28)$$

sendo SSR_1 a soma dos quadrados dos resíduos do modelo linear e df_1 seu grau de liberdade, e SSR_2 e df_2 a soma dos quadrados dos resíduos e grau de liberdade do modelo não linear em questão. O grau de liberdade é calculado como o número de amostras (m) coletadas menos o número de parâmetros (n) (MOTULSKY; CHRISTOPOULOS, 2004).

O nível de significância do teste F (“ p value”) é calculado como a área sob a curva para os valores acima de F encontrado da função densidade de probabilidade, baseado nos graus de liberdade do numerador ($df_1 - df_2$) e do denominador (df_2) (DEVORE, 1995).

2.5.3 Critério de Informação de Akaike (AIC)

O AIC é um teste que compara o quão próximo as curvas se encontram do sinal obtido baseado na soma dos resíduos elevados ao quadrado (SSR), no número de parâmetros do modelo (n) e no número de dados da coleta (m). Diferentemente do teste F , o AIC não necessita que os modelos sejam aninhados e, além disso, pode comparar mais de dois modelos por vez. O modelo com maior probabilidade de ser o mais apropriado será aquele com menor valor de AIC.

O AIC é calculado da seguinte forma:

$$AIC = m \cdot \ln\left(\frac{SSR}{m}\right) + 2 \cdot n \quad (29)$$

onde $\ln(\cdot)$ é o logaritmo natural.

Quando a proporção de m em relação a n é pequena, costuma-se utilizar a eq.(30).

$$AIC_c = m \cdot \ln\left(\frac{SSR}{m}\right) + 2 \cdot n + \left(\frac{2 \cdot n \cdot (n+1)}{m - n - 1}\right) \quad (30)$$

Uma forma de se comparar os valores AIC de cada modelo é encontrar o peso de Akaike, ou probabilidade, de cada um.

O AIC se diferencia dos modelos anteriores por não apresentar um teste de hipóteses, ou seja, não há um “*p value*” que determine a rejeição ou não da hipótese nula. Por outro lado, o AIC indica qual o modelo com maior probabilidade de ser o mais plausível baseado na teoria da informação (MOTULSKY; CHRISTOPOULOS, 2004).

A comparação entre modelos de ajuste de curvas pode ser realizada tanto em dados obtidos de humanos como de pesquisas com animais, para a avaliação da mecânica respiratória. Como nesta dissertação foram utilizados camundongos, o próximo tópico apresenta uma breve introdução à avaliação da mecânica respiratória em animais.

2.6 AVALIAÇÃO DA MECÂNICA RESPIRATÓRIA EM ANIMAIS

Os modelos animais de experimentação colaboram grandemente no estudo da fisiologia pulmonar. Com grande regularidade, têm sido realizadas pesquisas relacionadas às patologias que afetam a mecânica pulmonar em murinos, como a asma (BATES; RINCON; IRVIN, 2009), a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) (WRIGHT; COSIO, CHURG, 2008) e a fibrose pulmonar (MOORE; HOGABOAM, 2008), como destacado por Sly, Turner e Hantos (2004). Destacam-se na literatura diversas vantagens quanto ao modelo experimental em camundongos. Dentre elas, encontra-se o curto período de gestação, a economia de espaço em biotérios, baixo custo de manutenção e bom conhecimento do genoma e sistema imunológico. Apesar do tamanho ser considerado uma vantagem quanto à questão econômica, um grande problema técnico encontrado pelos pesquisadores na avaliação da mecânica pulmonar em murinos é justamente suas pequenas dimensões (IRVIN; BATES, 2003).

Os métodos de avaliação da mecânica respiratória em animais encontram-se entre dois extremos. Por um lado, encontram-se as técnicas mais invasivas, que consistem na medição das variáveis em animais anestesiados e paralisados. No outro extremo, estão os métodos menos invasivos, onde os animais podem se movimentar livremente. Entre esses dois extremos encontram-se as técnicas em que os animais estão contidos, porém conscientes (IRVIN; BATES, 2003).

As técnicas mais invasivas são mais precisas, contudo à custa de condições pouco fisiológicas (SLY; TURNER; HANTOS, 2004), devido à restrição do animal e do uso de anestésicos, que causam a depressão da ventilação espontânea e alteram as funções pulmonares, como a taxa respiratória e o volume corrente (SCHWARTE; ZUURBIER; INCE, 2000). Como exemplo, têm-se os procedimentos que requerem a ventilação mecânica, como a técnica de oscilação forçada (FOT) e a medição de pressão e fluxo na abertura das vias aéreas para verificação da dinâmica da mecânica pulmonar (SLY; TURNER; HANTOS, 2004).

A técnica menos invasiva mais conhecida é a pletismografia em animais não contidos (UP). Neste método, o animal é colocado em uma caixa, o pletismógrafo, e a variação de pressão dentro do recipiente é medida. A grande vantagem, neste caso, seria a obtenção de dados em animais não contidos e não anestesiados respirando espontaneamente. A UP é considerada um procedimento simples, em que o animal fica ileso após o término do experimento (IRVIN; BATES, 2003). Contudo, Hantos e Brusasco (2002) destacam que houve certo ceticismo após a apresentação da UP ao mundo científico como um método de avaliação da função mecânica pulmonar, pois toda a mecânica seria relacionada a apenas uma variável (ou seja, a variação de pressão na caixa). Lundblad et al. (2002), ainda, apontam que a UP só pode ser utilizada para determinar mudanças na resistência das vias aéreas se a capacidade residual funcional (CRF) e o volume corrente (VC) são medidos, ou seja, necessitando de técnicas mais invasivas. Além disso, também há a necessidade de que a câmara esteja umidificada e acondicionada à temperatura do corpo do animal. Sly, Turner e Hantos (2004) destacam que a UP seria apenas indicada para a avaliação do controle da respiração, não sendo uma técnica adequada para a avaliação de modelos de doenças pulmonares.

Entre as técnicas mais invasivas e as menos invasivas, encontra-se a técnica de pletismografia em animais contidos. A pletismografia em animais contidos pode ser realizada de mais de uma forma. Em uma delas, o corpo do camundongo se

encontra em um contentor dentro de uma câmara, enquanto o focinho fica voltado para outra câmara. Um alto-falante que se encontra na câmara com o corpo faz com que ocorra variação de pressão no recipiente. Os dados obtidos são utilizados para se calcular a impedância de transferência (Z_{tr}). Um problema neste tipo de experimento é que o nariz do animal pode interferir na resistência total do sistema respiratório, sendo que a situação é mais agravada nas respostas a desafios. Outro problema é a dificuldade técnica em se conter o animal (BATES; IRVIN, 2003).

A esta problemática em se conseguir resultados de experimentos mais fisiológicos (animal consciente e não contido), mas que são pouco precisos, com experimentos pouco fisiológicos (animal inconsciente e paralisado), porém mais precisos, Bates e Irvin (2003) chamaram de “princípio da incerteza da fenotipagem”, inspirados no princípio da incerteza da mecânica quântica de Heisenberg. Isto é, à medida que se pretende aumentar a precisão do experimento, as condições fisiológicas são inevitavelmente comprometidas.

Apesar de ser uma técnica considerada muito invasiva em modelo animal, a FOT tem sido muito utilizada na pesquisa básica, além de proporcionar bons resultados (IRVIN; BATES, 2003). Os sinais de pressão e volume/fluxo obtidos durante a FOT podem ser utilizados tanto em equações no domínio do tempo, como o modelo linear de compartimento único e suas variantes não lineares, ou também com equações no domínio da frequência, como o modelo de fase constante. Normalmente, quando são aplicados modelos no domínio do tempo, a FOT é utilizada com uma perturbação quasi-senoidal. Quando são utilizados modelos no domínio da frequência, a FOT utiliza perturbações em banda larga.

Um problema enfrentado na obtenção dos dados para análise, principalmente no domínio da frequência, é que o *drive* respiratório deve ser totalmente inibido. Caso o animal faça a contração do diafragma durante o procedimento experimental, os dados obtidos apresentarão não linearidade, comprometendo o ajuste dos modelos. Dentre as técnicas encontradas na literatura para a inibição do *drive* respiratório está a utilização de brometo de pancurônio (BATES et al., 1997; MORIYA; MORAES; BATES, 2003) e a ventilação a 450 respirações/minuto (ZOSKY et al., 2004).

Às vezes, é necessária a utilização de um estímulo para se verificar as alterações dos parâmetros do sistema respiratório. Tal estímulo é necessário porque

nem sempre a comparação direta entre os parâmetros do sistema respiratório de um animal controle e um animal tratado resulta em diferença estatística, mesmo que as análises histológicas provem o contrário. Como exemplo, Brito et al. (2012) verificaram que a presença da parede torácica pode mascarar os parâmetros respiratórios pulmonares. A análise dos dados deste experimento revelou que há diferença estatística entre animais enfisematosos e não enfisematosos apenas quando os pulmões estão expostos à pressão atmosférica, sem a influência da parede torácica. Uma forma muito comum de estímulo ao sistema respiratório é a utilização de agentes broncoconstritores para o estudo da asma em modelo animal. Em humanos, por exemplo, utiliza-se a metacolina para a realização de provas de função pulmonar para o diagnóstico da asma. O próximo tópico irá abordar brevemente os desafios com broncoconstritores.

2.7 DESAFIOS COM BRONCOCONSTRITORES

O desafio com broncoconstritores, como a histamina e agonistas colinérgicos (como a metacolina, o carbacol e a acetilcolina), objetiva analisar a responsividade da musculatura lisa das vias aéreas. Tal responsividade é muito utilizada no teste diagnóstico de pacientes suspeitos de asma, que respondem de modo exacerbado (hiper-responsivo) a estímulos broncoconstritores. Além disso, vários modelos experimentais em animais, como ratos (ARANTES-COSTA, 2000), camundongos (JONASSON et al., 2009) e cães (BATES, 1996), são utilizados para se analisar a fisiologia e/ou mecânica do sistema respiratório, por meio da hiper-responsividade a agentes broncoconstritores.

Segundo Bates, Rincon e Irvin (2009), os modelos animais de asma são voltados para a hiper-responsividade das vias aéreas. Os modelos visam mimetizar os mecanismos responsáveis por desencadear o processo asmático, que podem ser conseguidos pela administração de broncoconstritores, no caso de pesquisa da asma de origem alérgica, ou mesmo pelo uso da hiperpneia, para simular a asma causada pelo exercício.

A responsividade está relacionada à facilidade do estreitamento das vias aéreas após desafios com fármacos broncoativos. A hiper-responsividade, por sua

vez, é uma constrição exagerada das vias aéreas decorrente do uso de broncoconstritores. Esta resposta exagerada pode ser em razão da hiper-reatividade e/ou da hipersensibilidade do organismo (RUBIN et al., 2002).

Hipersensibilidade é a redução da quantidade de broncoconstritor suficiente para causar uma resposta. Já hiper-reatividade é o aumento da inclinação da curva (ou pico máximo, dependendo do teste) do grau de broncoconstrição em resposta às crescentes doses do fármaco (ARANTES-COSTA, 2000; RUBIN et al., 2002).

A investigação da responsividade das vias aéreas é realizada por meio das chamadas curvas dose-resposta. Para tanto, doses crescentes do broncoconstritor (por exemplo, histamina, metacolina ou acetilcolina), administradas de forma inalada ou intravenosa (JONASSON, 2009), são conduzidas a intervalos de tempo definidos previamente. Posteriormente, a curva é analisada de acordo com sua posição e inclinação ou resposta máxima (ARANTES-COSTA, 2000; RUBIN et al., 2002).

Atualmente, são utilizadas principalmente duas formas de administração do broncoconstritor metacolina (MCh) para o estudo de avaliação da mecânica respiratória em animais de experimentação de pequeno porte. A administração intravenosa (BATES et al., 1997) e a administração via nebulização (WAGERS et al., 2002). Acredita-se, contudo, que diferentes formas de administração do agente broncoconstritor possam causar respostas diferentes durante a avaliação da mecânica respiratória.

A metacolina se liga a receptores muscarínicos colinérgicos (M_α), causando a contração da musculatura lisa. Peták et al. (1997), com o intuito de pesquisar o local de ação predominante da metacolina em ratos Sprague-Dawley, sugere que os receptores M_3 , que se encontram na musculatura lisa das vias aéreas, sejam mais facilmente alcançados pela rota intravenosa do que a inalada, porque desta última forma a droga precisa atravessar o epitélio para alcançar o tecido. No entanto, os receptores M_1 seriam alcançados mais rapidamente pela forma inalada do que a intravenosa, devido à localização destes no parênquima pulmonar.

Em camundongos das linhagens C57BL/6 e Balb/c, a constrição com metacolina intravenosa revelou uma constrição mais homogênea das vias aéreas com pouca distorção do tecido comparando com os resultados inalados que, por sua vez, resultaram em maior heterogeneidade e distorção do tecido. Acredita-se que a administração de forma inalada cause uma má distribuição do fármaco pela árvore

traqueobrônquica, levando a uma resposta heterogênea das vias aéreas periféricas (JONASSON et al., 2009).

A mecânica do sistema respiratório é marcadamente alterada quando a musculatura brônquica é desafiada com agentes broncoativos. Como a mecânica do sistema respiratório se transforma nas diversas doenças pulmonares, o desafio com agonistas da musculatura lisa, portanto, serve como uma ferramenta adequada para mimetizar certas doenças e auxiliar na compreensão de determinadas patologias respiratórias.

Contudo, a broncoconstrição faz com que aumente a não linearidade do sistema respiratório, prejudicando o ajuste dos modelos lineares, como o modelo linear de compartimento único. Em uma pesquisa realizada em camundongos, Wagers et al. (2002) sugerem que a não linearidade em pulmões inflamados e broncoconstritos desses animais pode ter origem no aumento da rigidez do parênquima pulmonar, na mudança das propriedades intrínsecas do parênquima ou na heterogeneidade da ventilação pulmonar. Por este motivo, justifica-se a importância do estudo dos modelos matemáticos não lineares na avaliação da mecânica respiratória.

3 METODOLOGIA

3.1 VENTILADOR MECÂNICO PARA PEQUENOS ANIMAIS

O dispositivo *flexiVent* (SCIREQ, Canadá) de ventilação mecânica pulmonar (fig. 6) é basicamente um cilindro que contém um pistão controlado por um computador. Os sinais de pressão são captados por dois transdutores, um se localiza próximo à saída de ar do cilindro e o outro próximo à abertura das vias aéreas. O volume é calculado pela posição do pistão no cilindro, por meio de um transdutor diferencial variável linear (LVDT), enquanto que o fluxo consiste basicamente na derivada do volume em relação ao tempo. Duas válvulas, uma inspiratória e outra expiratória, posicionadas estrategicamente, são responsáveis pelo direcionamento do ar pela tubulação e uma tubulação tipo “Y” é responsável por conectar o animal às válvulas.

Figura 6 – Montagem do equipamento *flexiVent* (SCIREQ, Canadá) que se encontra no Laboratório de Fisiopatologia da Inflamação Experimental do ICB-USP.

A inspiração oferecida pelo aparato é causada pelo movimento de compressão de ar através do movimento do pistão dentro do cilindro. Neste momento, a válvula inspiratória é aberta (ao mesmo tempo em que a válvula expiratória encontra-se fechada) e o ar contido no interior do cilindro é direcionado para a tubulação tipo “Y”, que está ligada ao animal (fig. 7). A expiração ocorre de forma passiva. Neste caso, a válvula expiratória é aberta e a inspiratória se fecha. Uma cânula ligada à saída da válvula expiratória é imersa em 3 centímetros de água, para possibilitar a PEEP.

Figura 7 – Visão aproximada da tubulação tipo “Y” que conecta o animal às válvulas de inspiração e expiração. Acima da tubulação “Y”, encontra-se o transdutor de pressão de entrada das vias aéreas (P_{ao}). Podem-se verificar parcialmente as válvulas à esquerda e, à direita, a cânula metálica 18-gauge.

O ventilador para pequenos animais (*flexiVent*, SCIREQ, Canadá) e seu respectivo software (*flexiVent 5.2*, SCIREQ, Canadá) empregados nesta pesquisa só permitem a gravação dos dados de pressão e volume durante a realização de perturbações em volume. Diversas perturbações em volume podem ser empregadas ou até mesmo criadas pelo usuário. Entretanto, uma característica do conjunto

ventilador/software utilizado é que toda perturbação em volume ocorre apenas com a válvula expiratória totalmente fechada.

A fig. 8 apresenta um camundongo C57BL/6 sendo ventilado mecanicamente.

Figura 8 – Camundongo C57BL/6 traqueostomizado sendo ventilado mecanicamente no ventilador para pequenos animais (*flexiVent*, SCIREQ, Canadá).

Calibração da Cânula

Durante o movimento de inspiração, uma parte do volume é comprimida e, consequentemente, este volume não é entregue ao pulmão do animal pela abertura das vias aéreas. Assim, o volume calculado pela posição do pistão por meio do LVDT não é o volume real entregue ao sistema respiratório, provavelmente devido à compressibilidade do gás (E_{gas}). Além disso, outros fatores que devem ser levados em consideração são as propriedades do próprio circuito pneumático do ventilador. Dentre elas, encontra-se a diferença de pressão causada pela resistência da passagem do ar pelo sistema (R_{tube}) (como as tubulações que incluem o cilindro do pistão, mais a ligação entre o cilindro e o animal) e a diferença de pressão causada

pela aceleração do gás dentro deste circuito, também conhecida como inércia do gás (I_{tube}) (BATES et al., 1997).

Desta forma, é necessário realizar a calibração do circuito pneumático do ventilador, levando-se em consideração as propriedades indicadas no parágrafo anterior. Para isso, antes do experimento com o animal, dois procedimentos são realizados. Primeiramente, insere-se a cânula metálica 18-*gauge* na saída do tubo “Y” e uma perturbação quasi-senoidal em volume (concordante com a perturbação que será realizada durante o experimento – no caso, uma perturbação quasi-senoidal em volume de 150 respirações por minuto) é feita com o bisel da agulha totalmente obstruído (normalmente, isso é feito com a polpa do dedo do próprio pesquisador). Este procedimento é também chamado de “calibração fechada” e tem por objetivo simular um animal de impedância infinita para o cálculo da compressibilidade do gás dentro do circuito do ventilador. O cálculo é desenvolvido da seguinte maneira:

$$P(t) = E_{gas} \cdot V(t) \quad (31)$$

onde $P(t)$ é a pressão obtida pelo transdutor de pressão do cilindro, $V(t)$ é o volume obtido com o LVDT e E_{gas} é a elastância do gás.

Vale ressaltar que na “calibração fechada”, a perturbação em volume é realizada com 10% da amplitude do volume corrente com o intuito de evitar a saturação do transdutor de pressão. Logo em seguida, outra perturbação, agora com a amplitude do volume corrente, é realizada. Desta vez, no entanto, a perturbação em volume é realizada com o bisel da haste da cânula sem obstrução alguma em sua saída. Também chamada de “calibração aberta”, esta calibração é feita para simular um animal com impedância zero. O fluxo, então, é calculado descontando-se a compressibilidade do gás da seguinte forma:

$$\dot{V}_{tr}(t) = \dot{V}(t) - \dot{P}(t) / E_{gas} \quad (32)$$

onde $\dot{V}_{tr}(t)$ é o fluxo corrigido, $\dot{V}(t)$ é o fluxo obtido pelo LVDT e $\dot{P}(t)$ é a derivada da pressão adquirida com o transdutor de pressão do cilindro.

A resistência do tubo R_{tube} e a inertância do gás dentro do tubo I_{tube} são calculadas pela equação:

$$P(t) = \dot{V}_{tr}(t) \cdot R_{tube} + \ddot{V}_{tr}(t) \cdot I_{tube} \quad (33)$$

onde $\ddot{V}_{tr}(t)$ é a derivada do fluxo corrigido em relação ao tempo.

Durante o experimento com animal, o fluxo corrigido é obtido pela eq.(32) e a pressão corrigida é calculada descontando-se a pressão causada pela resistência e inertância do tubo da pressão obtida com o transdutor de pressão do cilindro (eq.(34)) (BATES et al., 1997).

$$P_{tr}(t) = P(t) - \dot{V}_{tr}(t) \cdot R_{tube} - \ddot{V}_{tr}(t) \cdot I_{tube} \quad (34)$$

Os parâmetros das equações (31) e (33) podem ser encontrados pela implementação computacional da técnica de regressão múltipla linear.

3.2 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Os experimentos em modelo animal foram realizados no *Laboratório de Fisiopatologia da Inflamação Experimental, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB-USP)*, sob a supervisão do Prof. Dr. Wothan Tavares de Lima. Os animais utilizados nos experimentos foram camundongos adultos fêmeas da linhagem C57BL/6 ($n = 8$), com idade entre 6 a 9 semanas e massa de 18 a 22 g. A pesquisa recebeu a autorização da Comissão de Ética em Experimentação Animal do ICB-USP (nº 113, folha 75, livro 02).

Para a avaliação da mecânica pulmonar, os animais foram anestesiados com cetamina (100 mg/kg) e xilazina (20 mg/kg) via intraperitoneal. Em seguida, realizou-se uma traqueostomia e a abertura da traqueia foi canulada com cânula metálica 18-gauge. A cânula, então, foi conectada ao aparelho de ventilação mecânica para pequenos animais (*flexiVent*, SCIREQ, Canadá). O aparelho foi ajustado a volume

corrente de 10 mL/kg do animal, frequência respiratória de 450 respirações/minuto e a uma pressão positiva ao final da expiração (PEEP) de 3 cmH_2O .

Após a canulação da traqueia e posterior conexão do animal ao ventilador de pequenos animais, o mesmo foi ventilado de forma quasi-senoidal a 450 respirações por minuto. O experimento foi dividido em quatro formas de coleta de dados, denominadas: Basal, PBS, MCh 50 mg/mL e MCh 100 mg/mL.

A coleta Basal consiste na aplicação de perturbações ventilatórias (que serão indicadas em seguida) sem nebulização.

A coleta PBS trata-se da aplicação das perturbações após nebulização de solução tampão fosfato-salina (PBS) nas vias aéreas.

Em seguida, as coletas MCh compreendem na aplicação de perturbações após nebulização de solução tampão mais determinada concentração do fármaco metacolina (MCh) (Sigma).

As nebulizações foram realizadas por um intervalo de tempo de 10 segundos (*Aeroneb Lab*, Aerogen, Irlanda), em um total de aproximadamente 75 ciclos respiratórios. Tanto para as coletas PBS, MCh 50 mg/mL como MCh 100 mg/mL, foram colocados no nebulizador 100 μ L de solução. A primeira aplicação foi obtida aproximadamente 5 segundos após o término da nebulização e as aplicações seguintes foram realizadas com intervalos de 30 segundos. Após cada desafio (PBS, MCh 50 mg/mL e MCh 100 mg/mL) esperou-se no mínimo 5 minutos para a realização de uma nova nebulização e consequente coleta de dados.

As etapas consistiram na obtenção de dados por meio da perturbação senoidal em volume a 150 respirações por minuto (ou 2,5 Hz) com aproximadamente 1,25 segundos de duração e 3 ondas quasi-senoidais (no ambiente do software *flexiVent* 5.2, esta perturbação é conhecida como *SnapShot-150*; para motivos de praticidade, esta denominação será utilizada daqui em diante). A fig. 9 representa o intervalo entre as perturbações *SnapShot-150* durante as coletas PBS, MCh 50 mg/mL e MCh 100 mg/mL. A fig. 10 apresenta um gráfico típico de volume em relação ao tempo da perturbação *SnapShot-150*.

As perturbações ventilatórias no equipamento utilizado (*flexiVent*, SCIREQ, Canadá) foram realizadas com a técnica de oscilação forçada (FOT) utilizando uma perturbação quasi-senoidal em volume a frequência única. Durante a manobra ocorre uma simulação de um ciclo respiratório com relação inspiração/expiração unitária (1:1) utilizando a metade ascendente da quasi-senoide como a porção

inspiratória e a metade descendente da quasi-senoide como a porção expiratória. A válvula expiratória é mantida fechada durante a perturbação em volume.

Figura 9 – Sequência da perturbação ventilatória adotada (*SnapShot-150*) para as coletas PBS, MCh 50 mg/mL e MCh 100 mg/mL. O retângulo inferior representa a linha de tempo em segundos após a nebulização.

Figura 10 – Perturbação quasi-senoidal em volume à frequência de 150 respirações/minuto (ou 2,5 Hz).

Antes do início de cada coleta foram realizadas duas vezes a perturbação de recrutamento dos alvéolos, também chamada de capacidade pulmonar total (TLC). A perturbação de recrutamento dos alvéolos tem duração total de 6 segundos e consiste na aplicação de uma rampa de volume, com pressão inicial equivalente à própria PEEP, até que se atinja a pressão de platô de 30 cmH_2O . Depois de alcançada a pressão de platô, esta é mantida até o final dos 6 segundos. O TLC é utilizado para minimizar os efeitos da heterogeneidade pulmonar causada pelo uso da metacolina (MCh), que causa a variação de pressão alveolar em diferentes regiões do pulmão (BATES; SUKI, 2008).

A fig. 11 apresenta a ordem esquematizada do protocolo experimental geral adotado neste trabalho.

Figura 11 – Ordem das etapas do experimento realizado. Obs. TLC – capacidade pulmonar total. Basal – aplicação da perturbação *SnapShot-150* sem nebulização. PBS – aplicação das perturbações com utilização apenas de solução tampão fosfato-salina. MCh – nebulização de solução tampão mais determinada concentração do fármaco metacolina. O retângulo central representa os instantes de tempo do experimento com um dos animais. Os instantes de tempo podem variar de animal para animal.

3.3 IMPLEMENTAÇÃO DA ROTINA COMPUTACIONAL

As análises dos resultados do modelo experimental foram realizadas no *Laboratório de Engenharia Biomédica (LEB)* da *Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (EPUSP)*. A ferramenta utilizada para desenvolver os modelos matemáticos e suas avaliações foi elaborada em ambiente matemático (*Matlab R2010a*, The MathWorks, EUA).

O Matlab (*MATrix LABoratory*)¹ é um software amplamente utilizado no mundo acadêmico. Como sua forma de linguagem é semelhante à escrita matemática, auxilia o programador a apreender os cálculos de modo mais claro. Além disso, suas operações numéricas são baseadas em vetores e matrizes, o que possibilita escrever códigos mais enxutos do que se fossem escritos em outras linguagens. Neste trabalho, utilizou-se a ferramenta GUI (*“Graphical User Interface”*) do Matlab para permitir maior controle dos dados experimentais pelo usuário. O código desenvolvido foi organizado em diferentes seções para facilitar sua compreensão (fig. 12).

¹ MATHWORKS. MATLAB: The Language of Technical Computing. Disponível em: <<http://www.mathworks.com/>>. Acessado em 11 de maio de 2012.

Figura 12 – Diagrama de blocos demonstrando a estruturação do código em ambiente matemático (*Matlab R2010a*, The MathWorks, EUA).

Foi desenvolvida uma rotina computacional capaz de permitir ao usuário analisar os dados de perturbação quasi-senoidal a frequências determinadas (*SnapShot*). O valor de frequência utilizado pelo ventilador mecânico empregado neste trabalho (*flexiVent*, SCIREQ, Canadá) foi relativo à frequência de 150 respirações por minuto (ou 2,5 Hz). Contudo, a rotina computacional também é capaz de calcular os ajustes, em respirações por minuto, a 60 (ou 1 Hz), 70 (ou 1,17 Hz), 90 (ou 1,5 Hz), 120 (ou 2 Hz), 180 (ou 3 Hz) e 300 (ou 5 Hz).

Os dados da perturbação quasi-senoidal foram analisados pelo modelo linear de compartimento único, como delineado no tópico 2.3. Utilizando-se também da perturbação quasi-senoidal, calcularam-se ainda parâmetros para modelos não lineares dependentes do volume, do fluxo e do volume-fluxo (tópico 2.4).

3.4 APLICAÇÃO DOS MODELOS

Os dados obtidos dos transdutores de pressão (P_{cyl}) e volume (V_{cyl}) foram compensados para levar em consideração os efeitos do circuito pneumático do ventilador e, posteriormente, foram utilizados na aplicação dos modelos.

As derivadas do volume e pressão em relação ao tempo foram calculadas com a função *diff*($\cdot$) do ambiente matemático (*Matlab R2010a*, The MathWorks, EUA).

3.4.1 Calibração das Cânulas

Os cálculos para a calibração das cânulas foram realizados como apresentados no tópico 3.1. A integral do fluxo, utilizada na calibração da cânula, foi realizada pelo método dos trapézios. O sinal de volume utilizado foi obtido corrigindo-se a deriva do sinal resultante da integral do fluxo corrigido.

Os parâmetros E_{gas} , R_{tube} e I_{tube} foram obtidos pela técnica de regressão múltipla linear.

3.4.2 Modelo Linear de Compartimento Único

Os parâmetros do modelo linear unicompartmental (R , E e P_0) foram calculados segundo a técnica de regressão múltipla linear, como descrito no tópico 2.3.1, com a função `regress(·)`.

Foram calculados os parâmetros para os últimos dois terços do sinal (o primeiro terço foi excluído para eliminar possíveis efeitos transientes no sinal) e também para expirações e inspirações separadamente, como detalhado à frente no tópico 3.5.

3.4.3 Variantes Não Lineares

As 3 variantes não lineares estudadas nesta dissertação seguiram a mesma metodologia apresentada no modelo linear unicompartmental. Lembrando apenas que há uma diferença no número de parâmetros calculados para os modelos com variantes não lineares. As equações **(23)** e **(25)** possuem 4 parâmetros cada (K_1 , K_2 , E_R e P_0 , na primeira, e E_1 , E_2 , R_E e P_0 na segunda) e a eq.**(26)** possui 5 parâmetros (K_1 , K_2 , E_1 , E_2 e P_0), todos calculados pela técnica de regressão

múltipla linear, segundo apresentado no tópico 2.3.1. Os parâmetros para os últimos dois terços do sinal e para expirações e inspirações (como será detalhado no tópico 3.5) também foram calculados.

3.4.4 $\%E_2$

A $\%E_2$ foi calculada para os modelos das equações (25) e (26) para se determinar a influência da não linearidade nos parâmetros da mecânica respiratória. Os valores de E_1 e E_2 , calculados anteriormente, foram utilizados na eq.(27) para se encontrar o valor da $\%E_2$.

O volume corrente (V_T), também usado no cálculo da $\%E_2$, foi obtido da seguinte maneira para os modelos: para o cálculo dos parâmetros com os dois últimos terços do sinal, foi medido como a diferença entre as médias dos picos e as médias dos vales do sinal de volume obtido e, para as expirações e inspirações, foi medido simplesmente como a diferença no sinal de volume entre o pico e o vale daquela expiração ou inspiração, respectivamente.

3.5 ANÁLISE DOS DADOS

Para verificar o quanto os parâmetros calculados pela rotina desenvolvida se ajustaram às curvas, foi utilizado o *coeficiente de determinação* (COD) que define o quão bom o ajuste se encontra (BATES, 2009), representado na seguinte equação:

$$COD = 1 - \frac{SSR}{\sum_{i=1}^N (P_i - \bar{P})^2} \quad (35)$$

onde SSR é a soma dos resíduos quadrados, P_i é a pressão medida e $\bar{P}$ é a pressão média do sinal medido.

O padrão do ventilador determina que os parâmetros do modelo unicompartmental que geram ajustes com COD menor que 0,95 sejam descartados. Entretanto, como um dos intuitos deste trabalho é verificar se a implementação de modelos não lineares melhora ou não o ajuste das curvas de pressão, os parâmetros com COD menor que 0,95 não foram descartados, para verificar se houve aperfeiçoamento na descrição do fenômeno fisiológico. Entretanto, os valores de COD que se afastaram demasiadamente dos demais, seguindo o critério de *outliers* descrito em seguida, foram descartados.

Os dados estão separados em quatro grupos. Cada grupo foi calculado com um modelo matemático diferente, sendo que o primeiro contém os dados resultantes do modelo linear de compartimento único (eq.(6)), seguido do modelo de compartimento único dependente do fluxo (eq.(23)), do modelo dependente do volume (eq.(25)) e do modelo dependente tanto do fluxo quanto do volume (eq.(26)).

Além disso, para cada curva foram estimados os parâmetros (com cada modelo) a partir do segundo terço do sinal (fig. 13), sendo que o primeiro terço não foi considerado para se evitar possíveis efeitos transientes. Posteriormente, foram obtidos os parâmetros da expiração da primeira e segunda ondas senoidais e da inspiração da segunda e terceira ondas senoidais (como evidenciado na fig. 13), para se verificar o comportamento dos parâmetros dos modelos durante a expiração e inspiração.

Figura 13 – A onda gerada pela perturbação quasi-senoidal foi dividida em 5 partes (os dois últimos terços, expirações 1 e 2 e inspirações 1 e 2) para a análise dos parâmetros do modelo linear de compartimento único e modelos não lineares. Foram calculados R , E , variantes não lineares e COD para cada trecho.

As análises estatísticas foram desenvolvidas como explicitado no próximo subitem.

Estatística

Os valores resultantes que se afastaram excessivamente dos outros valores do mesmo grupo foram considerados *outliers* e não foram levados em consideração nos cálculos das análises descritivas, devido à influência dos valores aberrantes na média e desvio padrão. A determinação dos *outliers* seguiu o seguinte critério em que as amostras são separadas em quartis:

$$outlier = \begin{cases} outlier\ sup > Q_3 + 3 \cdot IQR \\ outlier\ inf < Q_1 - 3 \cdot IQR \end{cases} \quad (36)$$

onde *outlier sup* e *outlier inf* são os *outlier* superior e inferior. Q_1 e Q_3 são o primeiro e o terceiro quartis, respectivamente, e *IQR* é a amplitude interquartil ($IQR = Q_3 - Q_1$). Os valores encontrados entre $Q_3 + 1,5 \cdot IQR$ a $Q_3 + 3 \cdot IQR$ e $Q_1 - 1,5 \cdot IQR$ a $Q_1 - 3 \cdot IQR$ são considerados *outliers* moderados (DEVORE, 1995) e foram considerados, a fim de evitar possíveis exclusões de dados relevantes. Assim, apenas foram excluídos os *outliers* extremos, ou seja, valores acima de $Q_3 + 3 \cdot IQR$ e abaixo de $Q_1 - 3 \cdot IQR$.

A média e o desvio-padrão do espaço amostral foram calculados para todos os instantes e colocados em gráficos (*Excel 2010*, Microsoft, EUA). As análises estatísticas de *outliers*, médias e desvios padrão utilizadas foram implementadas em ambiente matemático (*Matlab R2010a*, The MathWorks, EUA).

Um programa estatístico (*Graphpad Prism 5*, GraphPad Software, EUA) foi empregado para a realização do teste *t* (para amostras não pareadas), para o teste *One-way ANOVA* e para o teste *post hoc* de Tukey. Em todos os testes, o nível de significância foi de 5% ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 DESENVOLVIMENTO COMPUTACIONAL

O ventilador mecânico *flexiVent* (SCIREQ, Canadá) fornece ao pesquisador os resultados em planilhas (*Excel 2010*, Microsoft, EUA) através de software proprietário (*flexiVent 5.2*, SCIREQ, Canadá). Nestas planilhas, encontram-se os valores obtidos pelos transdutores de pressão localizados no cilindro (P_{cyl}) e próximo da entrada das vias aéreas (P_{ao}) e volume (V_{cyl}), além dos parâmetros da mecânica respiratória calculados.

A rotina computacional desenvolvida nesta dissertação utilizando a ferramenta de interface gráfica do usuário (GUI) em ambiente matemático (*Matlab R2010a*, The MathWorks, EUA) (figuras 14 a 17) obtém os dados das planilhas com as variáveis e realiza o cálculo dos parâmetros de mecânica respiratória com as equações do modelo linear de compartimento único e dos modelos não lineares apresentados anteriormente (como detalhado nos tópicos 2.3 e 2.4). Além disso, a rotina computacional também realiza os cálculos para compensação das cânulas e possibilita que o operador salve os resultados em outras planilhas, para o armazenamento dos resultados.

A rotina computacional é capaz de permitir ao usuário avaliar os dados de perturbação quasi-senoidal de frequência conhecida (conhecido no ambiente do software *flexiVent 5.2* como *Snapshot*) com base nos dados de pressão e volume corrigidos pela calibração (P_{tr} e V_{tr} , respectivamente).

A fig. 14 apresenta um aspecto geral da interface gráfica da rotina computacional desenvolvida para esta dissertação. A interface foi separada em blocos da seguinte maneira:

- 1 – Menu arquivo;
- 2 – Menu sobre a rotina computacional;
- 3 – Lista de eventos, nome do arquivo e dados calculados com o modelo linear unicompartmental;
- 4 – Parâmetros calculados pelo software *flexiVent 5.2* (SCIREQ, Canadá);

- 5 – Parâmetros calculados do trecho selecionado pelo usuário;
- 6 – Botões de selecionar, zerar informações, separar as ondas senoidais, salvar dados do evento escolhido, voltar ao menu principal, voltar à onda senoidal antes da seleção e salvar os dados de todos os eventos em planilha;
- 7 – Escolher qual tipo de calibração: software *flexiVent* 5.2 ou calibração da própria rotina computacional - para ser usado no salvamento de todos os eventos;
- 8 – Dados anotados pelo usuário durante o experimento com o animal;
- 9 – Parâmetros do modelo com variante não linear;
- 10 – Gráficos de pressão volume e fluxo;
- 11 – Relatório para anotações do evento selecionado.

Figura 14 – Esquema geral da interface gráfica da rotina computacional desenvolvida: 1 – Menu arquivo; 2 – Menu sobre a rotina computacional; 3 – Lista de eventos, nome do arquivo e dados calculados com o modelo linear unicompartimental; 4 – Parâmetros calculados pelo software *flexiVent* 5.2 (SCIREQ, Canadá); 5 – Parâmetros calculados do trecho selecionado pelo usuário; 6 – Botões de selecionar, zerar informações, separar as ondas senoidais, salvar dados do evento escolhido, voltar ao menu principal, voltar à onda senoidal antes da seleção e salvar os dados de todos os eventos em planilha; 7 – Escolher qual tipo de calibração: software *flexiVent* 5.2 ou calibração da própria rotina computacional (para ser usada no salvamento de todos os eventos); 8 – Dados anotados pelo usuário durante o experimento com o animal; 9 – Parâmetros do modelo com variante não linear; 10 – Gráficos de pressão, volume e fluxo e 11 – Relatório para anotações do evento selecionado.

A fig. 15 apresenta o layout da rotina computacional para análise de perturbação em volume do modelo linear unicompartmental e sua variante não linear com resistência dependente do fluxo. Para mera ilustração, foi selecionada a inspiração da segunda onda quasi-senoidal.

Figura 15 – Tela de apresentação da rotina computacional para análises de perturbação em volume do modelo linear unicompartmental e sua variante não linear com resistência dependente do fluxo. Foi selecionada para ilustração a inspiração da segunda onda quasi-senoidal do sinal completo.

A fig. 16 apresenta o layout da rotina computacional para análise de perturbação em volume do modelo linear unicompartmental e sua variante não linear com elastância dependente do volume. Notar que a expiração da primeira onda quasi-senoidal foi selecionada para ilustração.

Figura 16 – Tela de apresentação da rotina computacional para análises de perturbação em volume do modelo linear unicompartimental e sua variante não linear com elastância dependente do volume. Foi selecionada para ilustração a expiração da primeira onda quasi-senoidal do sinal completo.

A fig. 17 apresenta o layout da rotina computacional para análise de perturbação em volume do modelo linear unicompartimental e sua variante não linear com resistência dependente do fluxo e elastância dependente do volume. Notar que a terceira onda quasi-senoidal foi selecionada.

Figura 17 – Tela de apresentação da rotina computacional para análises de perturbação em volume do modelo linear unicompartmental e sua variante não linear com resistência dependente do fluxo e elastância dependente do volume. Foi selecionado um ciclo correspondente à terceira onda quasi-senoidal do sinal completo.

4.2 PARÂMETROS DE CALIBRAÇÃO DE CÂNULA

Os parâmetros de calibração da cânula (E_{gas} , R_{tube} e I_{tube}) foram calculados como apresentado nas equações (31) e (33). Todos os parâmetros foram calculados pela técnica de regressão múltipla linear e os *coeficientes de determinação* (*COD*) como explicitado na eq.(35) (dados apresentados na tabela 1).

Observar que o *COD* da calibração 1 aberta se encontra menor em comparação com as outras calibrações (*outlier*). No entanto, os parâmetros R_{tube} e I_{tube} apresentados na tabela 1 para a calibração 1 se encontram dentro da média e desvio padrão e este valor não foi desconsiderado para a estatística descritiva, pois foi utilizado para os cálculos de calibração.

Tabela 1 – Parâmetros de calibração de cânula.

	Calibração Fechada		Calibração Aberta		
	E_{gas} (cmH_2O / mL)	COD	R_{tube} ($cmH_2O.s / mL$)	I_{tube} ($cmH_2O.s^2 / mL$)	COD
Calibração 1	143,790	0,949	0,380	0,0006	0,925*
Calibração 2	140,160	0,953	0,383	0,0006	0,996
Calibração 3	143,190	0,955	0,367	0,0006	0,996
Calibração 4	143,761	0,958	0,366	0,0007	0,995
Calibração 5	146,922	0,959	0,384	0,0006	0,997
Calibração 6	145,299	0,951	0,383	0,0006	0,994
Calibração 7	143,004	0,948	0,410	0,0005	0,996
Calibração 8	145,607	0,953	0,381	0,0005	0,997
Média	143,967	0,953	0,382	0,0006	0,987
Desvio Padrão	2,046	0,004	0,013	0,0001	0,025

* A princípio seria um *outlier*, no entanto o valor 0,925 foi considerado nos cálculos, pois os dados de calibração foram utilizados.

4.3 MODELO LINEAR DE COMPARTIMENTO ÚNICO

O modelo linear de compartimento único foi aplicado para cada uma das coletas, resultando em um total de 32 aplicações. As coletas estão divididas em: Basal ($n = 2$), PBS ($n = 10$), MCh 50 mg/mL ($n = 10$) e MCh 100 mg/mL ($n = 10$).

As figuras 18 e 19 apresentam, respectivamente, os parâmetros elastância e resistência calculados com o modelo linear de compartimento único para os dois últimos terços do sinal. As setas indicam a primeira perturbação de cada coleta.

Percebe-se que não há diferença significativa dos parâmetros com a nebulização da solução tampão (coleta PBS) em comparação à coleta Basal, em que não há nebulização. Contudo, há um claro aumento de ambos os parâmetros alguns segundos após a primeira aplicação do broncoconstritor (coleta MCh 50 mg/mL). Em seguida à segunda aplicação do fármaco (coleta MCh 100 mg/mL), ocorre um segundo pico nos parâmetros, sendo maior que na concentração anterior. Outra observação é o grande aumento do desvio padrão após a administração da metacolina, sendo visivelmente maior na dose mais concentrada.

Figura 18 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores de elastância durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal. As setas indicam o instante inicial de cada coleta.

Figura 19 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores de resistência durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal. As setas indicam o instante inicial de cada coleta.

A fig. 20 apresenta as médias e desvios padrão do *coeficiente de determinação (COD)*.

Observa-se na fig. 20 que, logo após a administração de ambas as concentrações de metacolina, ocorre queda na média e aumento no desvio padrão.

Figura 20 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores do coeficiente de determinação durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal. As setas indicam o instante inicial de cada coleta.

Foi selecionado um instante de tempo representativo de cada coleta para análise estatística. Para a coleta Basal e para a coleta PBS foi escolhido o segundo instante de tempo. Para a coleta MCh 50 mg/mL e para a coleta MCh 100 mg/mL foi selecionado o instante de tempo com a maior média dos parâmetros elastância e resistência (tanto para a elastância como para a resistência, a maior média encontrada foi no terceiro instante de tempo da coleta MCh 50 mg/mL e no segundo instante de tempo da coleta MCh 100 mg/mL).

A elastância e a resistência (figuras 21 e 22) apresentaram diferença estatística entre as médias (ANOVA, $p < 0,0001$) nos instantes de tempo selecionados. O teste *post hoc* para a elastância (fig. 21) demonstrou diferença significativa entre a combinação de pares: Basal-MCh 100 mg/mL, PBS-MCh 100 mg/mL e MCh 50 mg/mL-MCh 100 mg/mL. Já o teste *post hoc* para a resistência (fig. 22) revelou diferença significativa entre a combinação dos seguintes pares: Basal-MCh 50 mg/mL, Basal-MCh 100 mg/mL, PBS-MCh 50 mg/mL e PBS-MCh 100 mg/mL.

Figura 21 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para a elastância nos instantes de tempo representativos calculada para os dois últimos terços do sinal. As médias são estatisticamente diferentes (ANOVA, $p < 0,0001$). As diferenças apresentadas pelo teste *post hoc* estão representadas pelos símbolos. Barras com mesmo símbolo apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

Figura 22 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para a resistência nos instantes de tempo representativos calculada para os dois últimos terços do sinal. As médias são estatisticamente diferentes (ANOVA, $p < 0,0001$). As diferenças apresentadas pelo teste *post hoc* estão representadas pelos símbolos. Barras com mesmo símbolo apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

Na sequência, a fig. 23 apresenta o *coeficiente de determinação* (*COD*) nos instantes selecionados.

O teste ANOVA revelou uma diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre as médias. O teste *post hoc* para o *COD* (fig. 23) demonstrou diferença significativa entre a combinação de pares: Basal-MCh 100 mg/mL e PBS-MCh 100 mg/mL.

Figura 23 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para o coeficiente de determinação nos instantes de tempo representativos calculado para os dois últimos terços do sinal. As médias são estatisticamente diferentes (ANOVA, $p < 0,05$). As diferenças apresentadas pelo teste *post hoc* estão representadas pelos símbolos. Barras com mesmo símbolo apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

Os resultados de elastância, resistência e *COD* após a separação do sinal em expirações e inspirações estão apresentados nas figuras 24 a 26.

A fig. 24 apresenta a comparação da elastância calculada para dois terços do sinal (*E*), expirações 1 e 2, e inspirações 1 e 2. O teste ANOVA não apresentou diferença estatística entre as diversas elastâncias calculadas para cada coleta.

Por sua vez, a fig. 25 apresenta a comparação da resistência calculada para dois terços do sinal (*R*), expirações 1 e 2, e inspirações 1 e 2. O teste ANOVA apresentou diferença estatística apenas no grupo PBS ($p = 0,0353$), mas o teste *post hoc* não apontou diferença nas comparações entre a combinação de pares.

Figura 24 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para a elastância nos instantes de tempo representativos calculada para os dois últimos terços do sinal (E), expirações (E exp1 e E exp2) e inspirações (E insp1 e E insp2). Os elementos dentro de cada coleta não apresentaram diferença estatística significativa (ANOVA).

Figura 25 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para a resistência nos instantes de tempo representativos calculada para os dois últimos terços do sinal (R), expirações (R exp1 e R exp2) e inspirações (R insp1 e R insp2). Os elementos dentro de cada coleta apresentaram diferença estatística significativa apenas na coleta PBS (ANOVA, $p = 0,0353$). Contudo, para a coleta PBS, o teste *post hoc* de comparação múltipla não apresentou diferença estatística em nenhuma combinação de pares.

A análise estatística ANOVA revelou que há diferença estatística significativa entre os *COD* de todas as coletas na comparação entre os parâmetros dos dois terços do sinal, expirações e inspirações (fig. 26). O teste *post hoc* apresentou diferença, nas coletas Basal, PBS e MCh 50 mg/mL para os dois últimos terços do sinal em comparação com as expirações 1 e 2, e inspirações 1 e 2. A coleta MCh 100 mg/mL apresentou diferença apenas entre o *COD* dos dois últimos terços do sinal com o *COD* da expiração 2.

Figura 26 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para o coeficiente de determinação nos instantes de tempo representativos calculado para os dois últimos terços do sinal (COD), expirações (COD exp1 e COD exp2) e inspirações (COD insp1 e COD insp2). Os elementos dentro de cada coleta apresentaram diferença estatística significativa em todas as coletas (ANOVA, * $p = 0,0281$, *** $p < 0,0001$). O teste *post hoc* de comparação múltipla apresentou diferença estatística entre o COD para os dois últimos terços do sinal em comparação com expirações e inspirações nas coletas Basal, PBS e MCh 50 mg/mL. Para a coleta MCh 100 mg/mL, houve diferença no teste *post hoc* apenas entre COD e COD exp2.

4.4 VARIANTE NÃO LINEAR COM RESISTÊNCIA DEPENDENTE DO FLUXO

A variante não linear com resistência dependente do fluxo apresentou um comportamento da constante K_1 semelhante ao comportamento da constante R do

modelo linear unicompartimental (o teste t não revelou diferenças entre as médias dos instantes selecionados para o dois últimos terços do sinal) (tabela 2).

Tabela 2 – Médias e desvios padrão dos parâmetros R e K_1 das coletas.

Parâmetros ($\text{cmH}_2\text{O} \cdot \text{s} / \text{mL}$)	Basal		PBS		MCh 50 mg/mL		MCh 100 mg/mL	
	R	K_1	R	K_1	R	K_1	R	K_1
Média	0,540	0,506	0,5705	0,540	3,112	3,318	4,857	6,881
DP	0,130	0,217	0,0925	0,155	1,219	1,341	2,329	4,641

No entanto, o comportamento do parâmetro K_2 revelou diferença nas médias (ANOVA, $p < 0,05$) para os instantes selecionados. O teste *post hoc*, entretanto, não proporcionou diferença estatística significativa em nenhum caso de comparação entre os pares de instantes selecionados. Pode-se ver na fig. 27 o comportamento do parâmetro K_2 durante as coletas do experimento, observe a grande alteração do desvio padrão após a administração da segunda dose de metacolina.

Figura 27 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores de K_2 durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal. As setas indicam a posição inicial de cada coleta.

A elastância (E) dos instantes selecionados do modelo linear foi comparada com a elastância do modelo com resistência dependente do fluxo (E_R); a comparação dos dois últimos terços do sinal revelou que não houve diferença estatística entre as médias (tabela 3).

Tabela 3 – Médias e desvios padrão dos parâmetros E e E_R das coletas.

Parâmetros (cmH_2O/mL)	Basal		PBS		MCh 50 mg/mL		MCh 100 mg/mL	
	E	E_R	E	E_R	E	E_R	E	E_R
Média	30,643	30,637	30,898	30,890	68,274	68,229	127,414	126,673
DP	7,995	7,986	8,178	8,172	19,998	19,962	62,052	61,344

Obs. E é a elastância calculada com o modelo linear e E_R a elastância calculada com a variante não linear.

Da mesma maneira, o COD também não apresentou variação entre os instantes selecionados na comparação do modelo linear (COD) com o modelo dependente do fluxo (COD_R) (tabela 4).

Tabela 4 – Médias e desvios padrão do coeficiente de determinação das coletas.

	Basal		PBS		MCh 50 mg/mL		MCh 100 mg/mL	
	COD	COD_R	COD	COD_R	COD	COD_R	COD	COD_R
Média	0,998	0,998	0,997	0,998	0,993	0,993	0,983	0,990
DP	0,001	0,001	0,001	0,001	0,004	0,004	0,015	0,005

Obs. COD é o coeficiente de determinação calculado com o modelo linear e COD_R o coeficiente de determinação calculado com a variante não linear.

A análise estatística do COD entre as coletas (fig. 28) apresentou diferença estatística (ANOVA, $p < 0,0001$) entre as médias. O teste *post hoc* exibiu significância estatística entre os pares de coletas: Basal-MCh 50 mg/mL, Basal-MCh 100 mg/mL, PBS-MCh 50 mg/mL, PBS-MCh 100 mg/mL.

Figura 28 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para o coeficiente de determinação do modelo com resistência dependente do fluxo nos instantes de tempo representativos calculado para os dois últimos terços do sinal. As médias são estatisticamente diferentes (ANOVA, $p < 0,0001$). As diferenças apresentadas pelo teste *post hoc* estão representadas pelos símbolos. Barras com mesmo símbolo apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

Quanto à divisão do sinal em expirações e inspirações para o parâmetro K_2 , não houve diferença estatística entre as expirações, inspirações e dois terços do sinal (tabela 5).

Tabela 5 – Médias e desvios padrão do parâmetro K_2 para os dois últimos terços do sinal (K_2), expirações ($K_2 \text{ exp1}$ e $K_2 \text{ exp2}$) e inspirações ($K_2 \text{ insp1}$ e $K_2 \text{ insp2}$).

	Parâmetros	Média	DP
Basal ($\text{cmH}_2\text{O} \cdot \text{s}^2 / \text{mL}^2$)	K_2	0,002	0,086
	$K_2 \text{ exp1}$	-0,040	0,139
	$K_2 \text{ exp2}$	-0,059	0,124
	$K_2 \text{ insp1}$	0,131	0,220
	$K_2 \text{ insp2}$	-0,094	0,290
PBS ($\text{cmH}_2\text{O} \cdot \text{s}^2 / \text{mL}^2$)	K_2	-0,005	0,094
	$K_2 \text{ exp1}$	-0,081	0,221
	$K_2 \text{ exp2}$	0,006	0,066
	$K_2 \text{ insp1}$	0,113	0,239
	$K_2 \text{ insp2}$	0,032	0,252
MCh 50 mg/mL ($\text{cmH}_2\text{O} \cdot \text{s}^2 / \text{mL}^2$)	K_2	-0,184	0,239
	$K_2 \text{ exp1}$	-0,350	0,422
	$K_2 \text{ exp2}$	-0,401	0,479
	$K_2 \text{ insp1}$	-0,473	0,493
	$K_2 \text{ insp2}$	-0,537	0,443
MCh 100 mg/mL ($\text{cmH}_2\text{O} \cdot \text{s}^2 / \text{mL}^2$)	K_2	-2,469	3,643
	$K_2 \text{ exp1}$	-0,798	0,759
	$K_2 \text{ exp2}$	-0,554	0,712
	$K_2 \text{ insp1}$	-2,583	2,040
	$K_2 \text{ insp2}$	-2,454	2,439

4.5 VARIANTE NÃO LINEAR COM ELASTÂNCIA DEPENDENTE DO VOLUME

A variante não linear com elastância dependente do volume apresentou um comportamento da constante E_1 muito semelhante ao comportamento do parâmetro E do modelo linear unicompartmental (o teste t não revelou diferenças entre as médias dos instantes selecionados) (tabela 6).

Tabela 6 – Médias e desvios padrão dos parâmetros E e E_1 das coletas.

Parâmetros ($\text{cmH}_2\text{O} / \text{mL}$)	Basal		PBS		MCh 50 mg/mL		MCh 100 mg/mL	
	E	E_1	E	E_1	E	E_1	E	E_1
Média	30,643	32,186	30,898	32,876	68,274	66,604	127,414	122,402
DP	7,995	8,327	8,178	10,142	19,998	17,093	62,052	61,141

Quando o parâmetro E_2 foi avaliado, não houve diferença estatística (ANOVA) das médias para os instantes selecionados. Contudo, é possível ver na fig. 29 um evidente aumento no desvio padrão após as administrações das doses de metacolina.

Figura 29 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores de E_2 durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal. As setas indicam a posição inicial de cada coleta.

A resistência (R) dos instantes selecionados do modelo linear foi comparada com a do modelo de elastância dependente do volume (R_E). A comparação dos dois últimos terços do sinal revelou que não houve diferença estatística entre as médias (tabela 7).

Tabela 7 – Médias e desvios padrão dos parâmetros R e R_E das coletas.

Parâmetros ($cmH_2O \cdot s/mL$)	Basal		PBS		MCh 50 mg/mL		MCh 100 mg/mL	
	R	R_E	R	R_E	R	R_E	R	R_E
Média	0,540	0,539	0,571	0,570	3,112	3,113	4,857	4,863
DP	0,130	0,129	0,093	0,092	1,219	1,216	2,329	2,331

Obs. R é a resistência calculada com o modelo linear e R_E a resistência calculada com a variante não linear.

Da mesma maneira, o coeficiente de determinação do modelo linear (COD) comparado com o coeficiente de determinação do modelo de elastância dependente do volume (COD_E) também não apresentou diferença (tabela 8).

Tabela 8 – Médias e desvios padrão do coeficiente de determinação das coletas.

	Basal		PBS		MCh 50 mg/mL		MCh 100 mg/mL	
	COD	COD_E	COD	COD_E	COD	COD_E	COD	COD_E
Média	0,998	0,998	0,997	0,998	0,993	0,994	0,983	0,984
DP	0,001	0,001	0,001	0,001	0,004	0,003	0,015	0,015

Obs. COD é o coeficiente de determinação calculado com o modelo linear e COD_E o coeficiente de determinação calculado com a variante não linear.

A análise estatística do COD entre as coletas (fig. 30) apresentou diferença estatística (ANOVA, $p < 0,01$) entre as médias. O teste *post hoc* apresentou significância estatística entre os pares de coletas: Basal-MCh 100 mg/mL, e PBS-MCh 100 mg/mL.

Figura 30 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para o coeficiente de determinação do modelo com elastância dependente do volume nos instantes de tempo representativos calculado para os dois últimos terços do sinal. As médias são estatisticamente diferentes (ANOVA, $p < 0,01$). As diferenças apresentadas pelo teste *post hoc* estão representadas pelos símbolos. Barras com mesmo símbolo apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

Para o parâmetro E_2 quanto à comparação entre expirações, inspirações e dois terços do sinal, houve diferença estatística entre as médias da coleta MCh 50 mg/mL (ANOVA, $p < 0,05$). O teste *post hoc* apontou diferença apenas entre o parâmetro E_2 da expiração 2 com a inspiração 2 ($p < 0,05$) (tabela 9).

Tabela 9 – Médias e desvios padrão do parâmetro E_2 para os dois últimos terços do sinal (E_2), expirações (E_2 exp1 e E_2 exp2) e inspirações (E_2 insp1 e E_2 insp2).

	Parâmetros	Média	DP
Basal (cmH_2O/mL^2)	E_2	-9,579	8,456
	E_2 exp1	-5,926	34,871
	E_2 exp2	-19,581	45,480
	E_2 insp1	-36,912	64,013
	E_2 insp2	22,434	67,694
PBS (cmH_2O/mL^2)	E_2	-13,376	14,890
	E_2 exp1	-17,897	54,795
	E_2 exp2	4,353	12,737
	E_2 insp1	-24,930	58,642
	E_2 insp2	3,958	67,233
MCh 50 mg/mL* (cmH_2O/mL^2)	E_2	8,234	93,984
	E_2 exp1	16,998	29,274
	E_2 exp2	-20,553 ^a	87,458
	E_2 insp1	145,065	189,720
	E_2 insp2	191,621 ^a	183,896
MCh 100 mg/mL (cmH_2O/mL^2)	E_2	58,728	117,999
	E_2 exp1	2,145	255,411
	E_2 exp2	-20,809	224,477
	E_2 insp1	197,890	414,151
	E_2 insp2	95,065	580,001

* ANOVA, $p < 0,05$; ^a teste *post hoc* de Tukey, $p < 0,05$.

4.6 VARIANTE NÃO LINEAR COM RESISTÊNCIA DEPENDENTE DO FLUXO E ELASTÂNCIA DEPENDENTE DO VOLUME

A variante não linear com resistência dependente do fluxo e elastância dependente do volume apresentou comportamento das constantes K_1 e E_1 muito semelhantes ao comportamento das constantes R e E , respectivamente, do modelo

linear unicompartmental (o teste t não revelou diferenças entre as médias dos instantes selecionados para o dois últimos terços do sinal) (tabelas 10 e 11).

Tabela 10 – Médias e desvios padrão dos parâmetros R e K_1 das coletas.

Parâmetros ($cmH_2O \cdot s / mL$)	Basal		PBS		MCh 50 mg/mL		MCh 100 mg/mL	
	R	K_1	R	K_1	R	K_1	R	K_1
Média	0,540	0,506	0,571	0,540	3,112	3,318	4,857	6,881
DP	0,130	0,217	0,093	0,155	1,219	1,341	2,329	4,641

Tabela 11 – Médias e desvios padrão dos parâmetros E e E_1 das coletas.

Parâmetros (cmH_2O / mL)	Basal		PBS		MCh 50 mg/mL		MCh 100 mg/mL	
	E	E_1	E	E_1	E	E_1	E	E_1
Média	30,644	32,233	30,899	32,908	68,274	65,947	127,415	113,341
DP	7,995	8,203	8,179	10,069	19,999	16,754	62,052	50,821

Não houve variação nas médias do parâmetro E_2 para os instantes selecionados de cada coleta. Entretanto, observa-se uma grande variação no desvio padrão durante as coletas do experimento (fig. 31).

Figura 31 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores de E_2 durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal. As setas indicam a posição inicial de cada coleta.

Para o modelo K_2 , o teste ANOVA demonstrou diferença estatística entre as médias ($p < 0,01$). O teste *post hoc* revelou diferença entre os pares de coletas: Basal-MCh 100 mg/mL, PBS-MCh 100 mg/mL e para MCh 50 mg/mL-MCh 100 mg/mL. A fig. 32 apresenta o comportamento do parâmetro K_2 durante as coletas.

Figura 32 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores de K_2 durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal. As setas indicam a posição inicial de cada coleta.

A comparação entre os parâmetros E_2 do modelo com elastância dependente do volume e do modelo dependente do fluxo e volume não demonstrou diferença estatística entre as médias para os instantes selecionados com os dois terços do sinal (tabela 12).

Tabela 12 – Médias e desvios padrão do parâmetro E_2 das coletas do modelo com elastância dependente do volume (E_2^a) e do modelo com resistência dependente do fluxo e elastância dependente do volume (E_2^b).

Parâmetros (cmH_2O/mL^2)	Basal		PBS		MCh 50 mg/mL		MCh 100 mg/mL	
	E_2^a	E_2^b	E_2^a	E_2^b	E_2^a	E_2^b	E_2^a	E_2^b
Média	-9,756	-9,579	-13,507	-13,376	12,861	8,234	80,334	58,728
DP	8,129	8,456	14,454	14,891	99,995	93,984	119,141	117,999

Obs. E_2^a é o parâmetro E_2 calculado com o modelo com elastância dependente do volume e E_2^b o parâmetro E_2 calculado com o modelo com resistência dependente do fluxo e elastância dependente do volume.

Da mesma maneira, o parâmetro K_2 do modelo com resistência dependente do fluxo e do modelo dependente do volume e fluxo não apresentou diferença estatística entre as médias para o mesmo trecho de sinal (tabela 13).

Tabela 13 – Médias e desvios padrão do parâmetro K_2 das coletas do modelo com resistência dependente do fluxo (K_2^a) e do modelo com resistência dependente do fluxo e elastância dependente do volume (K_2^b).

Parâmetros ($cmH_2O \cdot s^2/mL^2$)	Basal		PBS		MCh 50 mg/mL		MCh 100 mg/mL	
	K_2^a	K_2^b	K_2^a	K_2^b	K_2^a	K_2^b	K_2^a	K_2^b
Média	0,019	0,002	0,017	-0,005	-0,224	-0,184	-1,526	-2,469
DP	0,080	0,086	0,080	0,094	0,360	0,239	1,706	3,643

Obs. K_2^a é o parâmetro K_2 calculado com o modelo com resistência dependente do fluxo e K_2^b o parâmetro K_2 calculado com o modelo com resistência dependente do fluxo e elastância dependente do volume.

A comparação entre o COD do modelo linear unicompartmental com o COD do modelo dependente do volume e fluxo (COD_{R-E}) não apresentou diferença estatística entre as médias para os dois terços do sinal (tabela 14).

Tabela 14 – Médias e desvios padrão do coeficiente de determinação das coletas do modelo linear unicompartmental e do modelo com resistência dependente do fluxo e elastância dependente do volume.

	Basal		PBS		MCh 50 mg/mL		MCh 100 mg/mL	
	COD	COD_{R-E}	COD	COD_{R-E}	COD	COD_{R-E}	COD	COD_{R-E}
Média	0,998	0,998	0,997	0,998	0,993	0,994	0,983	0,991
DP	0,001	0,001	0,001	0,001	0,004	0,003	0,015	0,004

Obs. COD é o coeficiente de determinação calculado com o modelo linear e COD_{R-E} o coeficiente de determinação calculado com a variante não linear.

A análise estatística do COD entre as coletas (fig. 33) apresentou diferença estatística (ANOVA, $p < 0,0001$) entre as médias. O teste *post hoc* apresentou significância estatística entre os pares de coletas: Basal-MCh 50 mg/mL, Basal-MCh 100 mg/mL, PBS-MCh 50 mg/mL, PBS-MCh 100 mg/mL.

Figura 33 – Gráfico de médias com desvio padrão em barras para o coeficiente de determinação do modelo com resistência dependente do fluxo e elastância dependente do volume nos instantes de tempo representativos calculado para os dois últimos terços do sinal. As médias são estatisticamente diferentes (ANOVA, $p < 0,0001$). As diferenças apresentadas pelo teste *post hoc* estão representadas pelos símbolos. Barras com mesmo símbolo apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

Para o parâmetro E_2 quanto à comparação entre expirações, inspirações e dois terços do sinal, houve diferença estatística entre as médias da coleta MCh 100 mg/mL (ANOVA, $p < 0,01$). O teste *post hoc* apontou uma diferença apenas entre o parâmetro E_2 da expiração 2 com a inspiração 1 (tabela 15).

Tabela 15 – Médias e desvios padrão do parâmetro E_2 para os dois últimos terços do sinal (E_2), expirações (E_2 exp1 e E_2 exp2) e inspirações (E_2 insp1 e E_2 insp2).

	Parâmetros	Média	DP
Basal (cmH_2O/mL^2)	E_2	-9,756	8,129
	E_2 exp1	26,891	46,856
	E_2 exp2	-22,552	122,131
	E_2 insp1	-25,381	144,165
	E_2 insp2	19,740	68,723
PBS (cmH_2O/mL^2)	E_2	-13,507	14,454
	E_2 exp1	11,444	44,896
	E_2 exp2	13,596	101,294
	E_2 insp1	19,047	103,536
	E_2 insp2	69,613	82,569
MCh 50 mg/mL (cmH_2O/mL^2)	E_2	12,861	99,995
	E_2 exp1	450,236	194,508
	E_2 exp2	278,243	418,503
	E_2 insp1	70,012	359,688
	E_2 insp2	135,993	287,512
MCh 100 mg/mL* (cmH_2O/mL^2)	E_2	80,334	119,141
	E_2 exp1	811,198	706,012
	E_2 exp2 ^a	1046,938	1055,424
	E_2 insp1 ^a	-54,679	541,717
	E_2 insp2	107,156	390,408

* ANOVA, $p < 0,01$; ^a teste *post hoc* de Tukey, $p < 0,05$.

Quanto ao parâmetro K_2 , a comparação entre expirações, inspirações e dois terços do sinal, houve diferença estatística entre as médias da coleta PBS (ANOVA, $p < 0,05$) e para a coleta MCh 50 mg/mL (ANOVA, $p < 0,01$). Na coleta PBS, o teste

post hoc apontou uma diferença entre o parâmetro K_2 da expiração 1 com a inspiração 2. Já na coleta MCh 50 mg/mL, o teste *post hoc* indicou diferença entre o K_2 com dois terços do sinal em comparação com a expiração 1 e diferença entre a expiração 1 e inspiração 2 (tabela 16).

Tabela 16 – Médias e desvios padrão do parâmetro K_2 para os dois últimos terços do sinal (K_2), expirações ($K_{2,exp1}$ e $K_{2,exp2}$) e inspirações ($K_{2,insp1}$ e $K_{2,insp2}$).

	Parâmetros	Média	DP
Basal ($cmH_2O \cdot s^2 / mL^2$)	K_2	0,019	0,080
	$K_{2,exp1}$	-0,134	0,226
	$K_{2,exp2}$	0,004	0,319
	$K_{2,insp1}$	0,188	0,192
	$K_{2,insp2}$	-0,049	0,354
PBS* ($cmH_2O \cdot s^2 / mL^2$)	K_2	0,017	0,080
	$K_{2,exp1}^a$	-0,135	0,162
	$K_{2,exp2}$	-0,121	0,299
	$K_{2,insp1}$	0,171	0,367
	$K_{2,insp2}^a$	0,255	0,316
MCh 50 mg/mL** ($cmH_2O \cdot s^2 / mL^2$)	K_2^b	-0,224	0,360
	$K_{2,exp1}^{b,c}$	-1,936	0,902
	$K_{2,exp2}$	-1,436	1,670
	$K_{2,insp1}$	-0,347	1,093
	$K_{2,insp2}^c$	-0,234	0,913
MCh 100 mg/mL ($cmH_2O \cdot s^2 / mL^2$)	K_2	-1,526	1,706
	$K_{2,exp1}$	-3,102	2,100
	$K_{2,exp2}$	-3,272	2,751
	$K_{2,insp1}$	-3,254	2,788
	$K_{2,insp2}$	-2,577	3,148

* ANOVA, $p < 0,05$; ** ANOVA, $p < 0,01$; ^{a,b,c} teste *post hoc* de Tukey, $p < 0,05$.

4.7 $\%E_2$

As figuras 34 e 35 apresentam os valores da $\%E_2$ durante as coletas para os modelos dos tópicos 4.5 e 4.6, respectivamente.

A $\%E_2$ do modelo com elastância dependente de volume (fig. 34) não apresentou diferença estatística entre os instantes selecionados de cada coleta para os dois terços do sinal.

Figura 34 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores da $\%E_2$ durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal com o modelo de elastância dependente de volume. As setas indicam a posição inicial de cada coleta.

Já a $\%E_2$ do modelo de resistência dependente do fluxo e elastância dependente de volume (fig. 35) apresentou diferença estatística (ANOVA, $p < 0,05$) entre as médias, mas o teste *post hoc* não indicou diferença na comparação entre a combinação de pares.

Figura 35 – Gráfico de médias com desvio padrão dos valores da $\%E_2$ durante as coletas para análise dos dois últimos terços do sinal com o modelo de resistência dependente do fluxo e elastância dependente de volume. As setas indicam a posição inicial de cada coleta.

5 DISCUSSÃO

Os modelos lineares no domínio do tempo apresentados neste trabalho têm sido aplicados por muitos anos na prática clínica. Estes modelos têm muita utilidade na obtenção de parâmetros do sistema respiratório de pacientes com doenças que afetam a mecânica respiratória. A escolha dos modelos no domínio do tempo nesta dissertação foi devido à robustez, ao seu emprego em modelo animal ter uma gama de publicações em periódicos (BERSTEN, 1998; JONASSON et al., 2009; WAGERS et al., 2002) e à versatilidade nos cálculos, que possibilita fácil implementação de modelos com variantes não lineares (JANDRE et al., 2008; KANO et al., 1994).

Os modelos no domínio da frequência, no entanto, têm uma maior complexidade em seus cálculos e os experimentos em modelo animal apresentam maior dificuldade na realização dos experimentos (exigindo excelente habilidade técnica do operador). Além disso, os modelos no domínio da frequência não possuem variantes não lineares consagradas na literatura.

Como apresentado no capítulo 2, o modelo linear unicompartimental é uma representação simples dos componentes do sistema respiratório. Apesar de sua simplicidade, é capaz de fornecer aos pesquisadores informações quantitativas valiosas quanto à mecânica respiratória. A resistência e a elastância observadas neste modelo têm significado fisiológico direto, ou seja, a resistência significa majoritariamente o impedimento à passagem de ar pelas vias aéreas (ou o atrito da passagem do ar pelos ductos aéreos) (CARVALHO; ZIN, 2011) e a elastância assume principalmente a dificuldade em se expandir os compartimentos alveolares (BATES, 2009).

A curva dose-resposta abordada neste trabalho utilizou as concentrações de 50 e 100 mg/mL de MCh. Contudo, curvas dose-resposta tradicionais (JONASSON et al., 2009) normalmente apresentam um número maior de aplicações de metacolina. Porém, devido a dificuldades técnicas, como manter o animal vivo durante o extenso procedimento (devido à inclusão dos grupos Basal, PBS e as perturbações de TLC), escolheu-se por realizar apenas duas aplicações da droga.

A rotina computacional desenvolvida para esta dissertação teve seu algoritmo baseado na literatura (BATES, 2009) e forneceu resultados do modelo linear

unicompartimental compatíveis com os resultados apresentados pelo software do ventilador mecânico para pequenos animais (*flexiVent 5.2*, SCIREQ, Canadá). Além disso, os dados armazenados de pressão e volume obtidos pelos transdutores permitiram o cálculo dos modelos com variantes não lineares.

Os cálculos de calibração da cânula realizados forneceram como parâmetros (tabela 1) a elastância do gás (E_{gas}), obtido com a “calibração fechada”, e a resistência do tubo (R_{tube}) e a inertância do tubo (I_{tube}), obtidos com a “calibração aberta”. Entretanto, o software do ventilador mecânico (*flexiVent 5.2*, SCIREQ, Canadá) fornece como resultado da “calibração fechada”, além do E_{gas} , o parâmetro R_s (resistência devido ao vazamento do circuito pneumático), o que nos leva a acreditar que as equações desta calibração tenham sido diferentes da utilizada neste trabalho. Mesmo assim, os cálculos de calibração foram obtidos com referência na literatura (BATES et al., 1997) e a inclusão do parâmetro R_s é importante principalmente quando há vazamentos no circuito. No caso específico dessa pesquisa, tentou-se minimizar os vazamentos no circuito pneumático realizando-se testes de pressurização e monitoramento com manômetro de coluna d’água antes do experimento.

Os experimentos utilizados por essa pesquisa foram realizados com nebulização da metacolina (WAGERS et al., 2002) ao invés da administração via intravenosa (JONASSON et al., 2009). Esta abordagem é mais clássica, mas traz alguns problemas, como o aumento do espaço morto do circuito pneumático com consequente aumento da ocorrência de vazamentos. A nebulização aproxima-se mais da situação utilizada, por exemplo, em um teste de espirometria. Segundo Jonasson et al. (2009), a administração de forma inalada talvez cause uma má distribuição do fármaco pela árvore traqueobrônquica, levando a uma resposta heterogênea das vias aéreas periféricas, o que caracterizaria um comportamento não linear.

O modelo linear unicompartimental pressupõe que os pulmões sejam ventilados homogeneamente (BATES, 2005). Contudo, a administração de broncoconstritores causa heterogeneidade regional na pressão alveolar (BATES; SUKI, 2008). Com base nisso, a perturbação em volume denominada pelo ventilador de capacidade pulmonar total (TLC) foi realizada para o recrutamento dos alvéolos e

diminuição da heterogeneidade pulmonar. A pressão de 30 cmH_2O para a TLC é utilizada por outro grupo de pesquisa (TANKERSLEY; RABOLD; MITZNER, 1999). Apesar de esta pressão parecer drástica (em comparação com a PEEP de 3 cmH_2O), Soutiere e Mitzner (2003) não encontraram danos pulmonares irreversíveis nas pressões pesquisadas (de 30 a 60 cmH_2O) e concluíram que os pulmões de camundongos não atingem um platô de volume, expandindo-se até a ruptura.

O aumento dos parâmetros resistência (R) e elastância (E) do sistema respiratório após a administração do agente broncoativo metacolina (figuras 18, 19, 21 e 22) pode ser esclarecido pela contração da musculatura lisa dos brônquios e bronquíolos.

Uma possível explicação fisiológica para o aumento na resistência das vias aéreas (fig. 19) se deve à contração da musculatura lisa, causando a diminuição do calibre das vias aéreas. Esta diminuição no diâmetro aumenta a dificuldade da passagem do ar pelos ductos aéreos, exigindo um maior gradiente de pressão para se alcançar o mesmo fluxo de quando a musculatura estava relaxada (BATES, 2009).

Contudo, os parâmetros obtidos com o modelo linear de um compartimento são teoricamente válidos apenas se o ajuste da curva for adequado. Além disso, a resistência total do sistema respiratório não pode ser designada somente à resistência das vias aéreas. Acredita-se, atualmente, que o tecido dissipe energia em forma de calor, pela denominada resistência do tecido. Assim, a resistência pulmonar é a soma da resistência do tecido com a resistência das vias aéreas (BATES, 2005). Além disso, existe também a resistência da parede torácica, que pode influenciar na análise da resistência do sistema respiratório (BRITO et al., 2012), ou seja, a resistência total é a soma da resistência dos pulmões (tecido e vias aéreas) mais a resistência da parede torácica. À luz dessas informações, o modelo de tubo e balão (fig. 4) é apenas uma simplificação do sistema respiratório e, apesar dos parâmetros do modelo apresentarem significado fisiológico, o modelo permite apenas uma visão global dos fenômenos resistivos e elásticos presentes na avaliação da mecânica respiratória.

O aumento da elastância (fig. 18), por sua vez, pode ser elucidado pela distribuição dos alvéolos nos pulmões. Os alvéolos estão distribuídos de tal forma

que são interdependentes, ou seja, se um grupo de alvéolos é estirado, esta força de estiramento irá se espalhar para os alvéolos que estiverem ao seu redor. Assim, a broncoconstrição originada pela metacolina causa o estiramento dos alvéolos próximos aos brônquios e bronquíolos, aumentando a rigidez do parênquima pulmonar. O parênquima mais rígido dificulta a insuflação dos compartimentos alveolares, ou seja, aumentando a elastância pulmonar. De modo interessante, a fibrose cística, que causa o enrijecimento do parênquima pulmonar, causa um aumento na elastância pulmonar (COHEN, 2004) e o enfisema, causado pela destruição da estrutura do parênquima pulmonar, causa a diminuição deste parâmetro (BRITO et al. 2012).

Entretanto, do mesmo modo que foi explicado para a resistência, é importante destacar que a elastância do sistema respiratório é influenciada não só pelo parênquima pulmonar (elastância pulmonar), mas também pela elastância da parede torácica (CARVALHO; ZIN, 2011). Assim, a elastância do sistema respiratório é a soma da elastância pulmonar e da parede torácica. O modelo linear unicompartimental obtido com a técnica de oscilação forçada (FOT) (com a parede torácica intacta) não permite que a elastância do sistema respiratório seja separada em pulmonar e torácica.

Para se conseguir bons ajustes de curvas de pressão com o modelo linear unicompartimental, contudo, é necessário que alguns critérios de linearidade sejam respeitados. Ou seja, o modelo linear em termos teóricos não deveria ser aplicado quando em situações onde os pulmões são insuflados a altos volumes pulmonares ou na presença de patologias que afetam a mecânica pulmonar (BATES, 2005). Acredita-se que tais situações causem o aumento da não linearidade do sistema e, como o modelo unicompartimental é linear, a aplicação do modelo seria inadequada do ponto de vista puramente teórico.

Consequentemente, supõe-se que a queda no *coeficiente de determinação* (*COD*) observada nas figuras 20 e 23 após a administração da metacolina ocorreu devido ao aumento da não linearidade do sistema respiratório. Além disso, não houve diferença estatística entre os grupos Basal e PBS, demonstrando que o veículo da droga (a solução tampão fosfato-salina ou PBS) não causa broncoconstrição nem aumento de não linearidade. Assim, apesar da tentativa de explicar os parâmetros resistência e elastância com significados fisiológicos, o

modelo linear unicompartmental, teoricamente, nem sempre é capaz de realizar ajustes às curvas de pressão de forma adequada.

O modelo não linear com resistência dependente do fluxo tem sua pressão devido à resistência baseada na equação de *Rohrer* (eq.(22)) (ROHRER, 1915). Encontram-se na literatura algumas tentativas de se explicar os parâmetros K_1 e K_2 da equação de *Rohrer*. Contudo, como abordado no tópico 2.4.1, Bates (2009) afirma que não há base científica que comprove tal afirmação. Apesar de não possuir um significado físico comprovado, a equação de *Rohrer* é útil para se retirar o viés causado pelo tubo endotraqueal (ETT) (JANDRE et al., 2008). O ETT é utilizado em pacientes traqueostomizados e pode aumentar o trabalho resistivo do circuito pneumático e causar uma maior perda de volume no início da inspiração (ROCCO; ZIN, 1995).

A análise dos dados da variante não linear com resistência dependente do fluxo revelou que o parâmetro K_1 se comportou de forma muito similar ao parâmetro R do modelo linear unicompartmental (tabela 2). A elastância (E) e o COD do modelo linear comparados com a elastância e o COD do modelo com resistência dependente do fluxo também não apresentaram diferença estatística significativa (tabelas 3 e 4). No entanto, a constante K_2 apresentou diferença na média ($p < 0,05$) e uma grande variação no desvio padrão após a administração do broncoconstritor (fig. 27). Em concordância com este trabalho, os pesquisadores Kano et al. (1994) e Wagers et al. (2002) também revelaram que não houve grandes melhoras com o ajuste das curvas utilizando o modelo com resistência dependente do fluxo.

Assim como há uma tentativa de se designar um significado fisiológico para os parâmetros K_1 e K_2 , há também para os parâmetros E_1 e E_2 do modelo não linear com elastância dependente do volume. O parâmetro E_1 , componente independente do volume, representaria a inclinação da curva pressão-volume no início da inspiração e o parâmetro E_2 , que faz parte do componente dependente do volume ($E_2 \cdot V$), seria a concavidade desta mesma curva ao longo da inspiração (CARVALHO; ZIN, 2011).

Os resultados apresentados nesta dissertação revelaram que o parâmetro E_1 do modelo com elastância dependente do volume se comportou de forma muito

semelhante ao parâmetro E do modelo linear (tabela 5). O parâmetro E_2 não apresentou diferença estatística entre as médias das coletas Basal, PBS, MCh 50 mg/mL e MCh 100 mg/mL, mas apresentou uma grande variação no desvio padrão após a administração das doses de metacolina (fig. 28). A resistência (R) e o COD do modelo linear quando comparados com o parâmetro R e o COD do modelo com elastância dependente do volume não demonstraram diferença estatística significativa (tabelas 6 e 7).

Wagers et al. (2002) observaram que o modelo com elastância dependente do volume só apresentou melhora significativa dos dados em camundongos Balb/c (PEEP = 3 cmH_2O) em animais sensibilizados com ovalbumina e após a nebulização de metacolina. Contudo, sabe-se que a linhagem C57BL/6 possui uma resposta mais branda à metacolina (CHEN et al., 2006).

Os resultados do modelo com resistência dependente do fluxo e elastância dependente do volume demonstraram que, da mesma forma que as outras duas variantes não lineares, os parâmetros independentes do volume e fluxo (E_1 e K_1 , respectivamente) apresentaram comportamento semelhante aos parâmetros E e R do modelo linear unicompartimental (tabelas 10 e 11). É possível perceber nas figuras 29 e 30 que ocorre um grande aumento no desvio padrão após a administração da metacolina para os parâmetros E_2 e K_2 , porém só houve significância estatística na média para o segundo.

A comparação do parâmetro E_2 calculado pela variante com elastância dependente do volume e calculado pela variante com elastância dependente do volume e resistência dependente do fluxo não apresentou diferença estatística para as médias (tabela 12). Da mesma forma, o parâmetro K_2 calculado pela variante com resistência dependente do fluxo e calculado pela variante com elastância dependente do volume e resistência dependente do fluxo também não apresentou diferença estatística para as médias (tabela 13). Conclui-se que o mesmo parâmetro nos modelos diferentes mantém valores aproximados.

A grande variação no desvio padrão para os parâmetros encontrados após a administração da metacolina demonstra que os animais responderam de formas diferentes à administração da droga. É possível que isso tenha ocorrido devido à heterogeneidade pulmonar causada pela broncoconstrição. A heterogeneidade

poderia ter afetado de forma desigual os diferentes animais, levando a uma grande variação nos parâmetros.

A comparação do *COD* entre as coletas (Basal, PBS, MCh 50 mg/mL e MCh 100 mg/mL) apresentou, para o modelo linear unicompartimental e suas variantes não lineares, diferença significativa para a média. Observando-se as figuras 23, 28, 30 e 33 é possível constatar que ocorre uma deterioração do ajuste das curvas com a administração da metacolina. Poderia se esperar um *COD* mais elevado para as variantes não lineares após a administração do fármaco, o que não ocorreu. Uma possível explicação, é que os modelos utilizados (modelo linear e variantes não lineares) são todos unicompartimentais. Modelos unicompartimentais pressupõem que a ventilação ocorra de forma homogênea por todo o pulmão, e mesmo que o modelo seja não linear unicompartimental, não conseguirá descrever corretamente pulmões heterogêneos.

A $\%E_2$ foi originalmente desenvolvida por Kano et al. (1994) para se verificar a influência de não linearidades na estimativa dos parâmetros da mecânica respiratória e como uma forma de se constatar a hiperdistensão pulmonar. Acredita-se que valores acima de 30% seriam indicativos de hiperdistensão alveolar e valores negativos de recrutamento cíclico alveolar (JANDRE et al., 2008). As figuras 34 e 35 apresentam a $\%E_2$ para a variante com elastância dependente do volume e para a variante com resistência dependente do fluxo e elastância dependente do volume, respectivamente. É possível perceber em ambas as figuras uma leve tendência ao aumento da $\%E_2$, apesar de apenas o segundo modelo ter apresentado significância estatística para as médias. Observa-se também que há um grande desvio padrão, demonstrando uma grande diferença do parâmetro entre os camundongos pesquisados. Além disso, os valores negativos para os grupos Basal e PBS indicam que os animais podiam apresentar recrutamento cíclico alveolar, um possível indício de que a escolha da PEEP de 3 cmH_2O seria inadequada. A aparente tendência ao aumento da $\%E_2$ pode ser explicada pelo enrijecimento do tecido causado pelo agente broncoativo, como explicado anteriormente.

Para se descobrir qual seria a variação dos parâmetros durante os movimentos inspiratórios e expiratórios do pistão durante a perturbação em volume, o volume obtido foi separado em duas inspirações e duas expirações (fig. 13). Os resultados desta separação para a elastância (fig. 24) não apresentaram diferença

entre os grupos de cada coleta. Para a resistência do modelo linear (fig. 25), houve apenas uma diferença estatística para a média do grupo PBS (ANOVA, $p = 0,0353$), e o teste *post hoc* não apontou diferença entre os testes de comparação entre os pares.

A semelhança entre os parâmetros E e R encontrados na inspiração e na expiração pode ser explicada pelo fato do ventilador realizar tanto a inspiração como a expiração de forma ativa, ou seja, o ventilador simula um ciclo respiratório com a perturbação quasi-senoidal. Em alguns ventiladores é possível realizar a FOT apenas na inspiração, sendo que a expiração é realizada de forma passiva, nesses casos, haveria diferença entre os parâmetros obtidos na inspiração em comparação com a expiração.

A fig. 26 revela que o COD das inspirações e expirações isoladas apresentou melhora nas coletas Basal, PBS e MCh 50 mg/mL. Nota-se que o COD com os dois últimos terços do sinal é inferior nas três primeiras coletas. O ajuste do modelo nas expirações e inspirações provavelmente ocorreu pelo fato do ajuste ter sido feito em um trecho menor da curva.

No entanto, é necessário destacar que durante a FOT realizada no *flexiVent* (SCIREQ, Canadá) não há renovação de gás circulante, ou seja, o ar dentro do sistema é o mesmo durante toda a perturbação em volume, estando a válvula expiratória fechada neste intervalo de tempo. Este fato pode constituir um problema, pois não é um procedimento fisiológico e não reflete o comportamento do sistema respiratório durante uma respiração em repouso.

É conhecida a dependência em frequência do sistema respiratório, ou seja, os parâmetros dos modelos matemáticos aplicados no domínio do tempo irão ser diferentes conforme a frequência utilizada na perturbação em volume. Neste trabalho, os animais foram ventilados a 450 respirações por minuto e as avaliações da mecânica respiratória foram realizadas com perturbações de 2,5 Hz. Decidiu-se por ventilar os animais a 450 respirações por minuto (ou 7,5 Hz) para que o *drive* respiratório do animal fosse suprimido sem a utilização de bloqueadores musculares, prática empregada por outro grupo de pesquisa (BOZANICH et al., 2005). Já as perturbações foram realizadas a 2,5 Hz, pois se trata da perturbação em volume mais utilizada por outros grupos de pesquisa (CHEN et al., 2006; GURKAN et al., 2003).

Pode-se alegar que a ventilação a uma frequência alta poderia interferir na avaliação da mecânica respiratória realizada a uma frequência de 2,5 Hz e que o ideal seria utilizar a mesma frequência tanto na ventilação como na perturbação em volume utilizadas para análise. No entanto, acreditamos que a utilização de bloqueadores musculares também poderia afetar a avaliação da mecânica respiratória e nos diferentes cenários possíveis (frequências de ventilação, perturbação e linhagem de camundongo) existiriam considerações a serem realizadas (CHEN et al., 2006).

Curvas que apresentam bons ajustes com modelos matemáticos proporcionam, em geral, uma baixa soma dos resíduos quadrados (*SSR*). Como consequência, o *coeficiente de determinação* (eq.(35)) será mais próximo da unidade (considerando a unidade o ajuste ideal). Apesar de ser possível avaliar a qualidade de um ajuste de modelo com o *COD* ou a *SSR*, alguns autores (MOTULSKY; CHRISTOPOULOS, 2004, POLAK, 2011) advertem que tais métodos não podem ser utilizados como critério único para a escolha de um entre diversos modelos.

Isso se deve ao fato de que modelos com maior número de parâmetros normalmente realizam melhores ajustes de curvas. Na verdade, seria possível aumentar indefinidamente o número de parâmetros até que o ajuste perfeito fosse quase alcançado. Muramatsu et al. (2001), por exemplo, utilizaram uma equação polinomial biquadrática para representar a pressão de recolhimento elástico e observou melhora nos ajustes das curvas em comparação com o modelo linear unicompartimental. Contudo, os autores não abordam qual seria o significado fisiológico dos parâmetros encontrados para a elastância (4 no total). Assim, à medida que o número de parâmetros aumenta, aumenta-se também a complexidade do modelo, além de dificultar a analogia de cada parâmetro com a fisiologia do sistema estudado. Desta maneira, o objetivo neste caso é encontrar um equilíbrio entre a qualidade do ajuste da curva e a complexidade do modelo (BATES, 2009). Para se responder à pergunta de qual modelo tem maior probabilidade de ser o adequado, é necessária utilização de ferramentas estatísticas que corroborem a afirmação de que um modelo possa ser considerado melhor ou não que outro (POLAK, 2011).

A revisão bibliográfica demonstrou que ainda não há um consenso dos pesquisadores na área de mecânica respiratória em um modo específico de

comparação entre diferentes modelos. A variância estimada de ruído (ENV) e o teste F exigem que o ruído possua uma distribuição normal (BATES, 2009; MORIYA, 2003). Contudo, isto pode ser considerado um problema na utilização destes critérios, pois se observam nos ajustes variações determinísticas, o que desvaloriza a utilização destes métodos.

O critério de informação de Akaike (AIC) tem a vantagem de possibilitar a comparação de mais de dois modelos por vez (BATES, 2009). Contudo, o AIC não é um método estatístico baseado em teste de hipóteses e não se podem utilizar termos como “rejeição” ou “significância estatística” de certo modelo (BURNHAM; ANDERSON, 2002; MOTULSKY; CHRISTOPOULOS, 2004). Infelizmente, ainda não se convencionou para o AIC uma forma específica de escolha entre o modelo mais apropriado, devendo ser empregado com cautela no campo da mecânica respiratória.

Assim, tais métodos de escolha entre modelos ainda precisam ser estudados mais a fundo e mais publicações seriam necessárias para que a utilização de um critério em particular possa ser realizada com maior segurança.

Os resultados apresentados neste trabalho permitem inferir que o modelo linear ainda é o mais indicado na avaliação da mecânica respiratória, por ser mais robusto e fornecer parâmetros com significado fisiológico. Os modelos unicompartimentais com variantes não lineares seriam mais indicados como uma segunda opção em casos onde o modelo linear unicompartimental não é capaz de realizar ajustes adequados ou para se obter informações adicionais, como a $\%E_2$ para verificar recrutamento ou hiperdistensão alveolar.

6 CONCLUSÃO

O presente trabalho de mestrado buscou realizar a avaliação da mecânica respiratória em camundongos submetidos a desafios de agonista da musculatura lisa. Pretendia-se analisar os resultados obtidos através da aplicação de modelos matemáticos com ênfase no modelo linear de compartimento único e suas variantes não lineares.

Além disso, os objetivos específicos foram: estudar os modelos matemáticos aplicados na avaliação da mecânica respiratória; compreender o funcionamento do ventilador mecânico para pequenos animais (*flexiVent*, SCIREQ, Canadá) e aprender a operar seu software *flexiVent* 5.2; implementar uma rotina computacional própria para a análise de experimentos realizados no *flexiVent* e pesquisar e compreender as vantagens e desvantagens dos modelos matemáticos aplicados.

Os estudos dos modelos matemáticos aplicados na avaliação da mecânica respiratória foram apresentados no capítulo 2. A compreensão do funcionamento do ventilador mecânico para pequenos animais (*flexiVent*, SCIREQ, Canadá) pode ser encontrada no capítulo 3 e a operação do software *flexiVent* 5.2 foi compreendida em sua plenitude. A rotina computacional própria também foi desenvolvida e é capaz de aplicar todos os modelos matemáticos apresentados neste trabalho. Posteriormente, os capítulos 4 e 5 que abordam, respectivamente, os resultados e a discussão, demonstram que foi realizada uma pesquisa sobre os modelos matemáticos lineares e não lineares no domínio do tempo, abordados neste trabalho, e foram discutidas suas vantagens e desvantagens.

Ademais, foram também publicados dois trabalhos em anais de congresso e apresentados de forma oral (AOKI et al., 2012; BRITO et al., 2012) com temas relacionados a esta dissertação.

Portanto, pode-se concluir que todos os objetivos propostos inicialmente foram alcançados com êxito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOKI, F. G.; MENDES, E.; MORI, V.; GABRIEL, N. E.; MORIYA, H. T. Influência do tipo de cânulas de vias aéreas no estudo da ventilação mecânica respiratória em camundongos. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, 23., 2012, Porto de Galinhas. **Anais - CBEB2012**. Porto de Galinhas: SBEB, 2012. 1 CD-ROM

ARANTES-COSTA, F. M. **Influência da pressão parcial de CO₂ no sangue arterial sobre a responsividade pulmonar à metacolina: um estudo experimental em ratos**. 2000. 84 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

BATES, J. H. T. The temporal dynamics of acute induced bronchoconstriction. In: KHOO, M. C. K. (Ed.) **Bioengineering Approaches to Pulmonary Physiology and Medicine**. New York: Plenum Press, 1996. Ch. 14, p. 213-226.

BATES, J. H. T.; SCHUESSLER, T. F.; DOLMAN, C.; EIDELMAN, D. H. Temporal dynamics of acute isovolume bronchoconstriction in the rat. *J Appl Physiol*, v. 82, p. 55-62, 1997.

BATES, J. H. T.; IRVIN, C. G. Measuring lung function in mice: the phenotyping uncertainty principle. *J Appl Physiol*, v. 94, p. 1297-1306, 2003.

BATES, J. H. T. Measurement techniques in respiratory mechanics. In: HAMID, Q.; SHANNON, J.; MARTIN, J. (Eds.) **Physiologic Basis of Respiratory Disease**. Hamilton: BC Decker, 2005, Ch. 54, p. 623-637.

BATES, J. H. T.; SUKI, B. Assessment of peripheral lung mechanics. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, v. 163, p. 54-63, 2008.

BATES, J. H. T. **Lung Mechanics: An Inverse Modeling Approach**. 1st ed. New York: Cambridge University Press, 2009. 220p.

BATES, J. H. T.; RINCON, M.; IRVIN, C. G. Animal models of asthma. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, v. 297, p. L401-L410, 2009.

BERSTEN, A. D. Measurement of overinflation by multiple linear regression analysis in patients with acute lung injury. *Eur Respir J*, v. 12, p. 526-532, 1998.

BOZANICH, E. M.; COLLINS, R. A.; THAMRIN, C.; HANTOS, Z.; SLY, P. D.; TURNER, D. J. Developmental changes in airway and tissue mechanics in mice. *J Appl Physiol*, v. 99, p. 108-113, 2005.

BRITO, J. M.; AOKI, F. G.; GARCIA, E. K. I.; SANTOS, L. M. O.; SONCINI, R.; MORIYA, H. T. Avaliação da Mecânica Respiratória em Modelo Animal de Enfisema: Efeito da Caixa Torácica. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, 23., 2012, Porto de Galinhas. **Anais - CBEB2012**. Porto de Galinhas: SBEB, 2012. 1 CD-ROM

BURNHAM, K. P.; ANDERSON, D. R. **Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information-Theoretic Approach**. 2nd ed. New York: Springer, 2002. 488p.

CARVALHO, C. R. R.; TOUFEN JUNIOR, C.; FRANCA, S. A. Ventilação mecânica: princípios, análise gráfica e modalidades ventilatórias. *J Bras Pneumol*, v. 33, p. S54-S70, 2007.

CARVALHO, A. R.; ZIN, W. A. Respiratory system dynamical mechanical properties: modeling in time and frequency domain. *Biophysical Reviews*, v. 3, p. 71-84, 2011.

CHEN, B.; LIU, G.; SHARDONOFKY, F.; DOWELL, M.; LAKSER, O.; MITCHELL, R. W.; FREDBERG, J. J.; PINTO, L. H.; SOLWAY, J. Tidal breathing pattern differentially antagonizes bronchoconstriction in C57BL/6J vs. A/J mice. *J Appl Physiol*, v. 101, p. 249-255, 2006.

COBELLI, C.; CARSON, E. An Introduction to Modelling Methodology. In: CARSON, E.; COBELLI, C. **Modelling Methodology for Physiology and Medicine**. San Diego: Academic Press, 2001. Ch. 1, p. 1-13.

COHEN, J. C.; LUNDBLAD, L. K. A.; BATES, J. H. T.; LEVITZKY, M.; LARSON, J. E. The “Goldilocks Effect” in Cystic Fibrosis: identification of a lung phenotype in the *cftr* knockout and heterozygous mouse. *BMC Genetics*, v. 5, doi:10.1186/1471-2156-5-21, 2004.

D'ANGELO, E. Statics of the respiratory system. In: MILIC-EMILI, J.; LUCANGELO, U.; PESENTI, A.; ZIN, W. A. (Eds.) **Basics of Respiratory Mechanics and Artificial Ventilation: Topics in Anaesthesia and Critical Care**. Milano: Springer, 1999. Ch. 2, p. 9-19.

DEVORE, J. L. **Probability and Statistics for Engineering and the Sciences**. 4th ed. Pacific Grove: Duxbury Press, 1995. Appendix Tables, p. 709-710.

GASPAR, S; SILVA, A. M. P. R. Pressão Positiva no Final da Expiração e Pressão Positiva Contínua nas Vias Aéreas. In: AULER JÚNIOR, J. O. C.; GOMIDE DO AMARAL, R. V. (Orgs.) **Assistência Ventilatória Mecânica**. 1^a ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1995. Cap. 12, p. 145-154.

GURKAN, O. U.; O'DONNELL, C.; BROWER, R.; RUCKDESCHEL, E.; BECKER, P. M. Differential effects of mechanical ventilator strategy on lung injury and systemic organ inflammation in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, v. 285, p. L710-L718, 2003.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 9^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 1014p.

HANTOS, Z. Mechanical models of the respiratory system: non-linear and inhomogeneous models. In: MILIC-EMILI, J.; LUCANGELO, U.; PESENTI, A.; ZIN, W. A. (Eds.) **Basics of Respiratory Mechanics and Artificial Ventilation**: Topics in Anaesthesia and Critical Care. Milano: Springer, 1999. Ch. 8, p. 95-107.

HANTOS, Z.; BRUSASCO, V. Assessment of respiratory mechanics in small animals: the simpler the better? *J Appl Physiol*, v. 93, p. 1196-1197, 2002.

IRVIN, C. G.; BATES, J. H. T. Measuring the lung function in the mouse: the challenge of size. *Respir Res*, v. 4, doi:10.1186/rr199, 2003.

JANDRE, F. C.; MODESTO, F.C.; CARVALHO, A. R. S.; GIANNELLA-NETO, A. The endotracheal tube biases the estimates of pulmonary recruitment and overdistension. *Med Bio Eng Comput*, v. 46, p. 69-73, 2008.

JONASSON, S.; HEDENSTIERNA, G.; HEDENSTRÖM, H.; HJOBERG, J. Comparisons of effects of intravenous and inhaled methacholine on airway physiology in a murine asthma model. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, v. 165, p. 229-236, 2009.

KANO, S.; LANTERI, C. J.; DUNCAN, A. W.; SLY, P. D. Influence of nonlinearities on estimates of respiratory mechanics using multilinear regression analysis. *J Appl Physiol*, v. 77, p. 1185-1197, 1994.

LUNDBLAD, L. K. A.; IRVIN, C. G.; ADLER, A.; BATES, J. H. T. A reevaluation of the validity of unrestrained plethysmography in mice. *J Appl Physiol*, v. 93, p. 1198–1207, 2002.

MAKSYM, G. N.; BATES, J. H. T. A distributed nonlinear model of lung tissue elasticity. *J Appl Physiol*, v. 82, p. 32-41, 1997.

MOORE, B. B.; HOGABOAM, C. M. Murine models of pulmonary fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, v. 294, p. L152-L160, 2008.

MORIYA, H. T. **Contribuições não-lineares e aproximação no domínio do tempo do modelo de fase constante na mecânica respiratória em camundongos**. 2003. 112p. Tese (Doutorado) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MORIYA, H. T.; MORAES, J. C. T. B.; BATES, J. H. T. Nonlinear and Frequency-Dependent Mechanical Behavior of the Mouse Respiratory System. *Annals of Biomedical Engineering*, v. 31, p. 318-326, 2003.

MOTULSKY, H.; CHRISTOPOULOS, A. **Fitting Models to Biological Data Using Linear and Nonlinear Regression**. Oxford: Oxford University Press, 2004. 351p.

NUCCI, G.; COBELLI, C. Mathematical Models of Respiratory Mechanics. In: CARSON, E.; COBELLI, C. **Modelling Methodology for Physiology and Medicine**. San Diego: Academic Press, 2001. Ch. 10, p. 279-304.

OLIVEIRA, V. R. C.; COIMBRA, V. R. M.; AULER JÚNIOR, J. O. C. Ventilação Mandatória Controlada e Ventilação Mandatória Assistida. In: AULER JÚNIOR, J. O. C.; GOMIDE DO AMARAL, R. V. (Orgs.) **Assistência Ventilatória Mecânica**. 1ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1995. Cap. 1, p. 3-24.

PESLIN, R. Resistance measurements. Forced oscillations and plethysmography. In: MILIC-EMILI, J.; LUCANGELO, U.; PESENTI, A.; ZIN, W. A. (Eds.) **Basics of Respiratory Mechanics and Artificial Ventilation: Topics in Anaesthesia and Critical Care**. Milano: Springer, 1999. Ch. 4, p. 37-57.

PETÁK, F.; HANTOS, Z.; ADAMICZA, A.; ASZTALOS, T.; SLY, P. D. Methacholine-induced bronchoconstriction in rats: effects of intravenous vs. aerosol delivery. *J Appl Physiol*, v. 82, p. 1479-1487, 1997.

PILBEAM, S. P. **Mechanical Ventilation: Physiological and Clinical Applications.** 3rd ed. St. Louis: Mosby, 1998. 460p.

RAFF, H.; LEVITZKY, M. (Orgs.) **Medical Physiology: A Systems Approach.** New York: McGraw-Hill, 2011. 786p.

ROCCO, P. R. M.; ZIN, W. A. Modelling the mechanical effects of tracheal tubes in normal subjects. *Eur Respir J*, v. 8, p. 121-126, 1995.

ROHRER, F. Der Stromungswiderstand der unregelmässigen Verzweigung des Bronchialsystems auf den Atmungsverlauf in verschiedenen Lungenbezirken. *Pfluegers Arch*, v. 162, p. 225-299, 1915.

ROMERO, P. V. Alveolar micromechanics. In: MILIC-EMILI, J.; LUCANGELO, U.; PESENTI, A.; ZIN, W. A. (Eds.) **Basics of Respiratory Mechanics and Artificial Ventilation: Topics in Anaesthesia and Critical Care.** Milano: Springer, 1999. Ch. 10, p. 119-131.

ROMERO, P. V.; FAFFE, D. S.; CAÑETE, C. Dynamic nonlinearity of lung tissue: frequency dependence and harmonic distortion. *J Appl Physiol*, v. 111, p. 420-426, 2011.

RUBIN, A. S.; PEREIRA, C. A. C.; NEDER, J. A.; FITERMAN, J.; PIZZINCHINI, M. M. Hiperresponsividade brônquica. *J Pneumol*, v. 28, p. S101-S121, 2002.

RUSSELL, W.M.S.; BURCH, R.L. **The Principles of Humane Experimental Technique.** London: Methuen, 1959.

SALOMÃO NETO, J. M. Princípios de Funcionamento do Ventilador mecânico. In: AULER JÚNIOR, J. O. C.; GOMIDE DO AMARAL, R. V. (Orgs.) **Assistência Ventilatória Mecânica.** 1^a ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1995. Cap. 1, p. 3-24.

SCHWARTE, L. A.; ZUURBIER, C. J.; INCE, C. Mechanical ventilation of mice. *Basic Res Cardiol*, v. 95, p. 510-520, 2000.

SLY, P. D.; TURNER, D. J.; HANTOS, Z. Measuring lung function in murine models of pulmonary disease. *Drug Discovery Today: Dis Mod*, v. 1, p. 337-343, 2004.

SOUTIERE, S. E.; MITZNER, W. On defining total lung capacity in the mouse. *J Appl Physiol*, v. 96, p. 1658-1664, 2004.

TAMUL, P. C.; SCOPE, K.; CRAIG, L. Ventilators, acute medical care. In: WEBSTER, J. G. (Ed.) **Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation**. 2nd ed. Hoboken: John Wiley & Sons, v. 6, p. 505-514, 2006.

TANKERSLEY, C. G.; RABOLD, R.; MITZNER, W. Differential lung mechanics are genetically determined in inbred murine strains. *J Appl Physiol*, v. 86, p. 1764-1769, 1999.

WAGERS, S.; LUNDBLAD, L.; MORIYA, H. T.; BATES, J. H. T. Nonlinearity of respiratory mechanics during bronchoconstriction in mice with airway inflammation. *J Appl Physiol*, v. 92, p. 1802-1807, 2002.

WAUGH, J. B.; DESHPANDE, V. M.; HARWOOD, R. J. **Rapid Interpretation of Ventilator Waveforms**. 1st ed. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 1999. 144p.

WEST, J. B. **Fisiologia Respiratória**. 8^a ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2010. 232p.

WRIGHT, J. L.; COSIO, M.; CHURG, A. Animal models of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, v. 295, p. L1-L15, 2008.

ZIN, W. A.; PENGELLY, L. D.; MILIC-EMILI, J. Single-breath method for measurement of respiratory mechanics in anesthetized animals. *J Appl Physiol*, v. 52, p. 1266-1271, 1982.

ZIN, W. A.; ROCCO, P. R. M. Mecânica Respiratória Normal. In: AULER JÚNIOR, J. O. C.; GOMIDE DO AMARAL, R.V. (Orgs.) **Assistência Ventilatória Mecânica**. 1^a ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1995. Cap. 1, p. 3-24.

ZIN, W. A. Principles of measurement of respiratory mechanics. In: MILIC-EMILI, J.; LUCANGELO, U.; PESENTI, A.; ZIN, W. A. (Eds.) **Basics of Respiratory Mechanics and Artificial Ventilation**: Topics in Anaesthesia and Critical Care. Milano: Springer, 1999. Ch. 1, p. 3-8.

ZOSKY, G. R.; von GARNIER, C.; STUMBLES, P. A.; HOLT, P. G.; SLY, P. D.; TURNER, D. J. The pattern of methacholine responsiveness in mice is dependent of antigen challenge dose. *Respir Res*, v. 5, doi:10.1186/1465-9921-5-15, 2004.