

CRISTHIANO ADKSON SALES LIMA

**ESTIMATIVAS REGIONAIS DA PRESSÃO CRÍTICA DE
COLAPSO PULMONAR *IN VIVO* E *EX VIVO* EM MODELO
ANIMAL SOB VENTILAÇÃO MECÂNICA CONTROLADA**

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

Programa de Pneumologia

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Britto
Passos Amato

São Paulo

2022

CRISTHIANO ADKSON SALES LIMA

**ESTIMATIVAS REGIONAIS DA PRESSÃO CRÍTICA DE
COLAPSO PULMONAR *IN VIVO* E *EX VIVO* EM MODELO
ANIMAL SOB VENTILAÇÃO MECÂNICA CONTROLADA**

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

Programa de Pneumologia

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Britto
Passos Amato

São Paulo

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Lima, Cristhiano Adkson Sales
Estimativas regionais da pressão crítica de
colapso pulmonar in vivo e ex vivo em modelo animal
sob ventilação mecânica controlada / Cristhiano
Adkson Sales Lima. -- São Paulo, 2022.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Pneumologia.
Orientador: Marcelo Britto Passos Amato.

Descritores: 1.Respiração artificial 2.Pressão
transpulmonar 3.Pressão esofágica 4.Impedância
elétrica 5.Tomografia computadorizada 6.Síndrome do
desconforto respiratório do adulto

USP/FM/DBD-388/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedicatória

Aos meus pais, Maria Cléa e Carlos, pelos diversos ensinamentos de vida.

À minha avó, Gildete (*in memoriam*), pelo amor.

À minha irmã, Cleanny, pelo carinho e torcida.

Agradecimentos

Palavras de agradecimento se tornam limitadas quando me refiro ao meu orientador, Prof. Marcelo Amato. Com o entusiasmo sempre tempestivo; sinônimo de fé e que nunca deixa de acreditar nos seus.

Ao Mauro Tucci, ao qual chamamos carinhosamente de Maurão ou “padrinho” rs. O primeiro a me acolher e me mostrar todo o complexo FMUSP; sem ele não estaria aqui hoje.

Ao Prof. Eduardo Leite, pelos ensinamentos e discussões. Confesso que sempre que iniciávamos alguma discussão, seus pensamentos eram sempre além do racional do momento. Um verdadeiro gênio.

Ao Prof. Carlos Carvalho, pelo exemplo de chefe e por partilhar tanta sabedoria.

A Susi, pelas palavras de apoio e direcionamento. Acredite, seus ensinamentos transpassam a teoria e a prática.

Aos meus amigos de jornada: Caio, Miyuki, Nadja, Rollin, Vinícius Torsani, Robertinha, Osíres, Andrea, Mayson, Glasiele, Eder, Eduardo Rodrigues, Ana e Jade.

A todo o *staff* do PISA, ao qual sempre buscou se esforçar para que todo protocolo pudesse acontecer por completo, muitas vezes ultrapassando o horário estipulado.

A Otília e Silvinha; que nunca deixaram faltar nada durante os protocolos e que sempre estavam a disposição para que todo experimento pudesse acontecer de maneira completa.

A Jéssica, pelo indubitável apoio.

Esta pesquisa recebeu recursos do próprio Laboratório de Investigação Médica 09 (LIM09) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP); e bolsa de doutorado da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

Normatização adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento de sua publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L.Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas

Lista de Abreviaturas

Lista de Figuras

Resumo

Abstract

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Medida da pressão esofágica e cálculo da pressão transpulmonar	4
1.2	Calculando a complacência do <i>pixel</i> - TIE	5
2	HIPÓTESES.....	7
3	OBJETIVOS	8
3.1	Objetivo Primário	8
3.2	Objetivo secundário	8
4	MÉTODOS	9
4.1	ETAPAS DO ESTUDO	9
4.1.1	Construindo e validando os sensores pleurais.....	9
4.1.1	Construção e validação dos sensores pleurais.....	10
4.1.2	Preparo animal e monitorização	12
4.1.3	Critérios de exclusão	13
4.1.3.1	Critérios de interrupção do protocolo	14
4.1.4	Inserção cirúrgica dos sensores pleurais	14
4.1.5	Instalação do balão esofágico	16
4.1.6	Tomografia computadorizada.....	18

4.1.7	Tomografia por Impedância Elétrica	19
4.1.8	Protocolo intervencional	20
4.1.8.1	Pulmão normal	20
4.1.8.2	Pulmão com lesão - lavagem	20
4.1.8.3	Animal com peso no abdome	21
4.1.9	Curva Pressão – Volume do pulmão fora caixa torácica na Tomografia computadorizada	22
4.1.10	Curva Pressão – Volume (P-V) do pulmão suspenso fora da caixa torácica	23
4.2	ANÁLISE DOS DADOS	24
4.2.1	Medidas direta e indireta da pressão pleural	24
4.2.2	Complacência do <i>pixel</i> - TIE	25
4.2.3	Curva PEEP – $C_{est_{pulmão}}$ fora da caixa torácica	25
4.2.4	Medidas de colapso regional e pressão superimposta – TC	26
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	27
5	RESULTADOS	29
5.1	Complacência regional do <i>pixel</i> – TIE	30
5.2	Curva PEEP - $C_{est_{pulmão}}$ fora da caixa torácica	33
5.3	Curva PEEP - $C_{est_{pulmão}}$ fora da caixa torácica na TC	35
5.4	Colapso regional – TC	37
5.5	Gradiente vertical pleural e pressão superimposta	39
6	DISCUSSÃO	42
6.1	Pressão transpulmonar com o pulmão dentro e fora da caixa torácica	42

6.2	Limitações do estudo	42
6.2.1	Análise dos dados	42
6.2.2	Modelo experimental	43
7	Referências	44

Lista de Tabelas

Tabela 1. Fluxo de coleta de dados por condição pulmonar e/ou estratégia de coleta	30
--	----

Lista de abreviaturas

P_{pl}	Pressão pleural
$P_{pl_{dep}}$	Pressão pleural dependente
$P_{pl_{ndep}}$	Pressão pleural não-dependente
P_{tp}	Pressão transpulmonar
$P_{tp_{exp}}$	Pressão transpulmonar expiratória
P_{es}	Pressão esofágica
SDRA	Síndrome do desconforto respiratório agudo
P_{va}	Pressão nas vias aéreas
TC	Tomografia computadorizada
C_{pixel}	Complacência do pixel
C_{pixel_D}	Complacência do pixel dependente
$C_{pixel_{ND}}$	Complacência do pixel não-dependente
PEEP	Pressão positiva no final da expiração
FR	Frequência respiratória
PCV	Ventilação por pressão controlada
P_{aO_2}	Pressão arterial de oxigênio
P_{aCO_2}	Pressão arterial de dióxido de carbono
TIE	Tomografia por impedância elétrica
MRA	Manobra de recrutamento alveolar
VM	Ventilação mecânica
CRF	Capacidade residual funcional
S_pO_2	Saturação periférica de oxigênio
P-V	Pressão-Volume
I:E	Relação entre os tempos inspiratórios e expiratórios
EP	Erro padrão
3D	Tridimensional
ROI	Região de interesse
V_c	Volume corrente

ΔZ	Varição de volume Z
ΔP	Varição de pressão
ΔP_{es}	Varição de pressão esofágica
PISA	Plataforma de imagens da sala de autópsia
CPAP	Pressão contínua nas vias aéreas
CEUA	Comissão de ética no uso de animais
$C_{est_{pulmão}}$	Complacência do pulmão

Lista de figuras

Figura 1. Estimativa de melhor complacência dos píxels nas regiões dependentes e não dependentes avaliados ($C_{\text{pixel,D}}$ e $C_{\text{pixel,ND}}$, respectivamente) pela TIE	6
Figura 2. Fluxograma do estudo: Utilizando os sensores pleurais.....	9
Figura 3. Fluxograma do estudo: Pulmão fora da caixa e suspenso pela traqueia.....	9
Figura 4. Modelo do sensor pleural criado para impressão 3D	10
Figura 5. Ilustração do recipiente com água, utilizada nos testes de bancada para validação do sensor pleural	11
Figura 6. Curva P-V de um sensor obtido em teste de bancada.....	12
Figura 7. Corte transversal de tomografia computadorizada	15
Figura 8. Teste de oclusão sob pausa expiratória manual	17
Figura 9. Imagem de TC de tórax do animal reconstruída em 3D.....	18
Figura 10. Simulação do animal com peso no abdome	21
Figura 11. Imagem do pulmão suspenso pela traqueia na TC e conectado ao ventilador mecânico durante uma manobra de titulação da PEEP	23
Figura 12. Exemplo representativo da análise da complacência do pulmão pelo método de regressão linear múltipla	25
Figura 13. Corte transversal da TC e da TIE, destacando a alocação das ROI's.....	26
Figura 14. Fluxograma dos animais no estudo.....	29
Figura 15. Complacência regional dos píxels durante a titulação decremental da PEEP em pulmão saudável, apresentado em média \pm EP e os dados individuais.....	31
Figura 16. Complacência regional dos píxels durante a titulação decremental da PEEP em pulmão com injúria, apresentado em média \pm EP e os dados individuais..	32
Figura 17. Complacência regional dos píxels durante a titulação decremental da PEEP em pulmão de animal obeso, apresentado em média \pm EP e os dados individuais	33
Figura 18. Comportamento da complacência pulmonar fora da caixa torácica durante uma manobra decremental da Ptp.....	34
Figura 19. Comportamento da complacência pulmonar fora da caixa torácica durante uma manobra decremental da Ptp.....	35

Figura 20. Comportamento do colapso pulmonar regionalmente dividido entre região dependente (50% do tecido) e não dependente fora da caixa torácica durante uma manobra decremental na TC.....	36
Figura 21. Comportamento do colapso pulmonar regionalmente dividido entre região dependente (50% do tecido) e não dependente fora da caixa torácica durante uma manobra decremental na TC.....	37
Figura 23. Evolução regional do colapso pulmonar (em percentagem) durante a titulação decremental da PEEP com pulmão saudável, medidos através de TC, apresentados em média \pm EP e os dados individuais.....	38
Figura 24. Evolução regional do colapso pulmonar (em percentagem) durante a titulação decremental da PEEP com pulmão lesado, medidos através de TC, apresentado em média \pm EP e os dados individuais.....	39
Figura 25. Comportamento do gradiente vertical pleural e pressão superimposta ao longo de uma titulação da PEEP em animais com pulmão normal, apresentados por média \pm EP e os dados individuais.....	40
Figura 26. Comportamento do gradiente vertical pleural e pressão superimposta ao longo de uma titulação da PEEP em animais com injúria pulmonar, apresentados por média \pm EP e os dados individuais.....	41

RESUMO

Lima CAS. Estimativas regionais da pressão crítica de colapso pulmonar *in vivo* e *ex vivo* em modelo animal sob ventilação mecânica controlada [tese]. São Paulo: “Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo”; 2022.

INTRODUÇÃO: A mortalidade nos pacientes com síndrome do desconforto respiratório do adulto (SDRA) permanece alta nos dias atuais, mesmo após o advento das estratégias protetoras. Uma possível explicação para esta mortalidade elevada é a ausência de uma melhor compreensão sobre fenômenos regionais do pulmão, inacessíveis às técnicas convencionais de monitorização respiratória. Por exemplo, a medida da pressão esofágica (Pes) tem se mostrado promissora como método para estimar a pressão pleural (Ppl) absoluta (em regiões dorsais do pulmão), assim como a pressão transpulmonar expiratória ($P_{tp_{exp}}$) como guia no ajuste da pressão positiva ao final da expiração (PEEP). Entretanto, suspeita-se que muitos pacientes foram expostos a uma importante hiperdistensão ventral após ajuste da PEEP por este método, comprometendo os resultados do estudo Epivent 2. Recentemente, demonstramos que a medida da pressão transpulmonar (Ptp) regional é possível através da medida direta da Ppl, através da colocação de sensores pleurais (wafers) precisamente colocados em regiões mais ventrais e dorsais do parênquima. Este mesmo estudo, entretanto, sugeriu que seria possível demonstrar uma relação consistente entre as medidas de $P_{tp_{exp}}$ regionais e o comportamento regional da ventilação (adjacente aos sensores pleurais), através da tomografia por impedância elétrica (TIE). A TIE teria a grande vantagem de ser uma técnica não invasiva. **MÉTODOS:** Trata-se de um estudo experimental e prospectivo, realizado com 10 suínos da raça *Landrace*. Utilizamos 3 modelos de condição pulmonar *in vivo*: pulmão saudável, pulmão com lesão, e pulmão com peso sobre o abdome; e ainda um modelo “*ex-vivo*” de um pulmão saudável. Antes de iniciar a coleta de dados, os animais passaram por procedimento cirúrgico com inserção dos sensores pleurais através de toracotomia. Na coleta de dados *in vivo*, todos animais foram sedados e curarizados e permaneceram sob monitorização da TIE. Inserimos cateter esofágico para medida da Pes e sensores pleurais planos (*wafers*) foram

colocados no espaço pleural junto a regiões dependentes (dorsais) e não dependentes (ventrais) do parênquima pulmonar. A PEEP crítica para fechamento pulmonar regional foi quantificada pela TIE e pela tomografia computadorizada no modelo in vivo. No modelo *ex vivo*, a PEEP crítica para evitar o colapso alveolar foi estimada através de curva PEEP/complacência (com pulmão pendurado pela traqueia e sem qualquer apoio de superfície externa) e também pela tomografia computadorizada. RESULTADOS: Durante a titulação decremental da PEEP com pulmão saudável, a melhor C_{pixel} para região dependente foi na PEEP de 14 cmH₂O, o que corresponde com a $P_{\text{tp}_{\text{exp}}}$ de $5,04 \pm 0,59$ cmH₂O. Para região não-dependente, a melhor C_{pixel} foi encontrada na PEEP de 4 cmH₂O, o que corresponde com a $P_{\text{tp}_{\text{exp}}}$ de $3,82 \pm 0,74$ cmH₂O. Já no pulmão com lesão, a melhor C_{pixel} para região dependente foi na PEEP de 16 cmH₂O, o que corresponde com a $P_{\text{tp}_{\text{exp}}}$ de $5,4 \pm 1,21$ cmH₂O. Para a região não-dependente, a melhor C_{pixel} foi encontrada na PEEP de 6 cmH₂O, o que corresponde com a $P_{\text{tp}_{\text{exp}}}$ de $3,98 \pm 0,08$ cmH₂O. Estes mesmos resultados foram encontrados quando utilizamos a tomografia computadorizada. No animal obeso a melhor C_{pixel} para região dependente foi na PEEP de 20 cmH₂O, o que corresponde com a $P_{\text{tp}_{\text{exp}}}$ de $5,5 \pm 1,21$ cmH₂O. Para a região não-dependente a melhor C_{pixel} foi encontrada na PEEP de 8 cmH₂O, o que corresponde com a $P_{\text{tp}_{\text{exp}}}$ de $4,23 \pm 0,95$ cmH₂O. Quando realizamos a curva (PEEP x complacência do pulmão) em modelo *ex-vivo*, encontramos o valor médio de P_{tp} mínima para gerar colapso de 4 cmH₂O nos modelos com lesão prévia vs. 3 cmH₂O no modelo pulmão saudável. Estes resultados foram confirmados no estudo com tomografia computadorizada. CONCLUSÕES: Foi possível demonstrar as pressões críticas de colapso pulmonar regionalmente através da TIE, de forma não invasiva. Quando se considera as P_{tp} críticas, estas foram muito similares nas regiões dependentes versus não dependentes, corroborando os resultados *ex-vivo*. Isto significa que o pulmão tem comportamento bem homogêneo em termos de pressões transpulmonares críticas para prevenir colapso, dentro ou fora da caixa torácica, e que toda a heterogeneidade de colapso ventral-dorsal observada durante ventilação mecânica pode ser explicada pelo gradiente de pressões pleurais ou de pressões superimpostas.

Descritores: Respiração Artificial; Pressão Transpulmonar; Pressão Esofágica; Tomografia por Impedância Elétrica; Tomografia computadorizada; Síndrome do Desconforto Respiratório do Adulto

ABSTRACT

Lima CAS. Regional estimates of the critical pressure of lung collapse in vivo and ex vivo in an animal model under controlled mechanical ventilation [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo”; 2022.

INTRODUCTION: Mortality in patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS) remains high today, even after the advent of protective strategies. A possible explanation for this high mortality is the lack of a better understanding of regional lung phenomena, which are inaccessible to conventional techniques of respiratory monitoring. For example, measurement of esophageal pressure (Pes) has shown promise as a method for estimating absolute pleural pressure (Ppl) (in dorsal regions of the lung), as well as expiratory transpulmonary pressure ($P_{tp_{exp}}$) as a guide in adjusting positive pressure. at the end of expiration (PEEP). However, it is suspected that many patients were exposed to significant ventral hyperdistension after PEEP adjustment by this method, compromising the results of the Epivent 2 study. Recently, we demonstrated that the measurement of regional transpulmonary pressure (Ptp) is possible through the direct measurement of Ppl, through the placement of pleural sensors (wafers) precisely placed in more ventral and dorsal regions of the parenchyma. This same study, however, suggested that it would be possible to demonstrate a consistent relationship between regional $P_{tp_{exp}}$ measurements and the regional behavior of ventilation (adjacent to the pleural sensors), through electrical impedance tomography (EIT). EIT would have the great advantage of being a non-invasive technique. **METHODS:** This is an experimental and prospective study carried out with 10 Landrace pigs. We used 3 models of lung condition in vivo: healthy lung, injured lung, and lung with weight on the abdomen; and even an “ex-vivo” model of a healthy lung. Before starting data collection, the animals underwent a surgical procedure with insertion of pleural sensors through thoracotomy. In the in vivo data collection, all animals were sedated and cured and remained under EIT monitoring. We inserted an esophageal catheter to measure Pes and flat pleural sensors (wafers) were placed in the pleural space next to dependent (dorsal) and non-dependent (ventral) regions of the lung parenchyma.

Critical PEEP for regional lung closure was quantified by EIT and computed tomography in the in vivo model. In the ex vivo model, the critical PEEP to avoid alveolar collapse was estimated through the PEEP/compliance curve (with lung hanging by the trachea and without any external surface support) and also by computed tomography. RESULTS: During decremental PEEP titration with healthy lung, the best C_{pixel} for the dependent region was at PEEP of 14 cmH₂O, which corresponds to a P_{tpexp} of 5.04 ± 0.59 cmH₂O. For the non-dependent region, the best C_{pixel} was found at a PEEP of 4 cmH₂O, which corresponds to a P_{tpexp} of 3.82 ± 0.74 cmH₂O. In the injured lung, the best C_{pixel} for the dependent region was a PEEP of 16 cmH₂O, which corresponds to a P_{tpexp} of 5.4 ± 1.21 cmH₂O. For the non-dependent region, the best C_{pixel} was found at a PEEP of 6 cmH₂O, which corresponds to a P_{tpexp} of 3.98 ± 0.08 cmH₂O. These same results were found when using computed tomography. In the obese animal, the best C_{pixel} for the dependent region was a PEEP of 20 cmH₂O, which corresponds to a P_{tpexp} of 5.5 ± 1.21 cmH₂O. For the non-dependent region, the best C_{pixel} was found for a PEEP of 8 cmH₂O, which corresponds to a P_{tpexp} of 4.23 ± 0.95 cmH₂O. When we performed the curve (PEEP x lung compliance) in an ex-vivo model, we found the mean value of minimum Ptp to generate collapse of 4 cmH₂O in models with previous injury vs. 3 cmH₂O in the healthy lung model. These results were confirmed in the computed tomography study. CONCLUSIONS: It was possible to demonstrate the critical pressures of lung collapse regionally through EIT, in a non-invasive way. When considering the critical Ptp, they were very similar in the dependent versus non-dependent regions, corroborating the ex-vivo results. This means that the lung behaves very homogeneously in terms of critical transpulmonary pressures to prevent collapse, inside or outside the rib cage, and that all the heterogeneity of ventral-dorsal collapse observed during mechanical ventilation can be explained by the gradient of pleural or lung pressures. superimposed pressures.

Descriptors: Artificial Ventilation; Transpulmonary Pressure; Esophageal Pressure; Electrical Impedance Tomography; Computed tomography; Adult Respiratory Distress Syndrome.

1 INTRODUÇÃO

A síndrome do desconforto respiratório do adulto (SDRA) é caracterizada por colapso pulmonar das regiões dependentes da gravidade(1), reduzindo o tamanho funcional dos pulmões, o que faz com que a ventilação migre para as regiões não dependentes(2), tornando-as potencialmente mais vulneráveis à ocorrência de inflamação e, conseqüentemente, lesão pulmonar. As estratégias de ventilação mecânica protetora tem como objetivo a minimização da inflamação das regiões não dependentes, também conhecida como “baby lung”(3), estabelecendo o uso de volumes correntes baixos, assim como pressão de platô limitada(4). No entanto, mesmo com o uso destas estratégias, demonstrou-se que a abertura e fechamento cíclico das unidades alveolares, geralmente associado a um discreto aumento da “driving pressure” (pressão de distensão), pode perpetuar ou agravar o quadro de injúria pulmonar subjacente(5, 6). Este último mecanismo de lesão pulmonar, chamado de atelectrauma, pode ter seu efeito deletério reduzido através de uma aplicação otimizada da PEEP(7).

Uma PEEP alta pode resultar em maior hiperdistensão tecidual pulmonar(8), assim como valores insuficientes de PEEP podem estar associados a maiores taxas de atelectasia(9). Este desarranjo no ajuste do ventilador mecânico pode induzir a lesão pulmonar associada à ventilação mecânica (LPAV) em pacientes com pulmões previamente saudáveis submetidos à anestesia geral(10) ou trazer maior agravo nos casos de injúria pré-existente.

Estudos experimentais de lesão pulmonar mostraram que níveis elevados de PEEP reduziram a quantidade de lesão parenquimatosa causada pelo atelectrauma(11, 12), contudo, um ensaio clínico multicêntrico demonstrou que em pacientes com SDRA moderada, a estratégia de recrutar o pulmão e titular a PEEP baseada na complacência global do sistema respiratório ocasionou um aumento na mortalidade quando comparada a uma estratégia de “PEEP baixa”(13). Dessa forma, em meio a controvérsias, os caminhos para os ajustes da PEEP permanecem em debate e ainda são incertos(5).

Quando pulmões saudáveis são submetidos à ventilação mecânica (VM), o quadro de LPAV pode ainda ocorrer numa fração significativa dos pacientes. Isto foi relatado em estudos de pacientes sob anestesia geral e submetidos a cirurgias de grande porte(14), geralmente associado a níveis de PEEP baixos e pressão de distensão elevada. Supõe-se que a PEEP insuficiente, associada a frações inspiratórias de oxigênio elevadas, possa gerar colapso das vias aéreas com consequente atelectasia de reabsorção e piora da mecânica pulmonar e da troca gasosa(10). Num estudo recente realizado por nosso grupo, submeteu-se indivíduos sob anestesia geral e com pulmões previamente saudáveis a estratégias de recrutamento alveolar e posterior individualização da PEEP, com bons resultados: o grupo intervenção apresentou melhor oxigenação intraoperatória e redução da “*driving pressure*” (DP, pressão de platô menos PEEP)(15), associado a uma redução da atelectasia no pós-operatório. Quando extrapolamos o ajuste individualizado da PEEP para o grupo de pacientes críticos e obesos, previamente com pulmão saudável, um estudo misto de humanos obesos e animais simulando obesidade sob VM, mostrou que, ajustando a PEEP através da medida da elastância da caixa torácica, promoveu reversão da atelectasia e homogeneizou a distribuição da ventilação(16). Outro estudo realizou análise retrospectiva de 505 pacientes obesos com SDRA e verificou que a estratégia “PEEP alta” reduziu mortalidade intra-hospitalar em 60 dias quando comparado com a estratégia “PEEP baixa”(17).

No geral, apesar de todas as estratégias protetoras e de ajuste ventilatório buscarem levar aos pacientes uma ventilação menos traumática ao tecido pulmonar, as taxas de mortalidade nos pacientes com SDRA permanecem altas(18), ao mesmo tempo em que os mecanismos de lesão em pulmões saudáveis parecem tornar o manejo da ventilação cada vez mais desafiador. Uma possível explanação para estes fatos são que os parâmetros de monitorização global se limitam a fornecer apenas uma informação geral do pulmão e da caixa torácica, falhando em representar eventos regionais coexistentes, como as pressões transpulmonares regionais (P_{tp}) – a P_{tp} pode ser entendida como o resultado da subtração entre pressão alveolar (P_{alv}) e pressão pleural (P_{pl})(19).

A medida esofágica é o único método disponível na prática clínica para estimar a P_{pl} e, conseqüentemente, separar o componente mecânico da caixa torácica do componente pulmonar(20). Com esta variável podemos determinar a real

pressão de distensão sobre o tecido pulmonar(21). Um dos propósitos desta medida é servir como guia no ajuste da PEEP e, neste contexto, um importante ensaio clínico incluiu 61 pacientes com SDRA e testou uma estratégia de ajuste da PEEP utilizando valores de pressão esofágica expiratória ($P_{es_{exp}}$) como guia, aceitando uma P_{tp} expiratória ($P_{tp_{exp}}$) entre 0 e 10 cmH_2O . O grupo controle foi a estratégia de ajuste da PEEP por Tabela PEEP – F_{iO_2} (tabela PEEP/ F_{iO_2} baixa – ARDSnet)(4). Observou-se neste estudo que o grupo PEEP guiada pela $P_{tp_{exp}}$ apresentou melhora significativa da mecânica pulmonar e da troca gasosa, com desfechos clínicos promissores(22). Uma das críticas a este estudo foi a grande variação permitida para o ajuste da PEEP: até 10 cmH_2O acima de uma $P_{tp_{exp}}$. Em preparações de pulmão isolado, observa-se que aumentos de 10 cmH_2O de P_{tp} são suficientes para causar grande hiperdistensão, com redução de 50% na complacência pulmonar (23). Outra crítica a este estudo diz respeito à regionalidade da $P_{es_{exp}}$: como existe um gradiente de pressões pleurais ao longo do eixo gravitacional, podendo alcançar até 15 cmH_2O em pulmões muito edemaciados, qual seria a relação entre $P_{es_{exp}}$ e $P_{pl_{exp}}$? A $P_{es_{exp}}$ estaria representando uma média das P_{pl} , ou seria mais representativa dos níveis dorsais do pulmão, mais dependentes da gravidade?

Mais recentemente, demonstramos em modelos animais (porcos), assim como em cadáveres humanos, que é possível obter medidas confiáveis de P_{tp} regional através de sensores planos (“wafers”), que não deformam a superfície pleural, alocados na região mais dependente (dorsal) e não-dependente (ventral) da gravidade. Neste estudo demonstramos que a medida da $P_{es_{exp}}$ sempre apresenta um valor intermediário entre as pressões pleurais nas regiões dependentes e não dependentes do pulmão, para todos os níveis de PEEP. Em valores mais baixos de PEEP, ela se aproxima mais das medidas das regiões dorsais, devido à maior proximidade do esôfago com a superfície dorsal do pulmão. Demonstramos também, que uma $P_{tp_{exp}}$ mínima de 3-5 cmH_2O , calculada ao nível do esôfago (ou de 2-3 cmH_2O no wafer dorsal) era necessária para impedir o colapso pulmonar das regiões dorsais do parênquima pulmonar(24, 25).

Na prática clínica, existem duas dificuldades para um uso mais disseminado da pressão esofágica ou de sensores pleurais para ajuste da PEEP: a) dificuldades de calibração, uma vez que a medida é muito dependente do volume interno do balão esofágico ou dos sensores pleurais, exigindo um processo de “titulação *in*

vivo” do volume injetado no balão ou sensores, e b) invasibilidade – mesmo o balão esofágico, que prescinde o uso de sensores intrapleurais, exige uma sonda extra inserida no paciente. É neste contexto que decidimos investigar se a informação regional propiciada pela tomografia por impedância elétrica (TIE) poderia ser útil. Para tanto, seria necessário demonstrar que existe uma relação consistente entre as medidas de $P_{tp_{exp}}$ regionais (coletadas nos sensores dorsais e ventrais) e o comportamento dos *pixels* próximos aos sensores pleurais dependentes e não-dependentes (aferido pela TIE).

1.1 Medida da pressão esofágica e cálculo da pressão transpulmonar

O método mais difundido para a medida da Pes consiste na utilização de um sistema balão-cateter de látex, preenchido com ar e conectado a um transdutor de pressão(26). Demonstrou-se que a medida absoluta da Pes pode ser utilizada como uma medida indireta da Ppl, no mesmo nível iso-gravitacional, desde que tomadas algumas precauções relacionadas ao posicionamento e volume dentro do balão (25). Sabe-se também que a Ppl varia regionalmente, de acordo com o gradiente gravitacional e postura, para um mesmo nível de PEEP. A Ppl também varia globalmente (isto é, todas as regiões em conjunto) de acordo com as propriedades mecânicas do pulmão e caixa torácica(7, 27, 28), assim como das pressões em vias aéreas.

Assumindo que a Pes representa adequadamente a Ppl, a informação colhida através da $P_{es_{exp}}$ nos permite calcular a Ptp, que seria a diferença entre a pressão nas vias aéreas, em condição de pausa inspiratória ou expiratória, e a pressão esofágica: $P_{tp_{exp}} = PEEP - P_{es_{exp}}$. Ou semelhantemente: $P_{tp_{insp}} = P_{plateau} - P_{es_{insp}}$ (29). A medida da Ptp permite avaliar a mecânica do sistema respiratório, quantificando o componente relativo à parede torácica e determinando o real *stress* aplicado sobre o tecido pulmonar, que parece estar diretamente relacionado à LPAV(30).

1.2 Calculando a complacência do *pixel* - TIE

A TIE é uma tecnologia não invasiva, que não usa radiação e que mede de forma contínua as mudanças regionais e globais da ventilação pulmonar (31). A grande vantagem em relação a outros métodos de imagem é a alta resolução temporal, o que possibilita o estudo dinâmico da distribuição da ventilação(32).

O princípio para criação de imagens de uma secção transversal dos pulmões através da TIE, baseia-se na injeção de correntes elétricas de alta frequência (> 10 kHz) e baixa amplitude (< 12 mA), através de 32 eletrodos, igualmente espaçados, aplicados circunferencialmente ao tórax. A reconstrução da imagem funcional é feita por algoritmos que projetam as variações de resistividade ou impedância do tórax em uma matriz de 32×32 *pixels*. Cada *pixel* descreverá a diferença de impedância em relação a um trecho tomado como referência (conceito de imagem relativa), expressa em percentagem(33).

O sinal gráfico oriundo da variação de impedância é visto através do pletismograma. Este gráfico pode representar o comportamento pulmonar global, ao incluir todos os *pixels* da imagem, ou regional, através da seleção de um conjunto de *pixels* ou região do pulmão. A oscilação no pletismograma global decorrente da ventilação é chamada de Delta Z (ΔZ), e apresenta robusta linearidade com a mudança no volume pulmonar estimada pela tomografia computadorizada ($R^2 = 0,92$)(34).

Para o cálculo da complacência do *pixel* (C_{pixel}) é necessário obter o dado da variação global da pressão (ΔP) nos alvéolos, facilmente acessado através dos valores de pressão proximal captados pelo pneumotacógrafo. Através da equação do movimento, subtrai-se o componente resistivo e se obtém as variações de pressão alveolar durante um ciclo respiratório. Além disso, é necessário conhecer também o ΔZ associado a esta variação de pressão, obtido através da leitura da variação de impedância no *pixel*. Desta forma, é possível calcular a complacência de todo o pulmão ($\Delta Z/\Delta P$), ou de um apenas um *pixel*, ou de uma região de interesse (ROI) (**Figura 1**)(35).

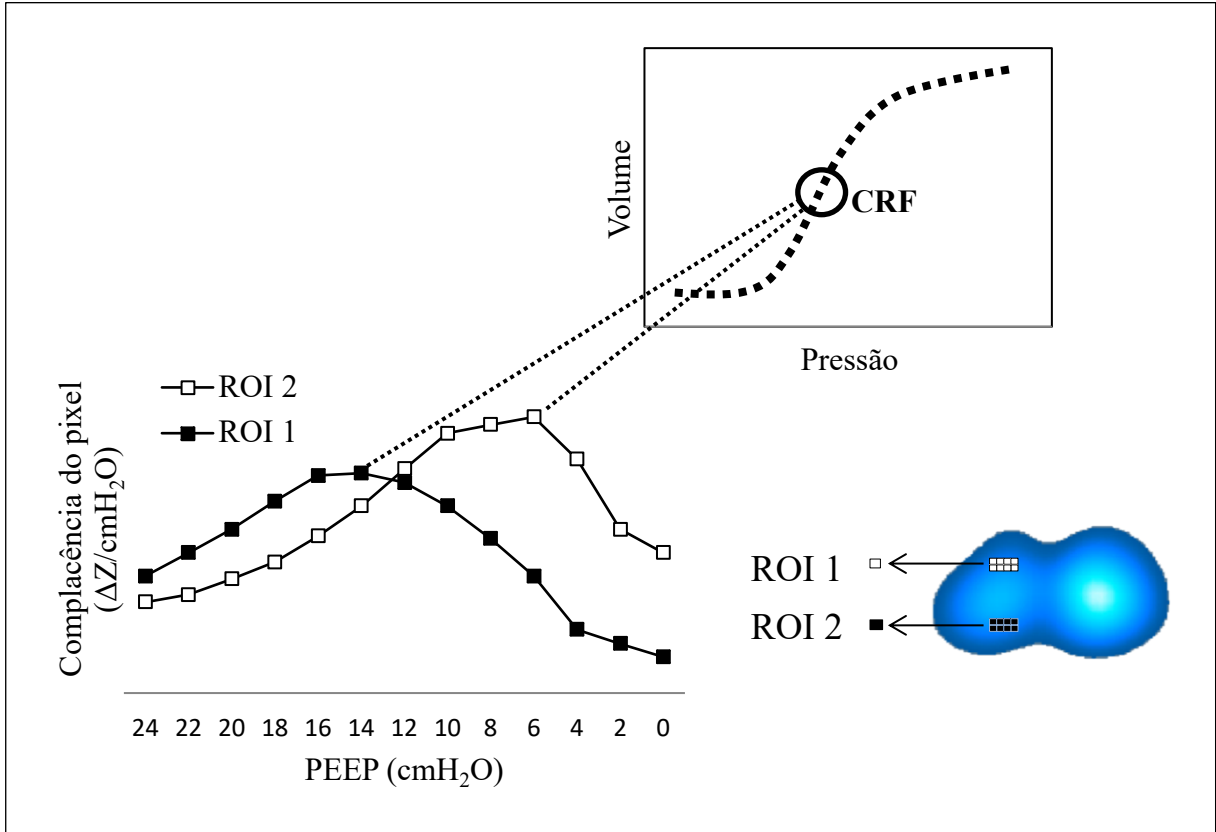


Figura 1. Estimativa de melhor complacência dos *pixels* nas regiões dependentes e não dependentes avaliados ($C_{pixel,D}$ e $C_{pixel,ND}$, respectivamente) pela TIE

2 HIPÓTESES

Nossa hipótese é a de que esta afirmação abaixo poderia ser facilmente demonstrada numa titulação decremental de PEEP:

→ para qualquer região pulmonar, dependente ou não-dependente, a melhor complacência regional (isto é, a complacência máxima aferida nos pixels próximos ao sensor pleural) deve acontecer quando a P_{tp} regional (medida no wafer adjacente aos pixels) estiver próxima a 3 cmH₂O.

Acima destes valores, devemos esperar uma queda de complacência causada por hiperdistensão regional, e abaixo destes valores devemos observar uma queda de complacência por colapso pulmonar (com perda de compartimentos em paralelo), o que poderia também ser demonstrado na tomografia computadorizada.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Primário

Verificar, durante uma titulação decremental de PEEP, se a EIT é capaz de detectar a PEEP mínima (ou pressão intra-alveolar mínima) capaz de prevenir o colapso alveolar nas regiões extremas do pulmão (ventral vs. dorsal), com boa acurácia quando comparada à TC e consistentes com uma faixa estreita de pressões transpulmonares regionais.

3.2 Objetivo secundário

Determinar a concordância entre gradiente de pressão superimposta (calculado através da medida de densidade pulmonar) com o gradiente de pressões pleurais (estimado por sensores pleurais) e seu impacto sobre as curvas de colapso e hiperdistensão fornecidas pelo EIT.

Verificar que o pulmão apresenta comportamento extremamente homogêneo, mesmo dentro da caixa torácica, quando se considera as pressões transpulmonares críticas de colapso, exibindo um comportamento similar àquele exibido quando fora da caixa torácica, suspenso, e sem contato com qualquer superfície que suporte o seu peso. Dentro ou fora da caixa torácica, as pressões críticas serão as mesmas, para qualquer região do parênquima.

4 MÉTODOS

Trata-se de um estudo experimental tipo diagnóstico. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) sob o número 142/16.

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Investigação Médica em Pneumologia Experimental (LIM09) da FMUSP e na Plataforma de Imagem na Sala de Autópsia (PISA).

4.1 ETAPAS DO ESTUDO

Neste estudo há somente um grupo a ser analisado, sendo que os animais serão controle deles mesmos, sem prévia randomização. As medidas das pressões foram feitas concomitantemente nos diferentes modelos descritos mais à frente. Logo abaixo podemos observar os procedimentos de cada uma das fases deste estudo (**Figura 2**) (**Figura 3**).

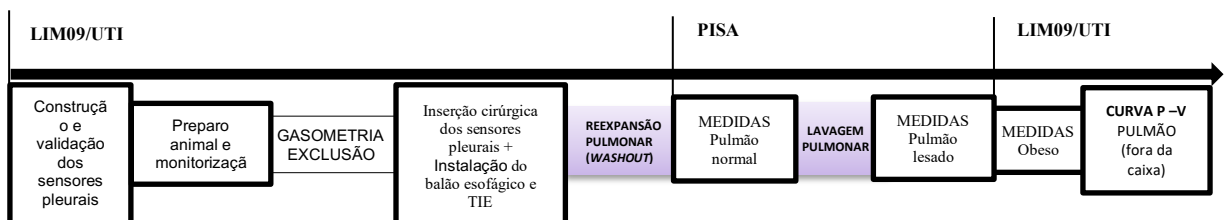


Figura 2. Fluxograma do estudo: Utilizando os sensores pleurais

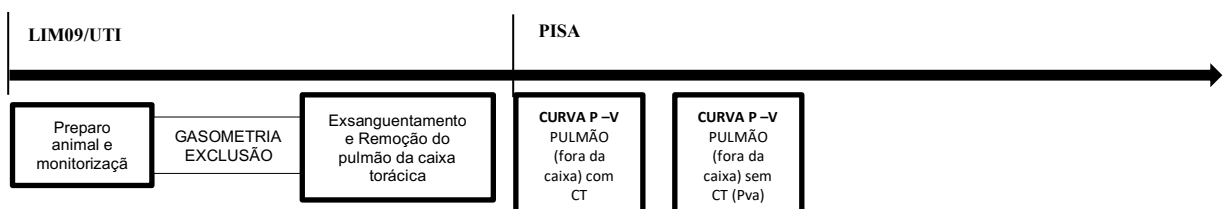


Figura 3. Fluxograma do estudo: Pulmão fora da caixa e suspenso pela traqueia

4.1.1 Construção e validação dos sensores pleurais

Sensor responsável pelas medidas direta da Ppl tem sua base construída através de impressão 3D (MEDTRONIC, Inc. São Paulo, Brasil), tendo como principal material, o TANGOplus (resina flexível, ShoreA 50) e o VERO™. Trata-se de uma estrutura achatada com bordas atenuadas, com área externa de 8 cm x 4 cm, uma região central escavada medindo 6 cm x 1,5 cm e espessura de 3 mm. Posteriormente, este molde é recoberto com uma película de cloreto de polivilina (PVC) com espessura de 0,1 - 0,2 mm de modo a criar um sensor-balão de pressão (pneumático) (**Figura 4**) que será hipoteticamente equivalente a um balão esofágico com uma estrutura especial. Em uma das paredes há um orifício no qual introduzimos um cateter fino de 1,5 mm que servirá para transmitir a pressão intra-sensor até o transdutor analógico de pressão. Este modelo também possui orifícios para que possa ser fixado à região interna da cavidade torácica através de fio cirúrgico. Este conjunto de materiais forma um sistema balão-ar cujo desenho foi criado para gerar uma mínima deformação na superfície pulmonar ao ser inserido na cavidade pleural(36, 37).

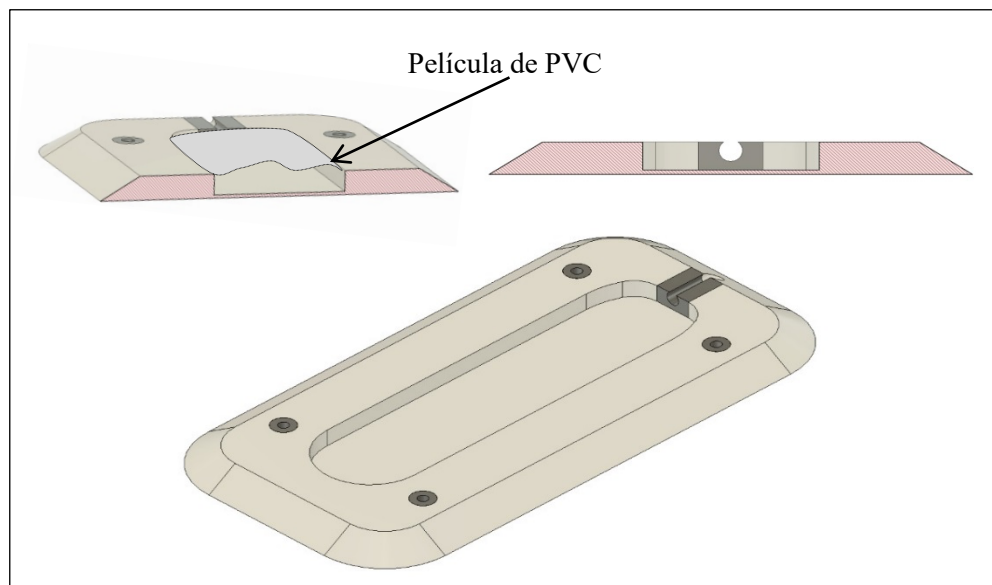


Figura 4. Modelo do sensor pleural criado para impressão 3D

Sabemos que a medida da pressão no interior do espaço pleural pode ser influenciada pelo volume de ar utilizado para inflar o sensor-balão, de modo que quando inflados com volume insuficiente ou hiperinsuflado, poderia haver subestimação ou superestimação da pressão aferida pelo sensor, respectivamente. Para evitar este efeito e buscar uma medida confiável, cada sensor é submetido a um teste de bancada antes dos experimentos *in vivo*.

Para a realização do teste de bancada cada sensor é inserido no fundo de um recipiente de vidro e sobre o mesmo, é posicionada uma bolsa plástica cuja função é simular a pleura visceral. O sensor é conectado a um sistema com transdutor diferencial de pressão e conversor digital que se conecta através de cabo de rede a um *notebook* com um *software* de aquisição de sinais. Este programa permite a visualização dos sinais de pressão em tempo real e a gravação destes sinais para posterior análise. Em seguida, o recipiente é preenchido com água e posteriormente são realizadas três curvas pressão-volume (P-V), cada uma com uma altura de coluna de água diferente, simulando três valores de pressão sobre o sensor: 10, 15 e 20 cmH₂O, nesta ordem. As insuflações são gradativas e sequenciais, com passos de 0,2 mL, sempre partindo de uma pressão negativa (-30 cmH₂O) até uma pressão de + 30 cmH₂O (**Figura 5**).

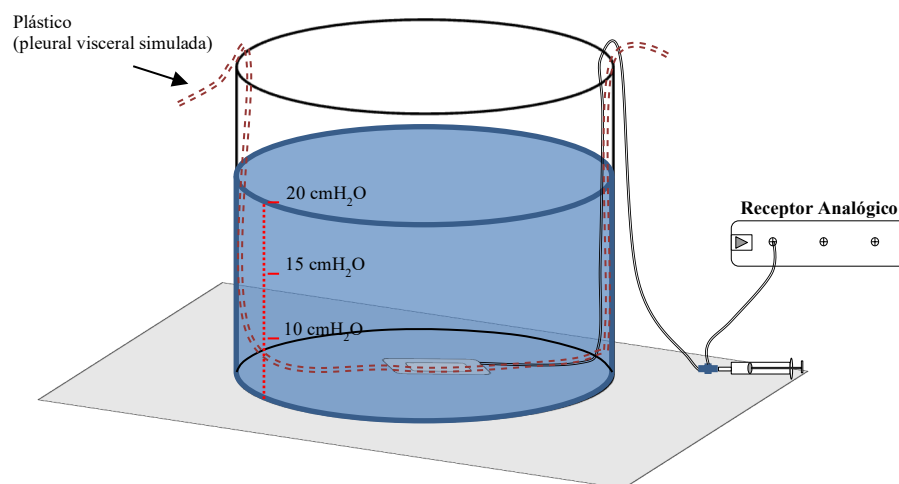


Figura 5. Ilustração do recipiente com água, utilizada nos testes de bancada para validação do sensor pleural

Com as informações provenientes das curvas, extraímos os valores observados no *plateau* da curva - correspondente ao volume não estressado do balão - que se forma na proporção que as insuflações de volume são realizadas e valores observados no início da curva, este último, chamado volume mínimo ($V_{mín}$) (Figura 6)(38).

O objetivo deste teste de bancada é validar a usabilidade do sensor visualizando o volume não estressado (quanto maior melhor) e conseqüentemente, visualizar qual será o $V_{mín}$ a ser insuflado para cada sensor durante o experimento *in vivo*, valor responsável por garantir uma medida absoluta das pressões locais.

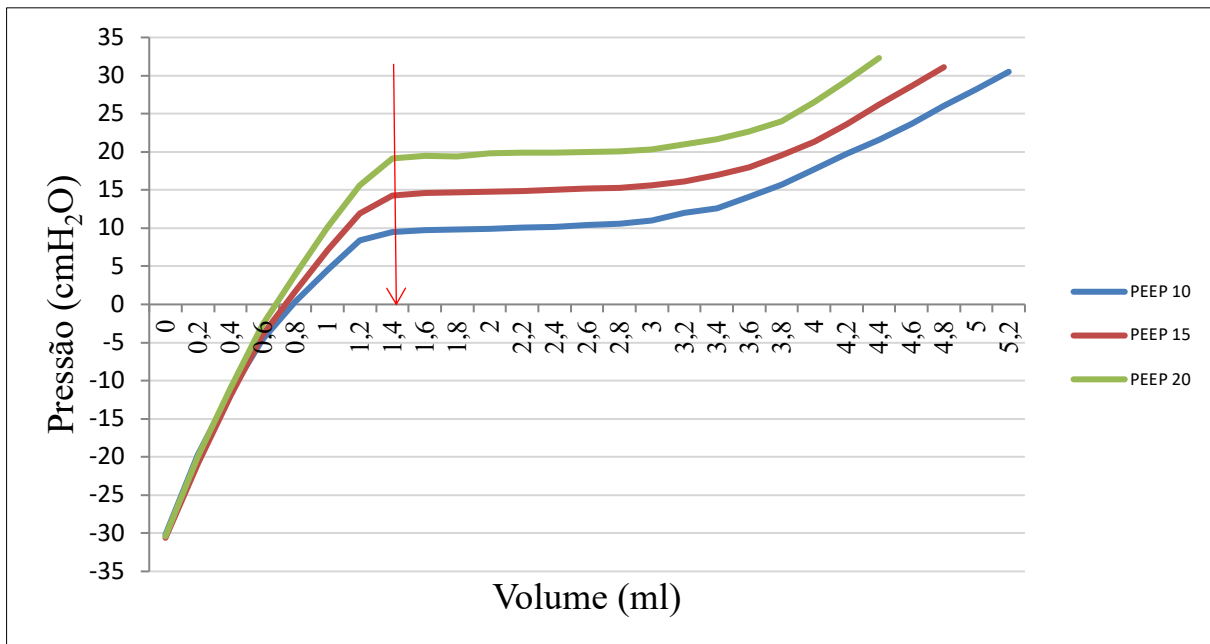


Figura 6. Curva P-V de um sensor obtido em teste de bancada

Cada curva representa um valor diferente de altura de coluna de água no interior do recipiente: 10, 15 e 20 cmH₂O, respectivamente. Para este sensor, foi considerado que o $V_{mín}$ ideal de volume de ar a ser insuflado para realizar as medidas de pressão no interior da cavidade pleural foi de 1,4 ml

4.1.2 Preparo animal e monitorização

Utilizamos suínos das raças *Large White* e *Landrace*, fêmeas com peso médio $43 \pm 4,8$ Kg e seguimos as orientações municipais e estaduais para

experimentação animal. Após a chegada dos animais à UTI de Animais, foi administrado medicação pré-anestésica com acepromazina (0,1 ml/Kg), quetamina (5mg/kg) e midazolam (0,5mg/kg) por via intramuscular, enquanto recebiam oxigênio por máscara facial. Em seguida, a hipnose foi induzida com propofol (3 mg/kg) através de acesso periférico na orelha, seguido de intubação oro-traqueal (cânula 7,5 Fr) e ventilados mecanicamente (Servo-i, Maquet Critical Care, Sweden).

Amiodarona endovenosa (150 mg) foi administrada previamente às punções dos acessos venoso central (jugular e arterial), ambos realizados através do uso do ultrassom. A manutenção da sedação e bloqueio neuromuscular foram feitos com infusão contínua de quetamina (5-15 mg/Kg/h), fentanila (2 mcg/kg/h), midazolam (0,45 mg/kg/h) e pancurônio (0,35 mg/kg/h) durante todo o protocolo.

A traqueostomia foi realizada para garantir uma via aérea estável durante a mobilização e transporte animal.

Os animais foram submetidos à monitoração com uso de oxímetro de pulso, eletrocardiografia, pressão arterial invasiva (artéria femoral) e medida do gás carbônico ao final da expiração, da sigla em inglês (*EtCO₂*) através do monitor multiparamétrico modelo (SVM 7523, Nihon Kohden, India). Também foi instalada a cinta de eletrodos da TIE (Timpel, São Paulo, Brasil). As análises dos gases sanguíneos foram feitas através de coleta de sangue arterial (cada amostra com volume médio de 2,0 mL) e foram avaliadas no ABL800FLEX™ (Radiometer Medical, Dinamarca).

Os animais foram mantidos em VM, no modo pressão controlada (PCV), com a ΔP necessária para gerar um volume corrente (VC) de 6 mL/kg, F_iO_2 de 100% e PEEP de 5-10 cmH₂O. A frequência respiratória foi ajustada objetivando-se manter a capnometria dentro dos valores de normalidade, entre 35 e 45 mmHg.

4.1.3 Critérios de exclusão

Após o preparo do animal, foi feita uma manobra de homogeneização pulmonar (manobra de recrutamento) no modo ventilatório PCV, com frequência respiratória

de 25 incursões por minuto (ipm), ΔP de 20 cmH₂O com PEEP de 15 cmH₂O durante 2 minutos, no intuito de abrir possíveis áreas de colapso. Após esta manobra, o animal foi ventilado em modo PCV, com ΔP de 10 cmH₂O, PEEP de 10 cmH₂O e frequência respiratória de 20 ipm durante 10 minutos. Em seguida, colhemos uma “gasometria arterial de exclusão” cujo objetivo foi garantir que o protocolo fosse iniciado com suínos sem alterações pulmonares prévias. Sendo incluídos no estudo os suínos que apresentaram valores de $PaO_2 + PaCO_2 \geq 400$ mmHg.

4.1.3.1 Critérios de interrupção do protocolo

Após a gasometria de exclusão, os animais que cursaram em algum momento do experimento com choque refratário à droga vasoativa e/ou adquiriram pneumotórax não-drenável, foram excluídos posteriormente.

4.1.4 Inserção cirúrgica dos sensores pleurais

Dois sensores pleurais (preparados previamente ao experimento) foram fixados na pleura parietal, através de toracotomia à direita, nas regiões anterior e posterior da caixa torácica e abaixo da região axilar entre o 8º e 9º espaço intercostal (**Figura 7**).

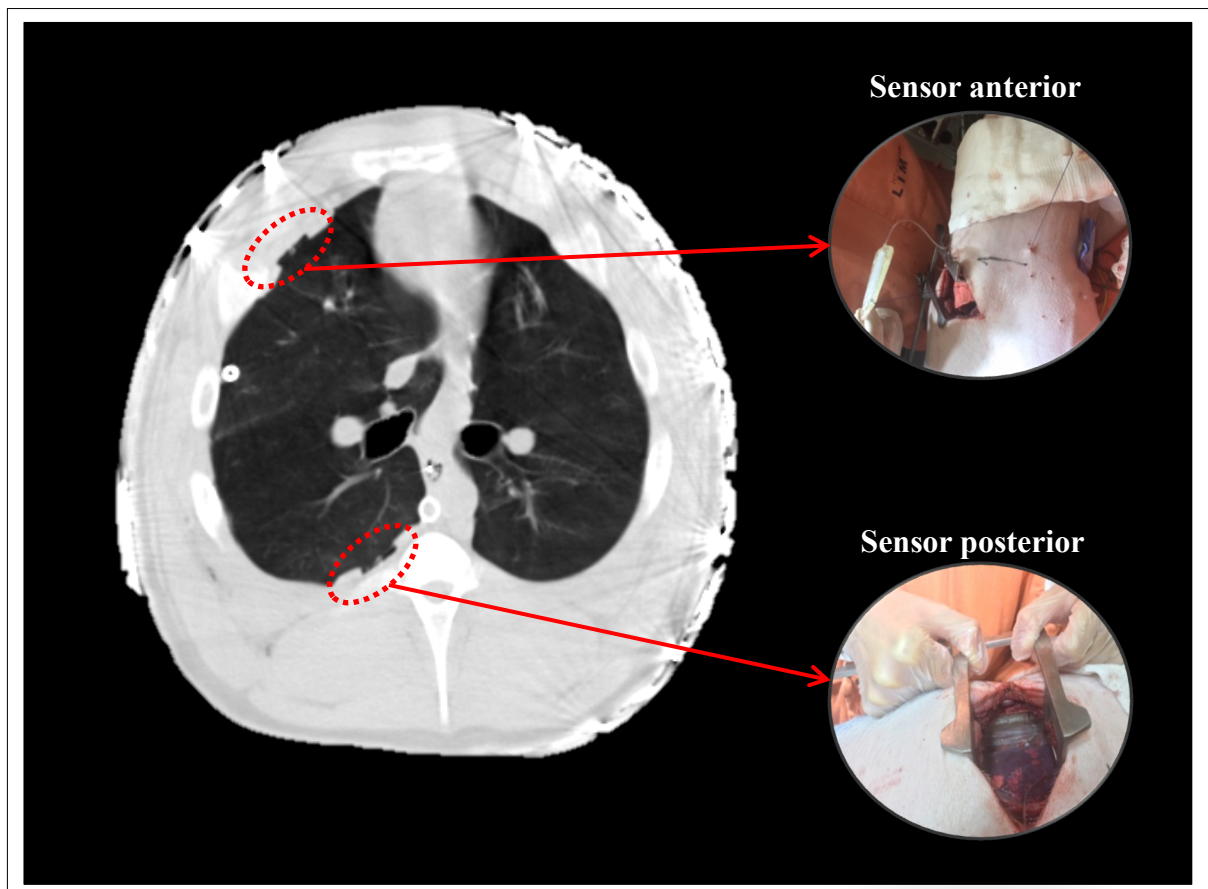


Figura 7. Corte transversal de tomografia computadorizada

Podemos observar a região medial pulmonar, demonstrando o local de posicionamento dos sensores pleurais (região anterior e posterior) no interior da cavidade torácica e do cateter esofágico no interior do esôfago

O procedimento de colocação dos sensores pleurais foi realizado com o animal posicionado em decúbito lateral esquerdo. Optou-se pela inserção dos sensores no hemitórax direito e não esquerdo e/ou bilateral devido ao ruído que a posição e a oscilação cardíaca poderiam criar, dificultando assim as análises posteriores. O acesso foi realizado através de toracotomia anterolateral direita com cerca de 10-15 cm. Durante o procedimento de inserção dos sensores, a VM permaneceu em modo PCV com PEEP de 5cmH₂O ou inferior, conforme a necessidade, e com ΔP capaz de gerar VC suficiente para realizar o procedimento de fixação dos sensores com risco mínimo de lesão parenquimatosa pulmonar pelo afastamento.

A fixação do sensor posterior (Ppl_D, Ppl dependente) foi realizada com o auxílio de dois pontos de fio de sutura inabsorvível (algodão 2-0) ancorados

diagonalmente no sentido do sensor, de forma a fixá-lo paralelamente à goteira paravertebral em sentido craniocaudal, distando cerca de 10 cm da borda posterior do hemidiafragma direito.

A fixação do sensor anterior (Ppl_{IND}, Ppl não dependente) foi realizada através de punção transparietal dos fios de algodão 2-0 através da face luminal de uma agulha longa (Abocath® # 16). Para a fixação do sensor, os pontos de fixação diagonal foram amarrados na face interna do tórax depois de passados pelos orifícios do sensor. Após isto, foram tracionados na parede externa do hemitórax de forma a acomodar o sensor longitudinalmente na face pleural parietal da parede torácica, evitando-se assim as eventuais lesões da pleura visceral do pulmão subjacente causadas pelo afastamento.

As sondas dos sensores, responsáveis pela transmissão da variação de pressão do interior do sensor, foram exteriorizados na cavidade torácica pelas extremidades da toracotomia e rotulados como “dependente” e “não dependente”, respectivamente. Após a fixação dos sensores, foi inserido um dreno de tórax (24 Fr) na região posterior e um dreno tipo Pigtail na região anterior. Os drenos têm o objetivo de retirar o ar da cavidade torácica que se acumulou devido à abertura da parede torácica e uma vez observada ausência de coleções de ar no espaço intrapleural, os mesmos serão fechados e mantidos dentro cavidade durante todo o protocolo – pois já observamos que os drenos não causavam repercussão nas medidas coletadas. Após estes procedimentos a incisão foi fechada em planos (arcos costais, musculo e pele). Os implantes dos sensores intrapleurais foram realizados por cirurgião torácico com experiência em experimentação animal. Após o implante, o animal foi reposicionado em decúbito supino, retornando aos parâmetros de VM prévios ao procedimento.

4.1.5 Instalação do balão esofágico

Para estimativa indireta da Ppl, foi introduzido um cateter esofágico com balão da marca Nutrivent (SIDAM, Itália) por via transoral e alocado na porção distal do esôfago. Após inserido, o V_{mín} foi insuflado (partindo sempre de -30 cmH₂O) e a posição adequada do balão confirmada pelos padrões na curva de

pressão do monitor, presença de artefato cardíaco e um teste de oclusão sob pausa expiratória, que consiste de compressões lentas na região torácica “Manobra de Baydur modificada”. O *software* de aquisição de dados dispõe de aplicativo para avaliar, durante o período das compressões, a relação entre a variação da pressão esofágica e a pressão traqueal ($\Delta P_{es}/\Delta P_{tr}$) (**Figura 8**). Consideramos uma boa correlação entre as variações dessas duas pressões, valores entre 0,8 e 1,2 cmH₂O, indicando que o balão está posicionado em uma região que reflete adequadamente a pressão pleural (39). Se os valores estiverem fora destes limites, o balão esofágico será reposicionado e o teste de oclusão repetido.

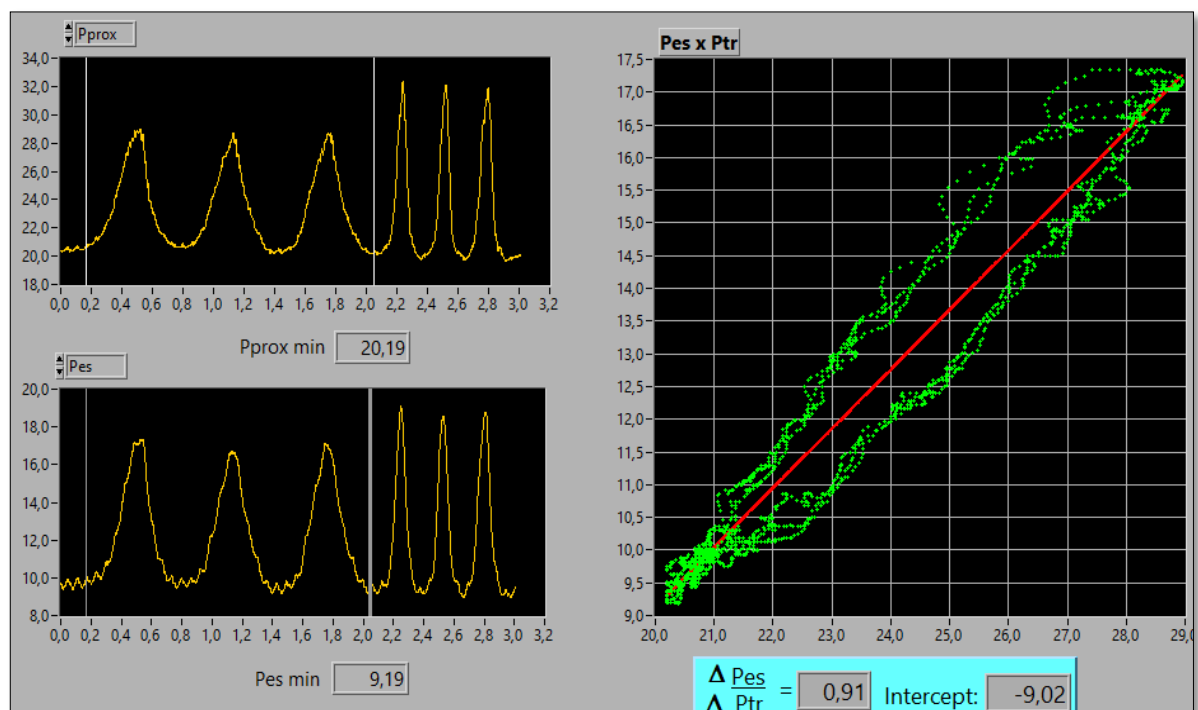


Figura 8. Teste de oclusão sob pausa expiratória manual

A pressão proximal foi adquirida também através de um transdutor e acoplado a uma saída do filtro umidificador higroscópico (HME), os sensores pleurais e o balão esofágico foram conectados a um sistema de aquisição de dados da marca @LINX (São Paulo, Brasil) com transdutores de pressão para um módulo conversor analógico-digital. Os sinais de pressão foram transferidos através de cabo de rede para um *notebook* com *software* de aquisição de sinais desenvolvido em linguagem

Labview (National Instruments, EUA) e este *software* permitiu a visualização das curvas de pressão e a gravação destes sinais para análise posterior.

Uma vez que, os sensores e cateter esofágico foram instalados e testados, os animais foram submetidos ao período de recuperação e reabsorção de possíveis áreas com pneumotórax residuais, com duração de uma hora, aproximadamente. Durante todo este período, o animal foi ventilado em PCV com ΔP suficientes para gerar 6 mL/kg, PEEP de 15 cmH₂O, relação inspiração-expiração (I:E) de 1 para 2 e FR que mantivesse a capnometria dentro dos valores de normalidade. Neste período os drenos também foram submetidos à pressão negativa intermitente.

4.1.6 Tomografia computadorizada

Ao final do período de estabilização, os animais foram transportados para o PISA, onde foram posicionados no tomógrafo de raio X. Em seguida, uma nova checagem da posição do balão esofágico, posição dos eletrodos da TIE (

Figura 9 e possíveis áreas de pneumotórax remanescentes do pós-operatório foram verificadas com uma TC pré-início da gravação das variáveis contínuas.

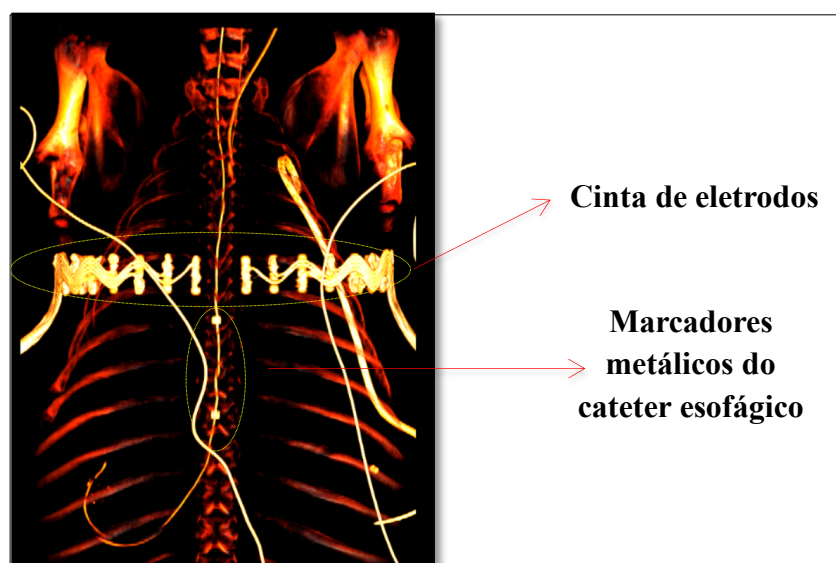


Figura 9. Imagem de TC de tórax do animal reconstruída em 3D

Visualização do posicionamento dos eletrodos da TIE e do cateter esofágico

O tomógrafo utilizado foi o Siemens Somatom®, Emotion 16 slices (Siemens AG®, Alemanha). Foram adquiridas imagens helicoidais em posição craniocaudal com espessura de 5 mm (reconstruídos em 1,5 mm) e com *Pitch* à 1,5. As medidas foram feitas nos momentos “pulmão normal” e “pulmão com lesão”. A medida de TC volumétrica foi adquirida com o objetivo de quantificar o colapso e estimar o gradiente da pressão superimposta em todos os passos da titulação e sob uma pausa expiratória na PEEP correspondente ao momento da titulação, ao qual iniciava sempre em 24 cmH₂O e seguia até 0 cmH₂O, com passos decrementais de 2 cmH₂O.

Quando o animal seguia o fluxo de não inserção dos sensores pleurais (Figura 3); este, realizava apenas TC em modo CPAP com titulação da PEEP.

No momento “animal obeso”, não foram adquiridas imagens de TC em decorrência do horário limite de funcionamento do PISA, no entanto as demais medidas foram feitas ao retornar para a UTI de animais.

4.1.7 Tomografia por Impedância Elétrica

A TIE modelo Enlight 1800® (Timpel, São Paulo, Brasil) foi instalado através de cinta circundando todo o tórax no 6º espaço intercostal. O sinal foi gravado de forma contínua durante todo o protocolo e a ferramenta “Titulação da PEEP” acionada quando necessário, proporcionando a monitorização em tempo real da complacência pulmonar, percentagem de colapso e hiperdistensão.

Previamente a gravação dos dados, os equipamentos foram checados e os sensores e cateter esofágico reinsuflados e submetidos a um novo teste de oclusão, para garantir que nada foi modificado em decorrência do transporte.

4.1.8 Protocolo intervencional

A seguir serão apresentados o protocolo realizado nas três condições: pulmão normal, pulmão com lesão e animal obeso.

4.1.8.1 Pulmão normal

Inicialmente, foi realizada uma manobra de recrutamento alveolar (MRA) em três passos, que aqui chamaremos de MRA padrão:

- **Passo 1:** PEEP 25 cmH₂O, ΔP 15 cmH₂O, $P_{plateau}$ 40 cmH₂O por 30 s;
- **Passo 2:** PEEP 30 cmH₂O, ΔP 15 cmH₂O, $P_{plateau}$ 45 cmH₂O por 30 s;
- **Passo 3:** PEEP 35 cmH₂O, ΔP 15 cmH₂O, $P_{plateau}$ 50 cmH₂O por 1 min.

Ao final da MRA, a PEEP foi ajustada em 24 cmH₂O e deu-se início a uma manobra de titulação da PEEP até 0 cmH₂O (13 passos), onde cada passo durou 90 segundos. O animal foi ventilado em modalidade de volume controlado (VCV) com VC de 6mL/kg, pausa inspiratória de 0,3 segundos e relação I:E de 1 para 2, FR de 25 ipm e F_iO₂ de 100%.

Após 30 segundos do início de cada passo da titulação, é feita uma pausa expiratória para realização do exame tomográfico que dura cerca de 20 a 30 segundos, Também são anotados os valores de pressão esofágica que são confrontados com a análise *off-line* posterior.

4.1.8.2 Pulmão com lesão - lavagem

Após a aquisição dos dados com o pulmão normal, os animais foram submetidos a lavagens pulmonares seriadas com solução salina (soro fisiológico 0,9%) aquecida (37°C) através do tubo traqueal em curtos intervalos de tempo. Em média foram necessárias 8 lavagens, destas 2 foram em decúbito lateral direito e posteriormente esquerdo, respectivamente. O alvo da lavagem foi obter uma PaO₂ < 150 mmHg.

Após a lavagem, os sensores e balão foram reinsuflados e os animais foram submetidos a uma nova MRA padrão seguida de manobra de titulação decremental da PEEP, como descrita previamente no item (3.1.8.1). A coleta de dados também seguiu o mesmo padrão.

4.1.8.3 Animal com peso no abdome

Finalizado a coleta de dados no pulmão pós-lavagem com solução salina, retornamos para a UTI de animais para completarmos o protocolo intervencional com o modelo “animal obeso”. Simulamos um modelo obeso com uma faixa de tecido preparada especialmente para se acomodar sobre o tórax do animal e adicionamos 5kg para cada lado da faixa. Sobre o abdome adicionamos mais 5kg, totalizando 15 quilos (Figura 10).

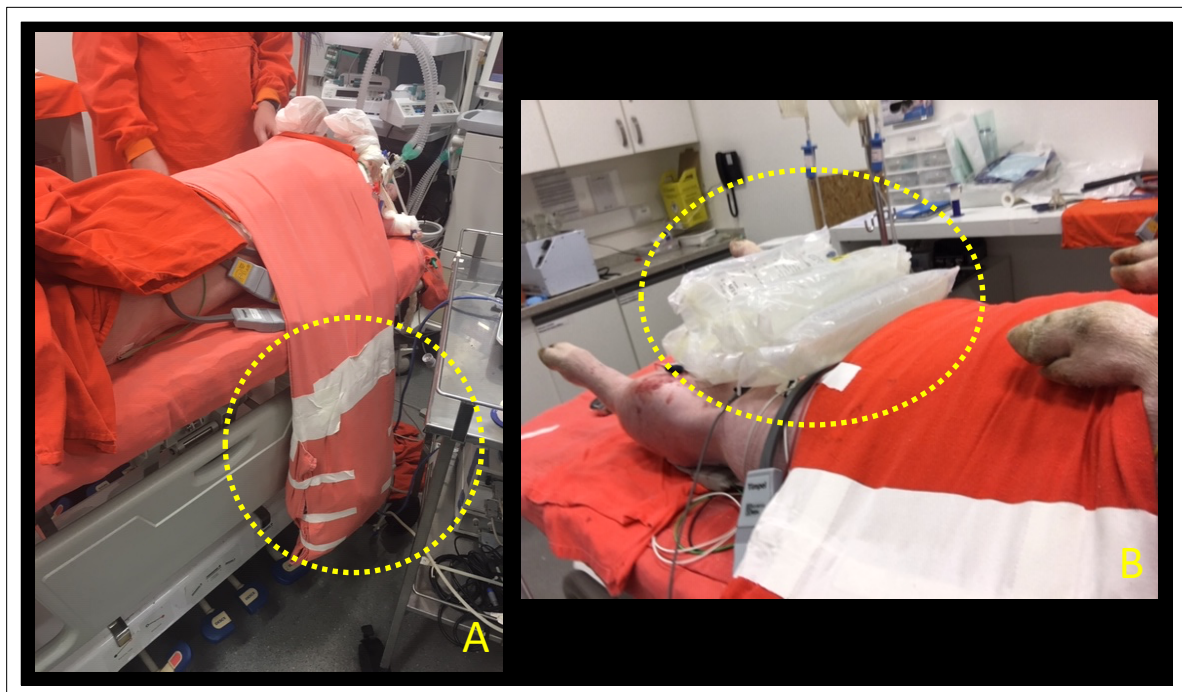


Figura 10. Simulação do animal com peso no abdome

A imagem 9-A mostra o animal em posição supina com a faixa de tecido sobre o tórax com 5kg de peso em cada lado. Na imagem 10-B podemos visualizar a disposição do peso sobre a barriga

4.1.9 Curva Pressão – Volume do pulmão fora caixa torácica na Tomografia computadorizada

Para a remoção do pulmão da caixa torácica do animal, este, era exsanguinado e sacrificado (com sobredose anestésica e administração de 10mL de KCl 19,1% em *bolus*, em acesso venoso central). Em seguida, o pulmão era extraído da caixa torácica e lavado com solução heparinizada.

Quando o animal seguia com abordagem apenas com o pulmão fora da caixa torácica (Figura 11), este realizava a titulação da PEEP na TC que iniciava sempre em 20 cmH₂O e seguia até 0 cmH₂O, com passos decrementais de 2 cmH₂O até a PEEP de 10 cmH₂O, e posteriormente, seguia de 1 em 1 cmH₂O até a PEEP de 0 cmH₂O.



Figura 11. Imagem do pulmão suspenso pela traqueia na TC e conectado ao ventilador mecânico durante uma manobra de titulação da PEEP

4.1.10 Curva Pressão – Volume (P-V) do pulmão suspenso fora da caixa torácica

Por fim, após a coleta de dados nos três modelos supracitados ou apenas com o pulmão fora da caixa na TC, o pulmão era mantido conectado durante todo o tempo na VM.

Com o pulmão já fora da caixa e posicionado em elevação, realizamos uma manobra de recrutamento em modo ventilatório PCV com ΔP de 10 cmH₂O, PEEP de 30 cmH₂O, relação I:E de 1 para 1 e FR de 15 ipm por 2 minutos e,

posteriormente, ajustamos a VM com uma PEEP de 24 cmH₂O, FR de 10, ΔP de 5 cmH₂O e relação I:E de 1 para 2. Diferentemente da titulação da PEEP realizada *in vivo*, o decaimento da PEEP foi de 2 em 2 cmH₂O até a PEEP de 8 cmH₂O, e depois em passos de 1 cmH₂O até a PEEP de 0. Este ultimo passo era realizado independente do fluxo de abordagens (utilizando sensores pleurais ou apenas o pulmão extraído sem inserção dos sensores na cavidade pleural).

Os sinais de pressão e fluxo foram gravados pela TIE e cada passo da titulação durou 60 segundos.

4.2 ANÁLISE DOS DADOS

4.2.1 Medidas direta e indireta da pressão pleural

A partir das medidas direta da pressão pleural ($P_{pl,D}$ $P_{pl,ND}$) – obtidas pelos sensores pleurais - calculamos a P_{tp} dependente ($P_{tp,D}$) e não dependente ($P_{tp,ND}$), através das seguintes equações:

$$P_{tp,D} = P_{va} - P_{pl,D}$$

$$P_{tp,ND} = P_{va} - P_{pl,ND}$$

O gradiente vertical de pressão pleural foi calculado de forma direta pela equação:

$$\text{Gradiente vertical da } P_{pl} = P_{pl,D_{EXP}} - P_{pl,ND_{EXP}}$$

4.2.2 Complacência do *pixel* - TIE

O ΔZ foi mensurado regionalmente pela TIE em todos os passos da titulação com duas faixas de *pixels* (24 unidades cada) localizadas nas regiões adjacentes à localização dos sensores dependente e não dependente, da mesma forma que a Pva foi obtida pelo pneumotacógrafo para medida da ΔP . Com estas informações calculamos a complacência de *pixel* regional através da equação:

$$C_{pixel} = \frac{\Delta Z}{P_{plateau} - PEEP}$$

4.2.3 Curva PEEP – $C_{est,pulmão}$ fora da caixa torácica

Utilizamos o pneumotacógrafo da TIE para gravação dos dados da curva P – V. Para a medida da complacência do pulmão utilizamos o Pneumobench_Analysis 9.0 (desenvolvido no programa National Instruments LabVIEW™) para calcular a complacência global. O programa extraiu os valores de Pva e fluxo, e o volume utilizado foi calculado pela integral do fluxo (**Figura 12**).

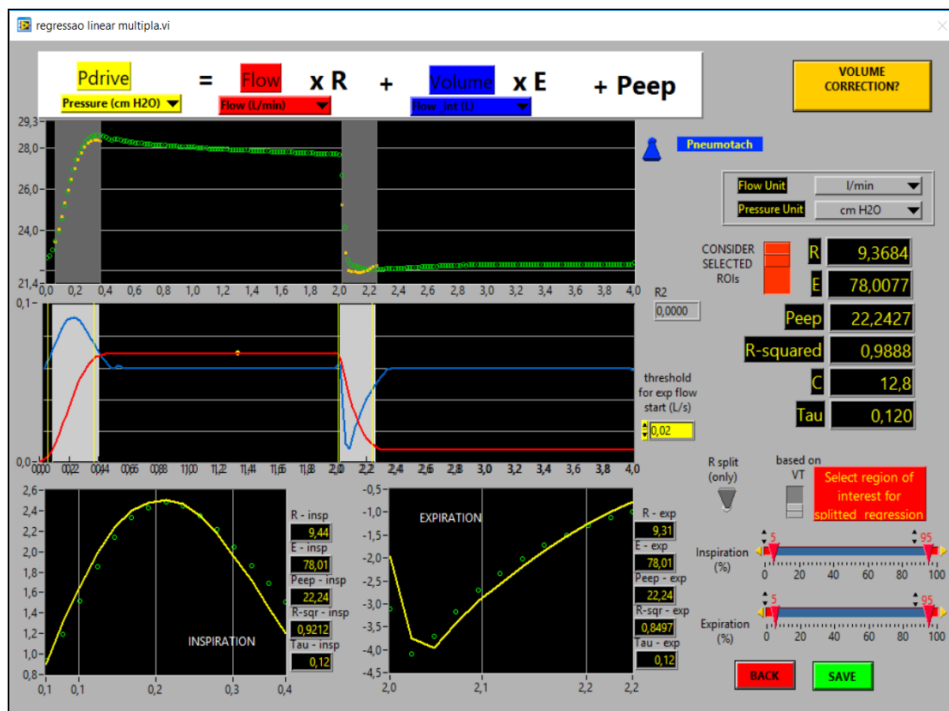


Figura 12. Exemplo representativo da análise da complacência do pulmão pelo método de regressão linear múltipla

4.2.4 Medidas de colapso regional e pressão superimposta – TC

As análises foram feitas de forma quantitativa através do *software* ImageJ® (National Institute of Health, USA). Foram selecionados 4 cortes de 5 mm de espessura cada um, para cada passo de PEEP. Os cortes foram definidos de acordo com a localização da faixa da TIE e localização dos sensores pleurais.

A quantificação do colapso foi medida regionalmente, com a ROI proporcional à área correspondente aos *pixels* selecionados na imagem da TIE (**Figura 13**). O limite de aeração para detectar tecido não aerado foi de (-200 a +100 UH).

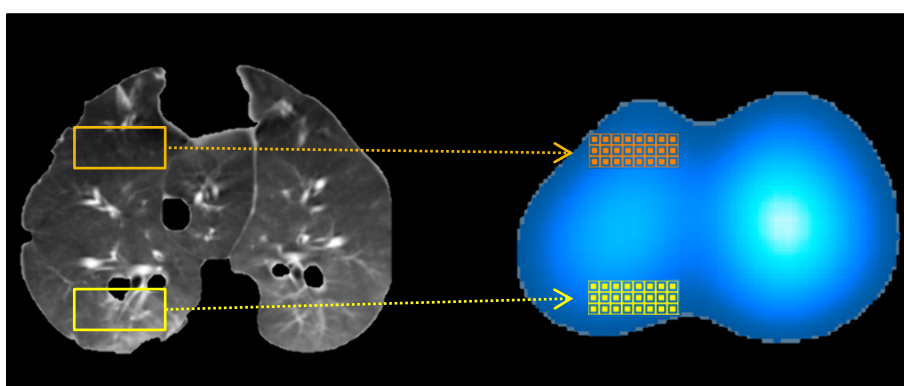


Figura 13. Corte transversal da TC e da TIE, destacando a alocação das ROI's

Para o cálculo da pressão transpulmonar foram selecionados 2 cortes de 5 mm espessura cada um. Para desenhar a ROI e em seguida calcular a média das UH, determinou-se um limite entre os sensores pleurais e restringiu-se ao pulmão direito.

Esta variável foi calculada nos momentos “pulmão normal” e “pulmão com lesão” e comparados ao gradiente vertical de pressão pleural. Para o cálculo da pressão superimposta, utilizou-se a seguinte equação:

Para o cálculo, **Pressão superimposta = Densidade pulmonar média*Altura**

onde, **densidade pulmonar = 1- (UH média/-1000)**, calculada para toda a coluna de pulmão entre os sensores.

Altura = distância entre as partes centrais dos sensores pleurais, em cm.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Neste projeto, inicialmente tínhamos como objetivo validar a acurácia e regionalização da pressão esofágica através de medidas diretas da pressão pleural. Nossa amostra inicialmente foi por conveniência, por não encontrarmos experimentos semelhantes na literatura. Realizamos experimentos-piloto em 07 animais (ocorreu uma perda por pneumotórax não drenável). Estes dados preliminares geraram uma publicação em parceria com pesquisadores da Universidade de Toronto(24). Os resultados ratificaram a acurácia da pressão esofágica como estimador global das pressões pleurais nas regiões mais dorsais do pulmão(23). No entanto, surgiram questionamentos sobre qual seria a mínima Ppt necessária para evitar o colapso regional pulmonar. Dados prévios em animais saudáveis demonstraram que na região dependente, a Ptp regional mínima para se observar início de colapso medido através da C_{pixel} calculada pela TIE foi de 3,1 cmH₂O. Mas o desenho dos experimentos não permitiu verificar este limite para outras regiões pulmonares (por exemplo, não pudemos verificar se o pulmão não dependente também se colapsava em pressões semelhantes). No presente estudo, pretendemos estudar estes limites também para as regiões não dependentes.

Numa tentativa de calcular uma mínima amostra razoável para o presente estudo consideramos o seguinte: variável de desfecho principal = pressão de distensão mínima para evitar o colapso regional estimado pela TIE ou pela TC. Pretendemos detectar diferenças na Ptp regional de 2 cmH₂O (por exemplo, entre pulmão saudável e com injúria), com erro tipo I de 5%, e um poder do teste de 90%, utilizando testes bicaudados. Em experimentos prévios, observamos desvio padrão das diferenças de pressão pleural dependente e não dependente de 1,4 cmH₂O. Estes valores levaram a um tamanho de amostra calculado de 8 animais. Como o animal passa por procedimento cirúrgico, os riscos se elevam e dessa forma contamos com perda estimada de aproximadamente 40% dos animais (incluindo 20% de perda animal e 20% de erros de procedimentos) ao final, calculamos um número máximo de 11 animais. O cálculo da amostra foi feito utilizando a plataforma StatSToDo disponível em https://www.statstodo.com/SSizPairedDiff_Exp.php.

Todos os dados foram apresentados individualmente, com média e erro padrão (EP) ou desvio padrão (DP). Utilizamos a análise de variância (ANOVA *two-way*) para medidas repetidas (gradiente pleural versus pressão superimposta) entre diferentes valores de PEEP (Titulação). Para análise dos dados e confecção dos gráficos foi utilizado o *software* GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, La Jolla, CA, EUA). O nível de significância foi $P < 0,05$.

5 RESULTADOS

Foram estudados 15 animais, destes foram incluídos 10 animais (Figura 14). Cinco foram excluídos, destes, um por fístula pleural, um por falha na captação dos dados, um por choque refratário à droga vasoativa durante os primeiros procedimentos ao chegar ao PISA, um por pneumotórax não-drenável no pós-operatório, e um por não apresentar troca gasosa apropriada após preparo ($P_aO_2 + P_aCO_2 < 400$ mmHg), com gasometria de exclusão insatisfatória.

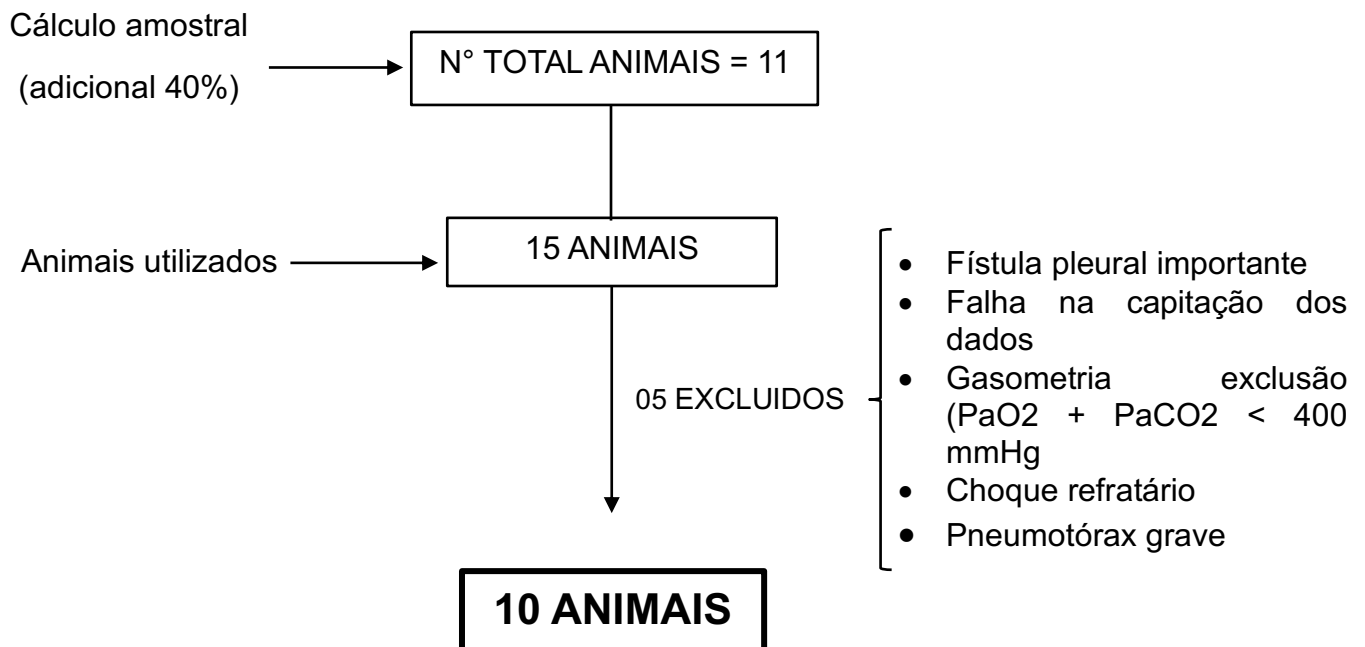


Figura 14. Fluxograma dos animais no estudo

Tabela 1. Fluxo de coleta de dados por condição pulmonar e/ou estratégia de coleta

Animal/ Coleta de Dados	Pulmão Saudável	Pulmão com lesão	Pulmão com peso no abdome	(P-V) Pulmão suspenso fora da caixa - CT	(P-V) Pulmão suspenso fora da caixa - Pva
1	X	X	X		X
2	X	X	X		X
3	X				X
4	X				X
5				X	
6				X	X
7	X			X	X
8		X			X
9					X
10					X

Legendas: P-V (pressão-volume); TC (tomografia computadorizada); Pva (pressão de vias aéreas).

Os dados preliminares que aqui serão apresentados, correspondem a dez animais, destes, os 5 primeiros foram limitados a coleta de dados com o pulmão normal e os outros três completaram todos os momentos “Pulmão normal”, “Pulmão com lesão” e “Obeso”. Outros 5 animais, realizaram coletas com o pulmão fora da caixa e suspensos na tomografia computadorizada e para realixacao da curva PEEP x complacência. Após o preparo em todos os animais, a gasometria de exclusão apresentou uma $PaO_2/FiO_2 = 503,7 \pm 62$ mmHg, para os que realizaram cirurgia para inserção dos sensores pleurais, no pós-operatório uma $PaO_2/FiO_2 = 356 \pm 52,4$ mmHg e, para três animais, no momento pós-lavagem com solução salina, uma $PaO_2/FiO_2 = 96,5 \pm 24,5$ mmHg.

5.1 Complacência regional do *pixel* – TIE

Durante a titulação decremental da PEEP com pulmão saudável, a melhor C_{pixel} para região dependente foi na PEEP de 14 cmH₂O, o que corresponde com a Ptp_{exp} de $5,04 \pm 0,59$ cmH₂O, para região não dependente, a melhor C_{pixel} foi encontrada na PEEP de 4 cmH₂O, o que corresponde com a Ptp_{exp} de $3,82 \pm 0,74$ cmH₂O (**Figura 15**).

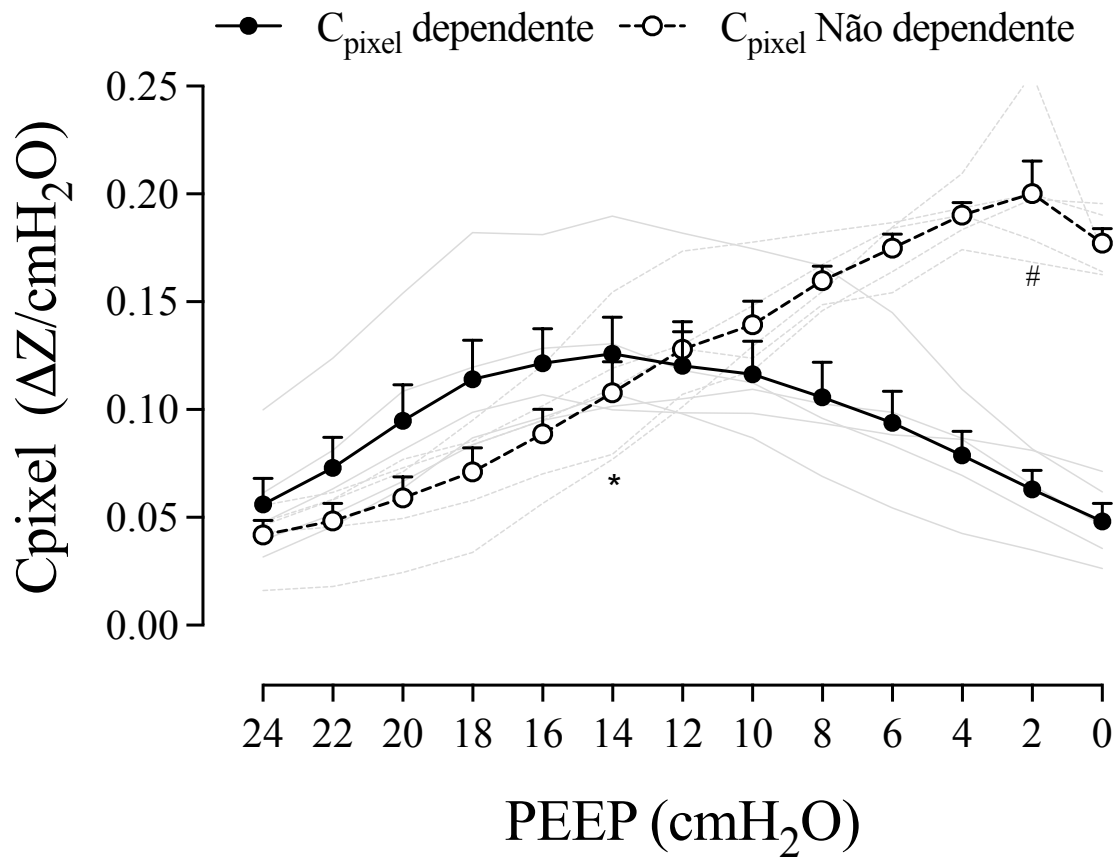


Figura 15. Complacência regional dos pixels durante a titulação decremental da PEEP em pulmão saudável, apresentado em média \pm EP e os dados individuais

Corresponde ao ponto de melhor C_{pixel} da região não dependente

* Corresponde ao ponto de melhor C_{pixel} da região dependente

Já com o pulmão lesado, a melhor C_{pixel} para região dependente foi na PEEP de 16 cmH₂O, o que corresponde com a $P_{tp_{exp}}$ de $5,4 \pm 1,21$ cmH₂O, para região não dependente, a melhor C_{pixel} foi encontrada na PEEP de 6 cmH₂O, o que corresponde com a $P_{tp_{exp}}$ de $3,98 \pm 0,08$ cmH₂O (**Figura 16**).

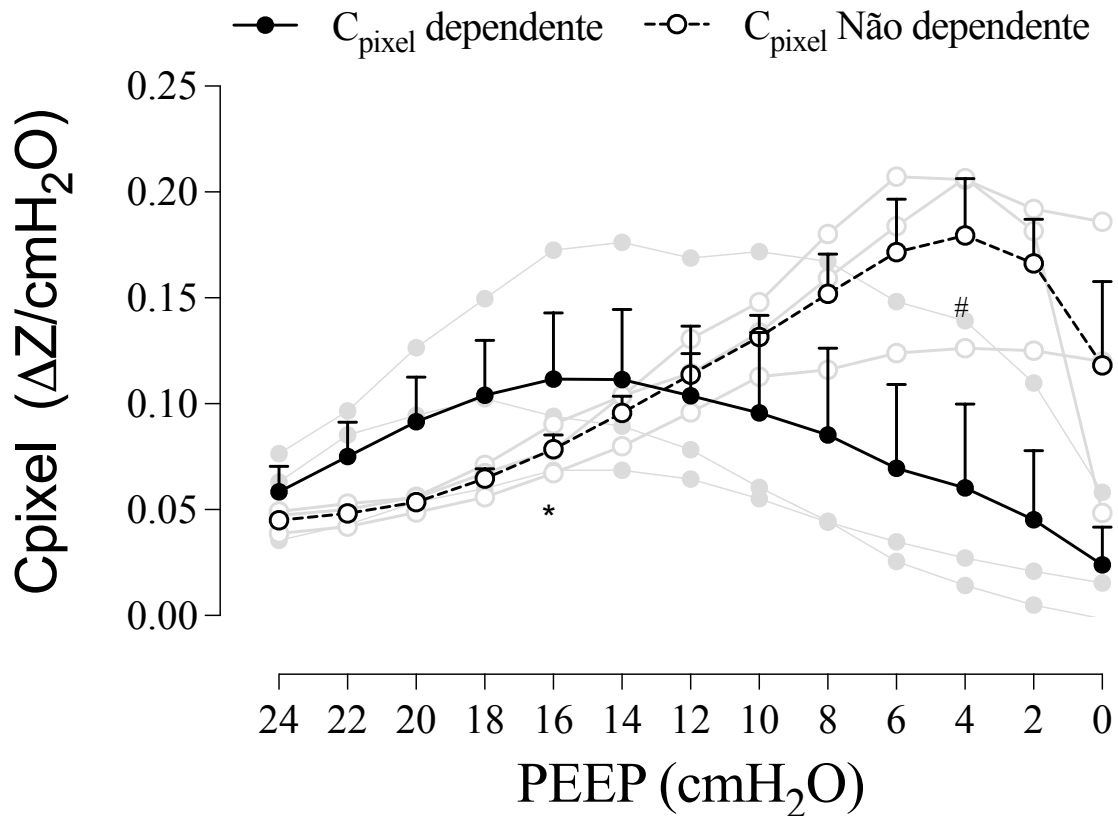


Figura 16. Complacência regional dos *pixels* durante a titulação decremental da PEEP em pulmão com injúria, apresentado em média \pm EP e os dados individuais

Corresponde ao ponto de melhor C_{pixel} da região não dependente

* Corresponde ao ponto de melhor C_{pixel} da região dependente

No animal obeso a melhor C_{pixel} para região dependente foi na PEEP de 20 cmH₂O, o que corresponde com a $P_{tp_{exp}}$ de $5,5 \pm 1,21$ cmH₂O, para região não dependente, a melhor C_{pixel} foi encontrada na PEEP de 8 cmH₂O, o que corresponde com a $P_{tp_{exp}}$ de $4,23 \pm 0,95$ cmH₂O (**Figura 17**).

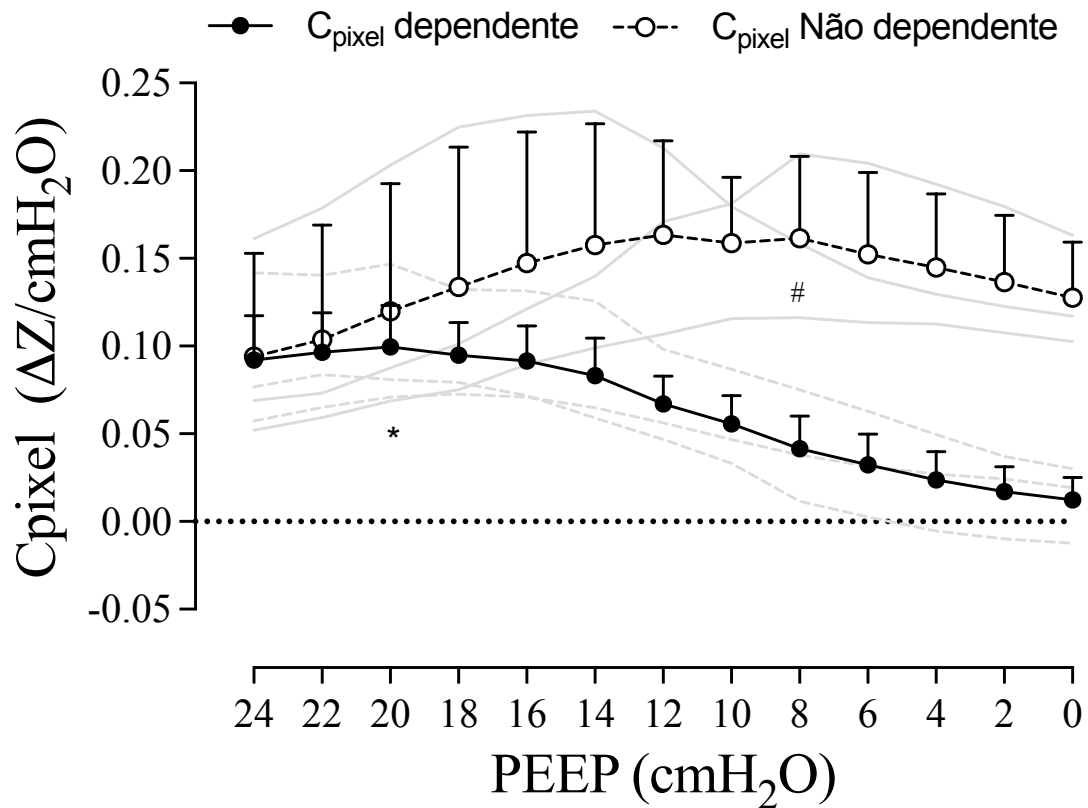


Figura 17. Complacência regional dos *pixels* durante a titulação decremental da PEEP em pulmão de animal obeso, apresentado em média \pm EP e os dados individuais

Corresponde ao ponto de melhor C_{pixel} da região não dependente

* Corresponde ao ponto de melhor C_{pixel} da região dependente

5.2 Curva PEEP - $C_{est_{pulmão}}$ fora da caixa torácica

É sabido que uma vez isolado o pulmão da caixa torácica, a PEEP aplicada sobre o tecido pulmonar corresponde à P_{tp} , assumindo que a $P_{pl} = 0$. Neste momento, também acolhemos que retiramos o efeito gravitacional total ou parcial. Sendo assim, temos como objetivo observar em qual momento de P_{tp} visualizou-se o ponto de máxima complacência do tecido pulmonar como um todo e, aceitamos que, imediatamente, após esse ponto, começaria a ocorrer colapso. Este ponto máximo será considerado como a mínima P_{tp} necessária para o pulmão começar a gerar colapso.

A figura 18 representa o comportamento médio de cinco animais com pulmão saudável, correspondendo a uma $C_{est_{pulmão}}$ máxima com uma P_{tp} de 3 cmH₂O durante uma titulação decremental da PEEP.

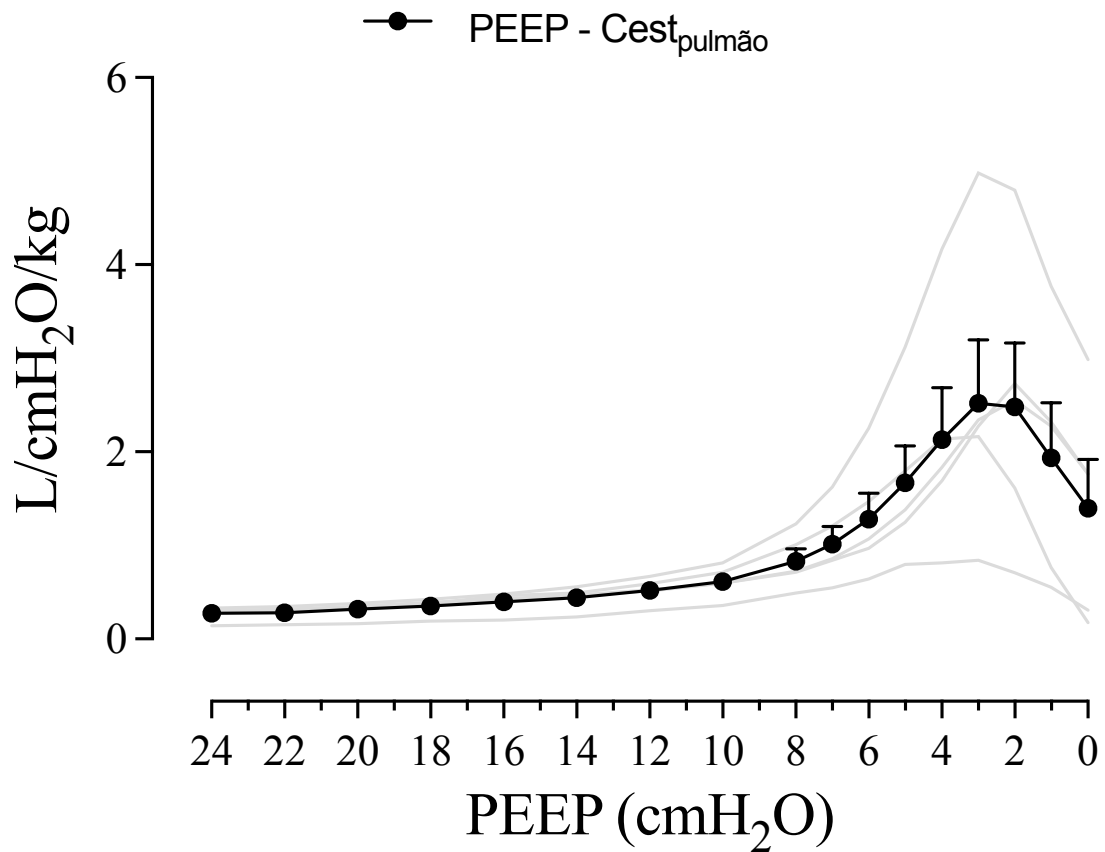


Figura 18. Comportamento da complacência pulmonar fora da caixa torácica durante uma manobra decremental da Ptp

No eixo Y à esquerda representamos os valores de $C_{est_{pulmão}}$ média de todos os animais representadas por suas respectivas pressões transpulmonares.

Já na figura 19, esta, representa o comportamento médio de quatro animais com pulmão lesado, correspondendo a uma $C_{est_{pulmão}}$ máxima com uma Ptp de 4 cmH₂O durante uma titulação decremental da PEEP.

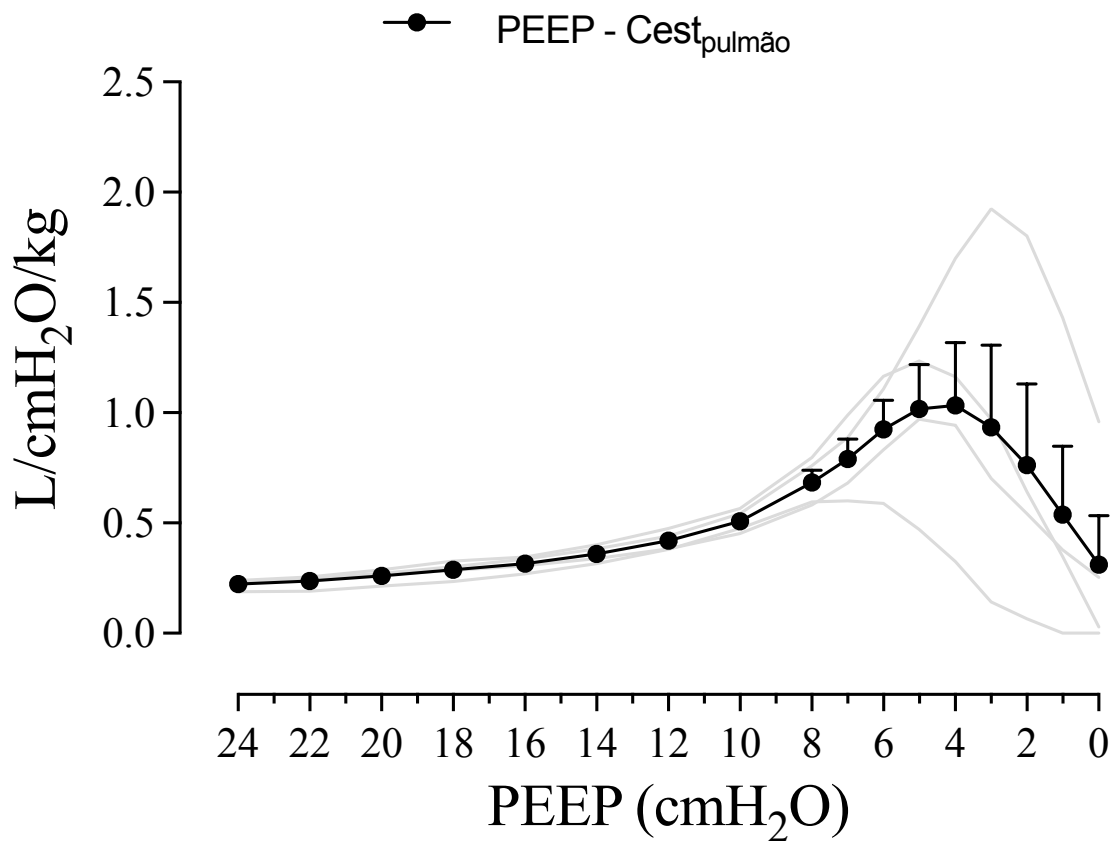


Figura 19. Comportamento da complacência pulmonar fora da caixa torácica durante uma manobra decremental da Ptp

No eixo Y à esquerda representamos os valores de $C_{est_{pulmão}}$ média de todos os animais representadas por suas respectivas pressões transpulmonares.

5.3 Curva PEEP - $C_{est_{pulmão}}$ fora da caixa torácica na TC

A figura 20 representa o comportamento médio de cinco animais com pulmão saudável, correspondendo ao comportamento de tecido pobremente aerado a não-aerado (-500 a 100 HU) durante uma titulação decremental da PEEP.

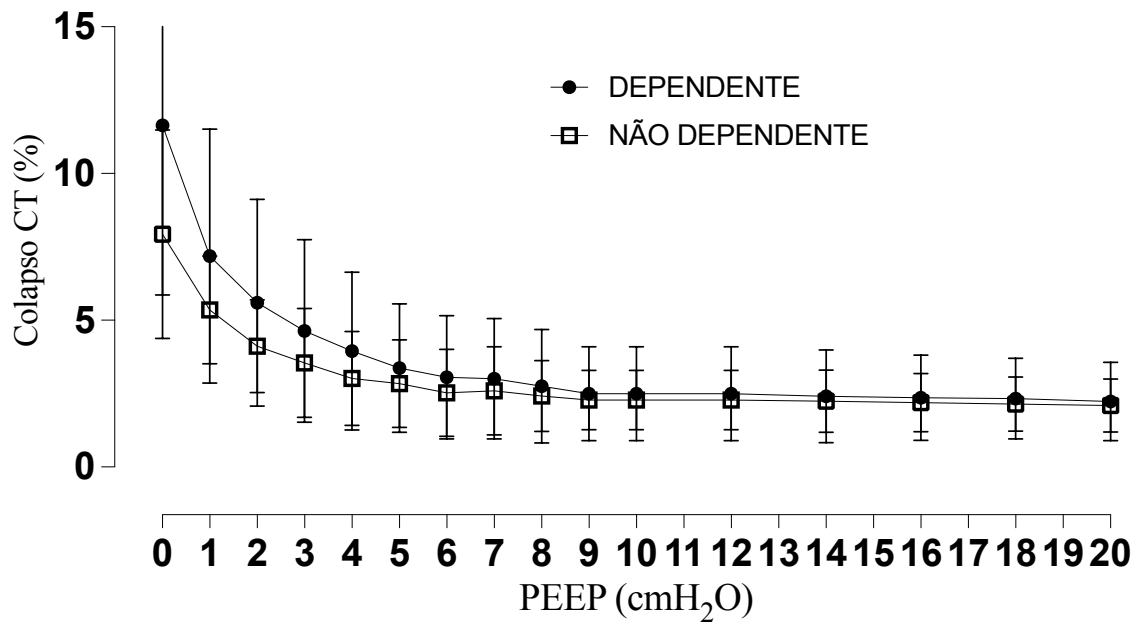


Figura 20. Comportamento do colapso pulmonar regionalmente dividido entre região dependente (50% do tecido) e não dependente fora da caixa torácica durante uma manobra decremental na TC

No eixo Y à esquerda representamos os valores de média de todos os animais representadas por seus níveis de colapso do tecido pulmonar.

A figura 21 representa o comportamento médio de cinco animais com pulmão saudável, correspondendo ao comportamento de tecido não-aerado (-200 a 100 HU) durante uma titulação decremental da PEEP.

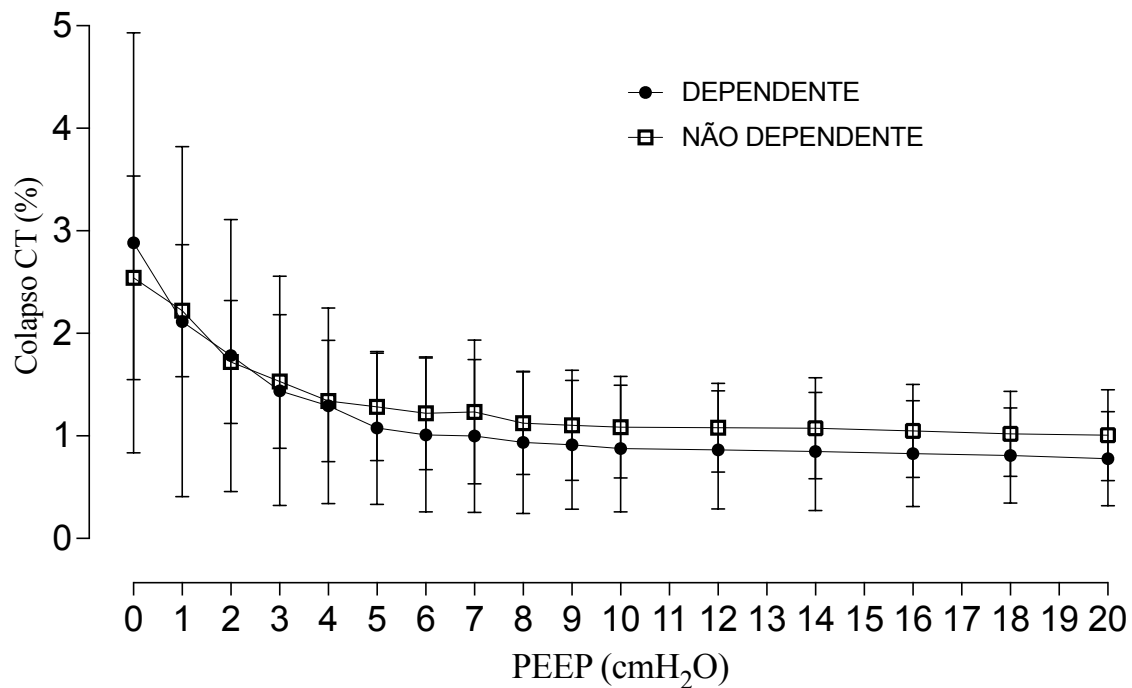


Figura 21. Comportamento do colapso pulmonar regionalmente dividido entre região dependente (50% do tecido) e não dependente fora da caixa torácica durante uma manobra decremental na TC

No eixo Y à esquerda representamos os valores de média de todos os animais representadas por seus níveis de colapso do tecido pulmonar.

5.4 Colapso regional – TC

O objetivo destes achados é corroborar com os momentos de início do colapso encontrados nas respectivas PEEPs através dos pontos máximos de C_{pixel} visualizados pela TIE.

No pulmão saudável, ao quantificarmos a colapso pulmonar pela TC (densidade pulmonar de +200 – 100 UH), encontramos colapso a partir da PEEP de 14 cmH₂O para ROI correspondente à região dependente, enquanto que para região não dependente, essa PEEP foi de 4 cmH₂O (**Figura 23**).

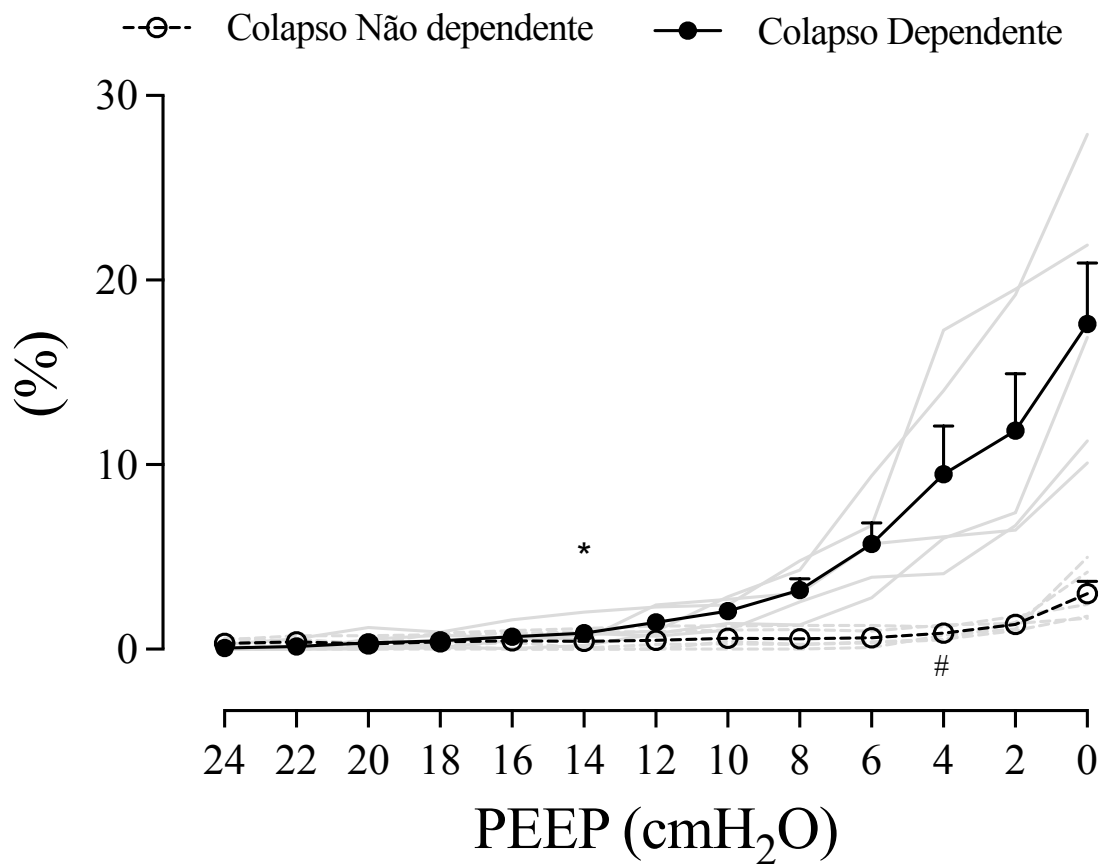


Figura 22. Evolução regional do colapso pulmonar (em porcentagem) durante a titulação decremental da PEEP com pulmão saudável, medidos através de TC, apresentados em média \pm EP e os dados individuais

Corresponde ao ponto início do colapso da região não dependente

* Corresponde ao ponto início do colapso da região dependente

Já com o pulmão lesado e, o colapso avaliado através da TC (considerando a densidade pulmonar de +200 a 100 UH), observamos seu início na região dependente na PEEP de 16 cmH₂O, já na região não dependente na PEEP de 6 cmH₂O (**Figura 24**).

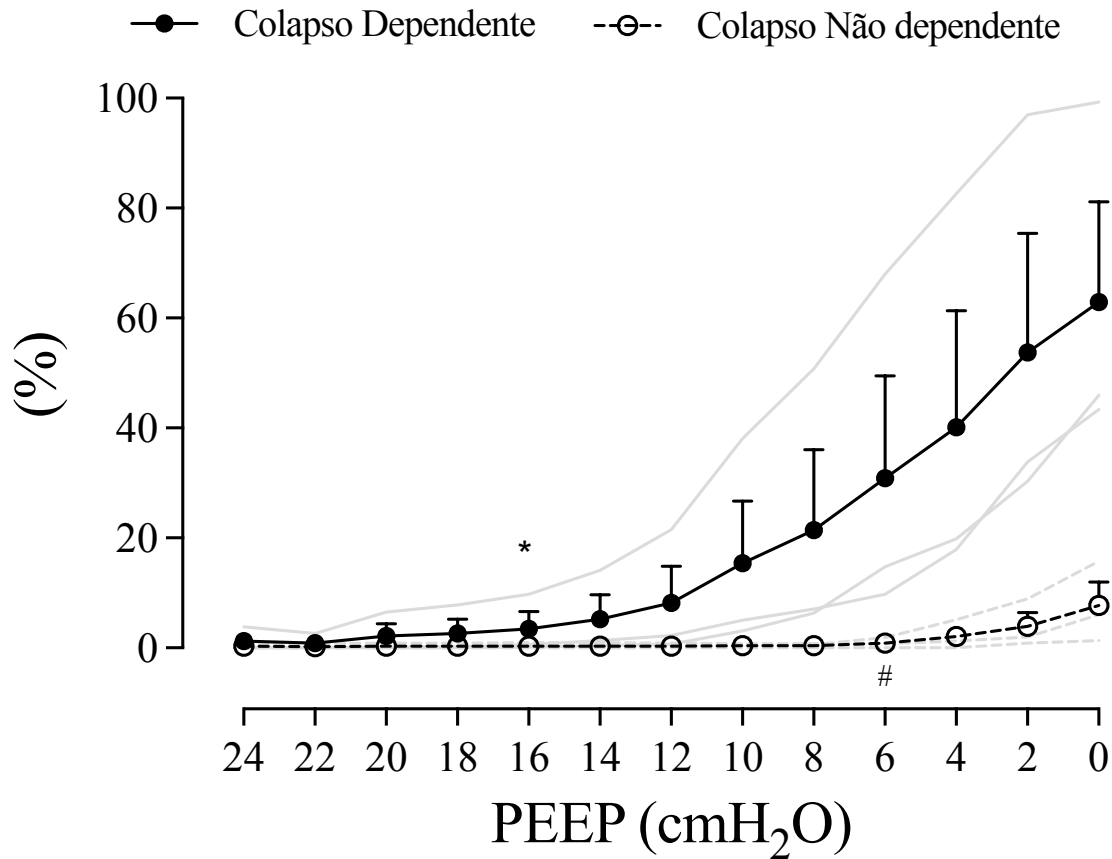


Figura 23. Evolução regional do colapso pulmonar (em porcentagem) durante a titulação decremental da PEEP com pulmão lesado, medidos através de TC, apresentado em média \pm EP e os dados individuais

Corresponde ao ponto início do colapso da região não dependente

* Corresponde ao ponto início do colapso da região dependente

5.5 Gradiente vertical pleural e pressão superimposta

O gradiente vertical pleural é a diferença da pressão pleural absoluta expiratória entre os sensores alocados na cavidade pleural. Uma forma de validar a acurácia dos valores absolutos provenientes dos sensores é correlacionando-os com a pressão superimposta calculada através da TC(23).

Não observamos diferença entre o gradiente vertical pleural avaliado pelos sensores pleurais e pela pressão superimposta calculada pela TC, tanto na condição de pulmão saudável (**Figura 25**), quanto no pulmão com lesão (**Figura 26**).

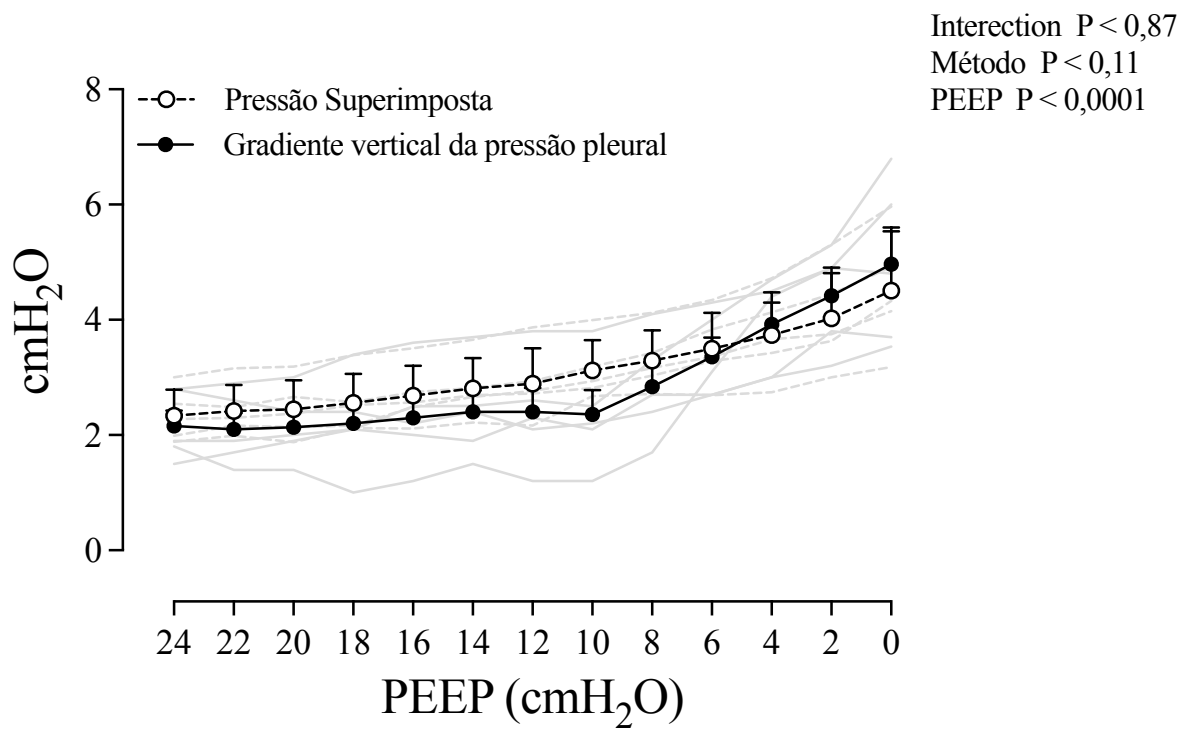


Figura 24. Comportamento do gradiente vertical pleural e pressão superimposta ao longo de uma titulação da PEEP em animais com pulmão normal, apresentados por média \pm EP e os dados individuais

Não observamos diferença entre os métodos ($P = 0.11$) e (interação $P < 0,87$). No entanto, houve influência da PEEP ao longo do seu decaimento ($P < 0,0001$)

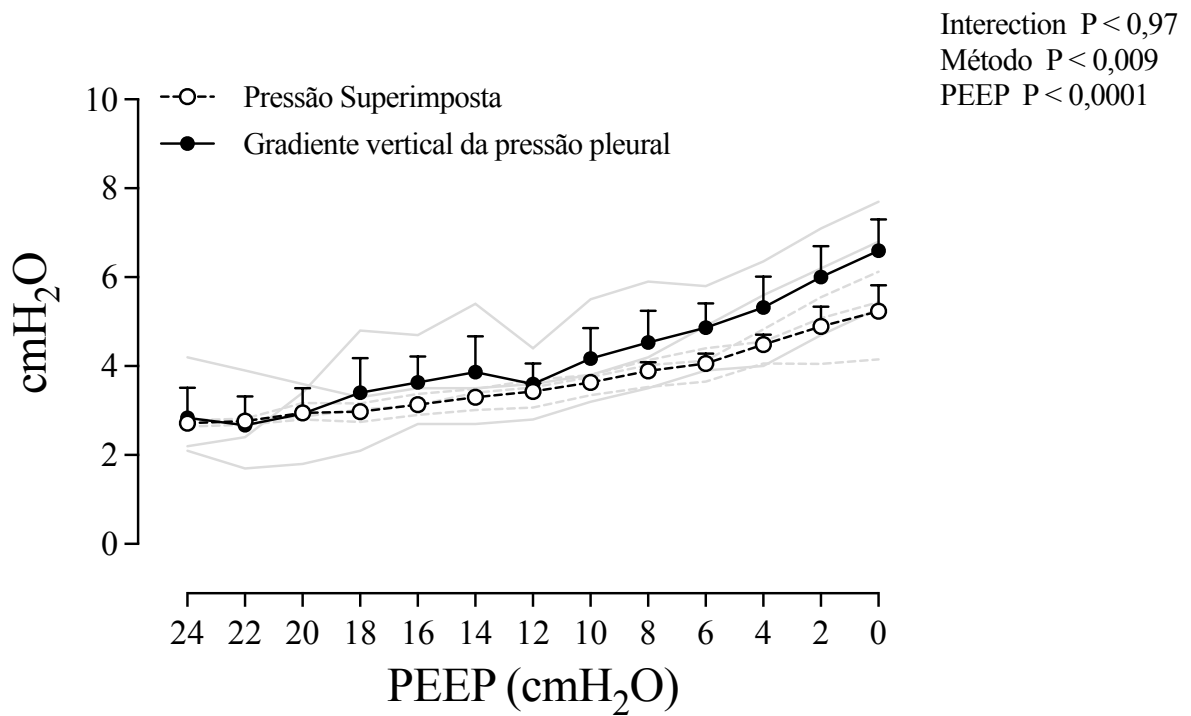


Figura 25. Comportamento do gradiente vertical pleural e pressão superimposta ao longo de uma titulação da PEEP em animais com injúria pulmonar, apresentados por média \pm EP e os dados individuais

Também não observamos diferença entre os métodos ($P < 0,009$) e (interação $P < 0,97$). Semelhante ao pulmão saudável houve influência da PEEP ao longo do seu decaimento ($P < 0,0001$).

6 DISCUSSÃO

Este estudo fisiológico trouxe à margem da pesquisa experimental para medidas da pressão pleural, a iniciativa de identificar e guiar, tanto do ponto de vista fisiológico experimental, como um “norte” para guiar o ajuste da PEEP e como consequência, a $P_{pt_{exp}}$, durante a utilização da ventilação mecânica com objetivo de evitar o colapso do tecido pulmonar.

6.1 Pressão transpulmonar com o pulmão dentro e fora da caixa torácica

Os dados aqui apresentados sugerem que o ajuste da PEEP durante uma titulação decremental pode ser otimizado através da utilização de valores identificados neste estudo em uma $P_{L_{exp}}$ que podem variar entre 2 (dois) a 4 (quatro) cmH_2O , tanto em animais com pulmão saudável, modelo de lesão pulmonar e com peso sobre o abdome. Este achado foi corroborado pelas medidas e respectivas ferramentas: a) complacência do pixel, aferida pela TIE; b) o colapso regional do tecido pulmonar através da TC; c) a curva (P-V) com titulação decremental do pulmão fora da caixa torácica e nova curva (P-V) decremental, agora com quantificação do tecido não aerado ou pobremente aerado de acordo com as janelas de aeração utilizadas para esta medida.

6.2 Limitações do estudo

6.2.1 Análise dos dados

Durante a análise dos dados do pulmão dentro da caixa torácica, para quantificar a complacência dos pixels e sua respectiva representatividade regional na quantificação do colapso regional aferido pela tomografia computadorizada, não conseguimos criar uma malha de impedância específica para cada tomografia. Mesmo a tomografia computadorizada sendo uma medida estática de níveis de aeração pulmonar e a TIE dinâmica, a concordância encontrada nos diferentes modelos aqui testados, demonstram que esta limitação possivelmente não trouxe interferência nos resultados para estas variáveis.

6.2.2 Modelo experimental

A complexidade dos procedimentos realizados durante estes experimentos eram sabidos, baseados em protocolos pilotos prévios ao início da pesquisa. Verdade esta, que nos fizeram acreditar em uma perda amostral de até 40% dos animais, pelos diversos riscos associados aos procedimentos acima citados.

Um outro ponto de limitação, era entender o comportamento da Ptp no modelo com peso sobre o abdome (simulando um animal obeso); este não foi contemplado com tomografia dentro do tórax pelo horário limite de funcionamento do PISA.

7 Referências

1. Tsuchida S, Engelberts D, Peltekova V, Hopkins N, Frndova H, Babyn P, et al. Atelectasis causes alveolar injury in nonatelectatic lung regions. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2006;174(3):279-89.
2. Gomez-Laberge C, Rettig JS, Smallwood CD, Boyd TK, Arnold JH, Wolf GK. Interaction of dependent and non-dependent regions of the acutely injured lung during a stepwise recruitment manoeuvre. *Physiological measurement*. 2013;34(2):163-77.
3. Borges JB, Costa EL, Bergquist M, Lucchetta L, Widstrom C, Maripuu E, et al. Lung inflammation persists after 27 hours of protective Acute Respiratory Distress Syndrome Network Strategy and is concentrated in the nondependent lung. *Critical care medicine*. 2015;43(5):e123-32.
4. Brower RG, Matthay MA, Morris A, Schoenfeld D, Thompson BT, Wheeler A. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *The New England journal of medicine*. 2000;342(18):1301-8.
5. Cipulli F, Vasques F, Duscio E, Romitti F, Quintel M, Gattinoni L. Atelectrauma or volutrauma: the dilemma. *J Thorac Dis*. 2018;10(3):1258-64.
6. Slutsky AS. Lung injury caused by mechanical ventilation. *Chest*. 1999;116(1 Suppl):9S-15S.
7. Talmor D, Sarge T, O'Donnell CR, Ritz R, Malhotra A, Lisbon A, et al. Esophageal and transpulmonary pressures in acute respiratory failure. *Crit Care Med*. 2006;34(5):1389-94.
8. Coruh B, Luks AM. Positive end-expiratory pressure. When more may not be better. *Annals of the American Thoracic Society*. 2014;11(8):1327-31.
9. Slutsky AS, Ranieri VM. Ventilator-induced lung injury. *The New England journal of medicine*. 2013;369(22):2126-36.

10. Tusman G, Bohm SH, Warner DO, Sprung J. Atelectasis and perioperative pulmonary complications in high-risk patients. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2012;25(1):1-10.
11. Chiumello D, Pristine G, Slutsky AS. Mechanical ventilation affects local and systemic cytokines in an animal model of acute respiratory distress syndrome. *American journal of respiratory and critical care medicine.* 1999;160(1):109-16.
12. Nakazawa K, Yokoyama K, Yamakawa N, Makita K. Effect of positive end-expiratory pressure on inflammatory response in oleic acid-induced lung injury and whole-lung lavage-induced lung injury. *Journal of anesthesia.* 2007;21(1):47-54.
13. Mercat A, Richard JC, Vielle B, Jaber S, Osman D, Diehl JL, et al. Positive end-expiratory pressure setting in adults with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *Jama.* 2008;299(6):646-55.
14. Silva PL, Negrini D, Rocco PR. Mechanisms of ventilator-induced lung injury in healthy lungs. *Best practice & research Clinical anaesthesiology.* 2015;29(3):301-13.
15. Pereira SM, Tucci MR, Morais CCA, Simoes CM, Tonelotto BFF, Pompeo MS, et al. Individual Positive End-expiratory Pressure Settings Optimize Intraoperative Mechanical Ventilation and Reduce Postoperative Atelectasis. *Anesthesiology.* 2018;129(6):1070-81.
16. Fumagalli J, Berra L, Zhang C, Pirrone M, Santiago RRS, Gomes S, et al. Transpulmonary Pressure Describes Lung Morphology During Decremental Positive End-Expiratory Pressure Trials in Obesity. *Critical care medicine.* 2017;45(8):1374-81.
17. Bime C, Fiero M, Lu Z, Oren E, Berry CE, Parthasarathy S, et al. High Positive End-Expiratory Pressure Is Associated with Improved Survival in Obese Patients with Acute Respiratory Distress Syndrome. *The American journal of medicine.* 2017;130(2):207-13.
18. Máca J, Jor O, Holub M, Sklienka P, Burša F, Burda M, et al. Past and Present ARDS Mortality Rates: A Systematic Review. *Respiratory Care.* 2017;62(1):113-22.

19. Terragni PP, Rosboch G, Tealdi A, Corno E, Menaldo E, Davini O, et al. Tidal hyperinflation during low tidal volume ventilation in acute respiratory distress syndrome. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2007;175(2):160-6.
20. Akoumianaki E, Maggiore SM, Valenza F, Bellani G, Jubran A, Loring SH, et al. The application of esophageal pressure measurement in patients with respiratory failure. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2014;189(5):520-31.
21. Protti A, Cressoni M, Santini A, Langer T, Mietto C, Febres D, et al. Lung stress and strain during mechanical ventilation: any safe threshold? *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2011;183(10):1354-62.
22. Talmor D, Sarge T, Malhotra A, O'Donnell CR, Ritz R, Lisbon A, et al. Mechanical ventilation guided by esophageal pressure in acute lung injury. *The New England journal of medicine*. 2008;359(20):2095-104.
23. Pelosi P, Goldner M, McKibben A, Adams A, Eccher G, Caironi P, et al. Recruitment and derecruitment during acute respiratory failure: an experimental study. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2001;164(1):122-30.
24. Yoshida T, Amato MBP, Grieco DL, Chen L, Lima CAS, Roldan R, et al. Esophageal Manometry and Regional Transpulmonary Pressure in Lung Injury. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2018;197(8):1018-26.
25. Yoshida T, Brochard L. Esophageal pressure monitoring: why, when and how? *Current opinion in critical care*. 2018;24(3):216-22.
26. Mead J, Gaensler EA. Esophageal and pleural pressures in man, upright and supine. *J Appl Physiol*. 1959;14(1):81-3.
27. Sarge T, Talmor D. Targeting transpulmonary pressure to prevent ventilator induced lung injury. *Minerva anesthesiologica*. 2009;75(5):293-9.
28. Loring SH, Talmor D. The authors reply. *Critical care medicine*. 2015;43(2):e54-5.

29. Grieco DL, Chen L, Brochard L. Transpulmonary pressure: importance and limits. *Annals of translational medicine*. 2017;5(14):285.
30. Brochard L. Measurement of esophageal pressure at bedside: pros and cons. *Current opinion in critical care*. 2014;20(1):39-46.
31. Walsh BK, Smallwood CD. Electrical Impedance Tomography During Mechanical Ventilation. *Respir Care*. 2016;61(10):1417-24.
32. Meier T, Luepschen H, Karsten J, Leibecke T, Grossherr M, Gehring H, et al. Assessment of regional lung recruitment and derecruitment during a PEEP trial based on electrical impedance tomography. *Intensive care medicine*. 2008;34(3):543-50.
33. Costa EL, Lima RG, Amato MB. Electrical impedance tomography. *Current opinion in critical care*. 2009;15(1):18-24.
34. Victorino JA, Borges JB, Okamoto VN, Matos GF, Tucci MR, Caramez MP, et al. Imbalances in regional lung ventilation: a validation study on electrical impedance tomography. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2004;169(7):791-800.
35. Costa EL, Borges JB, Melo A, Suarez-Sipmann F, Toufen C, Jr., Bohm SH, et al. Bedside estimation of recruitable alveolar collapse and hyperdistension by electrical impedance tomography. *Intensive care medicine*. 2009;35(6):1132-7.
36. Banchero N, Schwartz PE, Tsakiris AG, Wood EH. Pleural and esophageal pressures in the upright body position. *J Appl Physiol (1985)*. 1967;23(2):228-34.
37. D'Angelo E, Agostoni E. Continuous recording of pleural surface pressure at various sites. *Respir Physiol*. 1973;19(3):356-68.
38. Walterspacher S, Isaak L, Guttman J, Kabitz HJ, Schumann S. Assessing respiratory function depends on mechanical characteristics of balloon catheters. *Respir Care*. 2014;59(9):1345-52.
39. Baydur A, Behrakis PK, Zin WA, Jaeger M, Milic-Emili J. A simple method for assessing the validity of the esophageal balloon technique. *The American review of respiratory disease*. 1982;126(5):788-91.

