

Estabilidade do modelo animal de lesão pulmonar aguda induzida por ácido oleico*

Stability of the animal model of oleic acid-induced acute lung injury

Eduardo Gaio, César Augusto de Melo e Silva, Flávio Brito,
Marco Aurélio Pereira Firmino, Rodrigo Storck, Eduardo Freitas

Resumo

Objetivo: Avaliar a estabilidade das variáveis hemodinâmicas, da mecânica respiratória e de troca gasosa do modelo animal de lesão pulmonar aguda induzida por ácido oleico. **Métodos:** Trata-se de um estudo experimental no qual foram utilizados 10 cães de raça indeterminada. As variáveis foram aferidas inicialmente e em 30, 60, 90 e 120 min após a administração do ácido oleico. Para analisar as medidas repetidas, foram testados efeitos lineares e quadráticos e foram utilizados ajustes de modelos lineares mistos com estruturas de variâncias e covariâncias diversificadas, dependendo da variável analisada. **Resultados:** Observamos estabilidade da pressão arterial média aos 30 min, assim como da frequência cardíaca, da pressão arterial pulmonar e da pressão de capilar pulmonar aos 60 min. Frequência respiratória, volume corrente, volume minuto e trabalho respiratório estabilizaram aos 30 min. Quanto às variáveis de troca gasosa, PaO_2 , relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ e fração de *shunt* pulmonar estabilizaram-se aos 30 min. As demais variáveis mantiveram-se em ascensão ou queda contínuas. **Conclusões:** O modelo de lesão pulmonar aguda induzida por ácido oleico é estável para algumas das variáveis testadas; porém, a estabilização se dá em momentos diferentes. As variáveis da mecânica respiratória e de troca gasosa estabilizaram em 30 min, e as hemodinâmicas, em 60 min.

Descritores: Síndrome do desconforto respiratório do adulto; Modelos animais; Análise estatística.

Abstract

Objective: To evaluate the stability of hemodynamic, respiratory and gas exchange variables in an animal model of oleic acid-induced acute lung injury. **Methods:** This was an experimental study involving 10 mongrel dogs. The variables were measured at baseline, as well as at 30, 60, 90 and 120 min after the administration of oleic acid. In order to analyze repeated measurements, linear and quadratic effects were tested. Mixed linear models with diversified variance and covariance structures were used, depending on the variable studied. **Results:** We found that mean arterial blood pressure stabilized at 30 min, as did heart rate, pulmonary arterial pressure and pulmonary capillary pressure at 60 min. Respiratory rate, tidal volume, minute volume and respiratory work stabilized at 30 min. Regarding gas exchange variables, PaO_2 , $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ratio and pulmonary shunt fraction stabilized at 30 min. The remaining variables maintained a continuous rise or fall. **Conclusions:** This oleic acid-induced acute lung injury model is stable for some of the variables tested, although stabilization occurs at different times. The respiratory and gas exchange variables stabilized at 30 min, whereas the hemodynamic variables stabilized at 60 min.

Keywords: Respiratory distress syndrome, adult; Models, animal; Statistical analysis.

Introdução

A lesão pulmonar aguda (LPA) é uma entidade comum, por vezes de evolução rápida e geralmente grave. Sua incidência varia entre faixas etárias e tem aumentado nos últimos anos.⁽¹⁾ Invariavelmente, os indivíduos acometidos necessitam cuidados intensivos e ventilação mecânica. O estudo da fisiopatologia da LPA avançou, e sua abordagem terapêutica merece

destaque na literatura médica. Instabilidades em variáveis biológicas, a partir do início da ventilação à pressão positiva, são bem conhecidas, principalmente a queda do débito cardíaco (Qt) perante ofertas de maiores pressões de abertura de via aérea, de modo que se faz necessária a titulação de parâmetros da ventilação mecânica.⁽²⁾ Devido à complexidade de sua

* Trabalho realizado no Laboratório de Fisiologia Respiratória, Universidade de Brasília, Brasília (DF) Brasil.

Endereço para correspondência: Eduardo Gaio. SQN 311, Bloco D, apto. 102, Asa Norte, CEP 70757-040, Brasília, DF, Brasil.

Tel 55 61 3307-3224. E-mail: eduardogaio@unb.br

Apoio financeiro: Nenhum.

Recebido para publicação em 9/12/2008. Aprovado, após revisão, em 22/4/2009.

fisiopatologia e a interações em outros sistemas, principalmente o cardiovascular, a LPA é objeto de estudo em diversos campos da ciência médica. Os modelos animais mais utilizados para a indução de LPA são a lavagem broncoalveolar com solução fisiológica, a administração intraperitoneal de paraquat, a isquemia e reperfusão e a administração de ácido oleico (AO) no sistema venoso.⁽³⁾ Esse último foi inicialmente utilizado como modelo animal de embolia pulmonar,⁽⁴⁾ e, posteriormente, avaliou-se a lesão inflamatória por ele causada,⁽⁵⁾ que é semelhante àquela naturalmente encontrada na lesão pulmonar.⁽⁶⁾ A infusão venosa do AO produz lesão no endotélio capilar,⁽⁷⁾ pouco altera as propriedades de relaxamento e contração oferecidas pelo endotélio,⁽⁸⁾ respeita zonas dependentes da gravidade⁽⁹⁾ e é dose-dependente.⁽¹⁰⁾ Sabe-se que há piora da troca gasosa; porém, é controverso o momento em que, após a administração do AO, se estabilizam as variáveis fisiológicas.⁽¹¹⁻¹⁴⁾ Dependendo da dose utilizada, é possível manter o animal vivo até sete dias, mas a evolução das variáveis biológicas é discutível.⁽¹⁵⁾ Além do exposto, a metodologia estatística empregada para demonstrar o efeito do tempo na evolução dessas variáveis não é a mais indicada.⁽¹⁶⁾ A partir

desse conhecimento, estudamos, em função do tempo, a evolução das variáveis das propriedades hemodinâmicas e mecânicas do sistema respiratório e de trocas gasosas no modelo de LPA induzida pelo AO e testamos sua estabilidade.

Métodos

Preparação dos animais

Realizamos um estudo experimental utilizando 10 cães mestiços do sexo masculino, com peso acima de 18 kg. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal da Universidade de Brasília. Os animais foram sedados inicialmente com tionembutal i.v. 30 mg/kg, colocados em mesa cirúrgica e intubados com cânula orotraqueal de calibre 8,5. Foram instalados dois acessos vasculares: um venoso, para a administração de sedação e analgesia, e outro arterial, para a coleta de sangue a ser utilizado para a análise gasométrica e a monitoração da pressão arterial média (PAM), ambos em região inguinal direita. Os acessos venosos foram mantidos com solução fisiológica 0,9% para impedir eventuais coágulos. Utilizamos, continuamente, midazolam (0,5 µg/kg/min) e fentanil (5,0 µg/kg/min)

Tabela 1 – Médias das variáveis hemodinâmicas, respiratórias e de troca gasosa durante o experimento.

Variáveis	t ₀	t ₁	t ₂	t ₃	t ₄
FC, bpm	142,4 ± 20,4	128,4 ± 15,4	151,6 ± 22,5	152,6 ± 22,4	157,0 ± 21,5
PAM, mmHg	125,5 ± 16,9	108,9 ± 14,2	96,9 ± 16,0	104,3 ± 7,3	102,0 ± 14,0
PAP, cmH ₂ O	15,8 ± 5,5	15,8 ± 4,1	15,6 ± 5,1	13,9 ± 4,4	15,0 ± 5,5
PCP, cmH ₂ O	5,2 ± 2,1	4,0 ± 1,9	3,3 ± 2,4	3,1 ± 1,1	3,1 ± 2,0
IC, L.min ⁻¹ .m ²	8,25 ± 2,74	7,7 ± 2,1	7,2 ± 2,5	6,5 ± 2,8	6,2 ± 2,8
IRVP, d.s.cm ⁻⁵ .m ²	104,3 ± 27,3	123,2 ± 26,2	142,5 ± 53,7	145,2 ± 39,3	176,8 ± 80,4
FR, ciclos/min	12 ± 6	100 ± 57	94 ± 51	86 ± 41	84 ± 39
VC, mL/kg	16,4 ± 4,1	6,6 ± 1,6	7,9 ± 1,6	8,1 ± 1,7	8,6 ± 2,2
W, J	2.351,5 ± 1.086,8	243,3 ± 162,0	401,0 ± 193,5	419,2 ± 119,2	425,3 ± 108,6
PaO ₂ , mmHg	73,5 ± 13,5	45,2 ± 7,6	44,4 ± 11,6	43,5 ± 10,3	40,5 ± 9,7
PaCO ₂ , mmHg	43,2 ± 7,4	49,6 ± 7,2	45,5 ± 12,3	39,8 ± 10,9	35,6 ± 8,5
P(A-a)O ₂ , mmHg	9,8 ± 7,3	28,1 ± 8,2	34,3 ± 14,9	42,4 ± 15,1	50,9 ± 13,6
PaO ₂ /FiO ₂ , mmHg	349,8 ± 64,4	214,5 ± 36,3	210,8 ± 55,3	206,1 ± 48,2	190,5 ± 45,8
Qs/Qt, %	34 ± 13	60 ± 10	59 ± 20	58 ± 10	60 ± 20
DO ₂ , mL.min ⁻¹ .m ²	1.237,3 ± 409,5	842,2 ± 207,4	740,3 ± 245,7	722,3 ± 157,2	652,4 ± 187,3
VO ₂ , mL.min ⁻¹ .m ²	231,6 ± 84,3	248,6 ± 53,6	223,3 ± 90,8	286,5 ± 119,7	244,4 ± 123,5

t₀: início do experimento; t₁: 30 min; t₂: 60 min; t₃: 90 min; t₄: 120 min; FC: frequência cardíaca; PAM: pressão arterial média; PAP: pressão da artéria pulmonar; PCP: pressão de capilar pulmonar; IC: índice cardíaco; IRVP: índice de resistência vascular pulmonar; FR: frequência respiratória; VC: volume corrente; W: trabalho respiratório; P(A-a)O₂: gradiente alvéolo-arterial de oxigênio; PaO₂/FiO₂: índice de oxigenação; Qs/Qt: fração de *shunt* pulmonar; DO₂: oferta de oxigênio; e VO₂: consumo de oxigênio. Resultados expressos em média ± dp.

para sedação e analgesia, sendo essas as únicas infusões contínuas durante o experimento. Foi dissecada a jugular direita para a introdução do cateter de artéria pulmonar (modelo 131HF7; Edwards Lifesciences, Irvine, CA, EUA). Certificamo-nos da localização do cateter pelos traçados de pressão de artéria pulmonar visualizados em monitor multiparamétrico de sinais biológicos (modelo DX 2010; Dixel, Manaus, Brasil). Com esse instrumental, coletamos amostras de sangue venoso misto e aferimos o Qt, a pressão arterial pulmonar (PAP), a pressão de capilar pulmonar (PCP) e a frequência cardíaca (FC). As variáveis calculadas foram o índice cardíaco (IC, calculado como $IC = Qt/m^2$) e o índice de resistência vascular pulmonar [IRVP, calculado como $IRVP = (PAP - PCP) \cdot 80/IC$]. Para a avaliação das propriedades mecânicas do sistema respiratório e de seus componentes, pulmões e caixa torácica, utilizamos um pneumotacógrafo Fleisch número 0 (Godart-Statham, Bilthoven, Holanda) com uma saída lateral que foi conectada à cânula orotraqueal. Utilizamos também um transdutor diferencial de pressão (modelo PT5A; Grass Instruments, Quincy, MA, EUA), que foi conectado às saídas do pneumotacógrafo para a medida de fluxo aéreo, e um transdutor diferencial (modelo P23 Db; Gould-Stathan, Oxnard, CA, EUA) conectado a uma saída lateral para a medida da pressão de abertura da via aérea. Outro transdutor diferencial de pressão, do mesmo modelo, foi utilizado e

conectado à cânula esofágica para a medida da pressão esofágica. Os sinais foram filtrados e amplificados em um polígrafo (modelo 7C; Grass Instruments, Quincy, MA, EUA) e depois enviados a um módulo condicionador de sinais biológicos e conversor analógico-digital de 12 bits (EMG System do Brasil, São José dos Campos, Brasil). Os sinais foram registrados e armazenados através do software Windaq/Pro (DATAQ Instruments, Akron, OH, EUA) que também fazia a integração eletrônica do sinal de fluxo para a obtenção da curva de volume. As variáveis calculadas foram o volume corrente (VC), frequência respiratória (FR), volume minuto (VM, calculado como $VM = VC \cdot FR$), trabalho respiratório ($W = \text{área da curva PV}$) e trabalho respiratório por minuto (calculado como $W/min = W \cdot FR$). Foram colhidas amostras de sangue arterial e venoso misto para a realização de análise gasométrica e fração de *shunt* pulmonar, calculada pela razão fluxo sanguíneo sistêmico (Qs)/Qt. As variáveis gasométricas aferidas foram PaO_2 , pressão venosa mista de oxigênio (PvO_2), $PaCO_2$, pressão venosa mista de gás carbônico ($PvCO_2$), saturação venosa mista de oxigênio (SvO_2) e pH. As variáveis calculadas foram bicarbonato; saturação de oxigênio (SaO_2); oferta de oxigênio (DO_2), calculada pela seguinte fórmula: $DO_2 = (SaO_2 \cdot 1,36 \cdot \text{hemoglobina} + PaO_2 \cdot 0,0039) \cdot IC$; consumo de oxigênio (VO_2), calculado pela seguinte fórmula: $VO_2 = [(SaO_2 - SvO_2) \cdot 1,36 \cdot \text{hemoglobina} + (PaO_2 - PvO_2) \cdot 0,0039] \cdot$

Tabela 2 – Valores de p para os efeitos lineares e quadráticos testados e estruturas de variância para as variáveis mecânicas e hemodinâmicas.

Tipos	Variáveis hemodinâmicas						Variáveis mecânicas				
	FC	PAM	PAP	PCP	IC	IRVP	FR	VC/kg	VM	W	W/kg
Efeito linear	0,0731	0,0001	0,0017	0,0028	0,0015	0,0337	0,0111	0,0100	0,0001	0,0001	0,0417
Efeito quadrático	0,8042	0,0067	0,2775	0,1902	0,6930	0,4191	0,0178	< 0,0001	0,0060	0,0008	0,4461
$t_0 = t_1 = t_2 = t_3 = t_4$	0,0995	0,0004	0,0099	0,0301	0,0244	0,3051	0,0021	0,0018	0,0003	< 0,0001	0,1756
$t_1 = t_2 = t_3 = t_4$	0,0563	0,0718	0,0293	0,4173	0,0411	0,3859	0,4653	0,2942	0,7804	0,8913	0,1072
$t_2 = t_3 = t_4$	0,9975	0,6100	0,8669	0,8765	0,2657	0,3447	0,3465	0,6751	0,9742	0,9575	0,4583
Estrutura de variância	CS	VCA	CS	CS	CS	HCS	U	HA	CS	CS	VCA
Estabilização/tendência	60'	30'	60'	60'	-		30'	30'	30'	30'	

FC: frequência cardíaca; PAM: pressão arterial média; PAP: pressão da artéria pulmonar; PCP: pressão de capilar pulmonar; IC: índice cardíaco; IRVP: índice de resistência vascular pulmonar; FR: frequência respiratória; VC/kg: volume corrente por massa corpórea; VM: volume minuto; W: trabalho respiratório; W/kg: trabalho respiratório por minuto; t_0 : início do experimento; t_1 : 30 min; t_2 : 60 min; t_3 : 90 min; t_4 : 120 min; CS: *compound symmetry*; VCA: *variance components autoregressive*; HCS: *heterogeneous compound symmetry*; U: *unstructured*; e HA: *heterogeneous autoregressive*.

IC; taxa de extração de oxigênio TEO_2 , calculada pela seguinte fórmula: $TEO_2 = VO_2/DO_2$; relação PaO_2/FiO_2 ; e Qs/Q_t .

Protocolo experimental

Após a estabilização dos registros, procedemos à aferição das variáveis acima descritas (t_0). Os cães ventilaram espontaneamente durante todo o experimento com FiO_2 de 0,21. Após 5 min dessa aferição, induzimos LPA com AO (0,15 mg/kg) administrado durante 10 min pela via proximal do cateter na artéria pulmonar. Coletamos novamente as variáveis hemodinâmicas, gasométricas e da mecânica respiratória após 30, 60, 90 e 120 min (t_1 , t_2 , t_3 e t_4 , respectivamente) do término da administração do AO. Após a coleta das últimas variáveis, foi realizada a eutanásia dos cães com uma solução de KCl.

Métodos estatísticos

Os resultados foram apresentados com média $\pm$ dp. A hipótese nula foi a de que as médias das variáveis hemodinâmicas, mecânicas e gasométricas fossem semelhantes nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 min (t_0 a t_4 , respectivamente). A possibilidade de que as médias das variáveis no t_0 fossem diferentes das demais, e essas, semelhantes entre si, seria a mais plausível, o que configuraria a estabilidade após t_1 ou t_2 . Foi utilizada a metodologia de um delineamento em medidas repetidas. Uma análise de tendência linear e/ou quadrática foi realizada, objetivando verificar se uma função polinomial, linear e/ou quadrática ajustava-se razoavelmente aos dados. Com isso, se os dados ajustavam-se somente ao efeito linear, teríamos que a média da variável crescería ou decresceria ao longo do tempo e, portanto, não haveria estabilização. Se apenas o efeito quadrático ajustava-se aos dados, a média da variável crescería ou decresceria até um determinado tempo e depois decresceria ou crescería a partir desse tempo; portanto, não haveria estabilização. Quando o efeito linear e o efeito quadrático estavam presentes, a média da variável crescería ou decresceria acentuadamente e, a partir de um determinado tempo, poderia indicar estabilização. Se nenhum dos efeitos ajustava-se aos dados, a média da variável se manteria constante ao longo do tempo. Em paralelo, as hipóteses de estabilização após t_1 e t_2 foram testadas, utilizando-se ajustes de

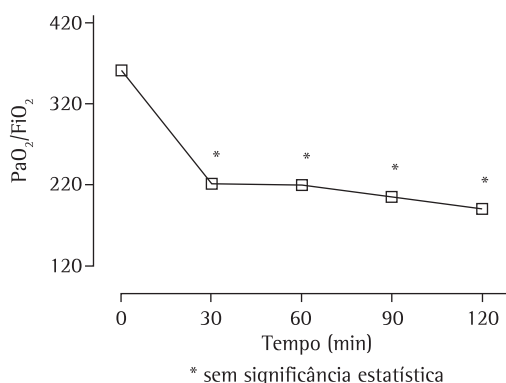


Figura 1 – Evolução do índice de oxigenação no tempo.

modelos lineares mistos com estrutura de variâncias e covariâncias diversificadas, dependendo da variável analisada. Através do método dos mínimos quadrados generalizados, o efeito do tempo foi avaliado. Para que houvesse estabilização após 30 min (t_1), três condições deveriam ser satisfeitas: seria necessário que não houvesse igualdade das médias entre os tempos de t_0 a t_4 ; a média no t_0 fosse diferente das demais; e as médias dos tempos t_1 a t_4 não fossem diferentes. Para que houvesse estabilização após os 60 min (t_2), outras três condições deveriam estar presentes: não houvesse igualdade entre as médias dos tempos de t_0 a t_4 ; a média do t_0 e do t_1 fossem diferentes de t_2 , t_3 e t_4 ; e as médias dos tempos de t_2 a t_4 não fossem diferentes entre si. Optamos por definir anteriormente as hipóteses e não testar todos os tempos entre si a fim de diminuir o erro α . O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para testar a normalidade da distribuição das variáveis. O nível de signifi-

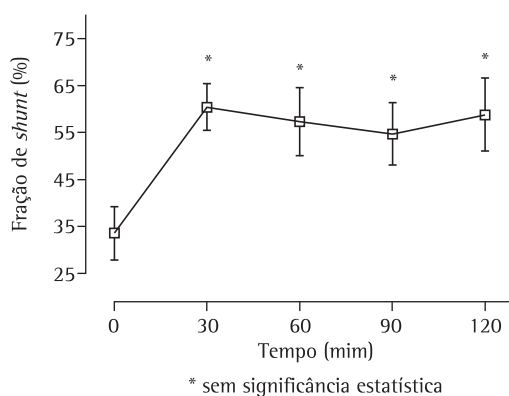


Figura 2 – Evolução da fração de shunt pulmonar no tempo.

Tabela 3 – Valor de p para efeitos lineares e quadráticos testados e estruturas de variância de variáveis de troca gasosa.

Variáveis de troca gasosa	PaO ₂	SaO ₂	P(A-a)O ₂	PaO ₂ /FiO ₂	Qs/Qt	I _n DO ₂	VO ₂	VO ₂ /DO ₂	pH	PaCO ₂	HCO ₃ ⁻
Efeito linear	< 0,0001	0,0083	0,0001	< 0,0001	0,0229	0,0001	0,6907	0,0038	0,8213	0,0213	0,0038
Efeito quadrático	0,0007	0,0248	0,0451	0,0007	0,0139	0,3939	0,2528	0,5011	0,0055	0,2542	0,7119
t ₀ = t ₁ = t ₂ = t ₃ = t ₄	< 0,0001	0,0182	< 0,0001	< 0,0001	0,0001	0,0012	0,7497	0,0197	0,0158	0,0008	0,0022
t ₁ = t ₂ = t ₃ = t ₄	0,4813	0,1578	0,0077	0,4813	0,5646	0,0083	0,5841	0,2242	0,1034	0,0009	0,0002
t ₂ = t ₃ = t ₄	0,4299	0,1186	0,0991	0,4300	0,6177	0,0283	0,3860	0,1823	0,4760	0,0773	0,0030
Estrutura de variância	CS	U	HCS	CS	U	HCS	U	HCS	CS	U	U
Estabilização/tendência	30'	30'	60'	30'	30'	-	constante			-	-

SaO₂: saturação arterial de oxigênio; P(A-a)O₂: gradiente alvéolo-arterial de oxigênio; PaO₂/FiO₂: índice de oxigenação; Qs/Qt: fração de *shunt* pulmonar; I_nDO₂: logaritmo neperiano da oferta de oxigênio; VO₂: consumo de oxigênio; TEO₂: taxa de extração de oxigênio; HCO₃⁻: ânion bicarbonato; CS: *compound symmetry*; U: *unstructured*; HCS: *heterogeneous compound symmetry*.

cância estabelecido para as análises foi de 5%. Utilizamos o software SAS (Statistical Analysis System, Cary, NC, EUA) para todas as análises descritas.

Resultados

Utilizamos 10 cães mestiços do sexo masculino com peso médio de 26,7 ± 4,5 kg. Todos os animais sobreviveram até o término do experimento. Os valores observados nos respectivos tempos são apresentados na Tabela 1. Para todas as variáveis, foram testados os efeitos linear e quadrático. Para aquelas variáveis que se ajustaram a esses efeitos, foram testadas as hipóteses de que não se diferenciavam para os tempos de t₁ a t₄ ou de t₂ a t₄, o que configuraria estabilidade aos 30 e 60 min, respectivamente. Todas as variáveis, com exceção da DO₂, apresentaram distribuição paramétrica ao teste de Shapiro-Wilk.

Os testes dos efeitos lineares e quadráticos nas variáveis hemodinâmicas revelaram-se presentes na PAM, que se estabilizou no t₁. Na FC, PAP e PCP, apesar de não observarmos significância na análise dos efeitos lineares e quadráticos, houve uma forte aproximação dos valores obtidos entre os tempos t₂, t₃ e t₄ (p = 0,9975, p = 0,8669 e p = 0,8765, respectivamente), o que sugere estabilização a partir de t₂. Não observamos estabilização do IC e do IRVP. O valor p dos efeitos lineares e quadráticos e das comparações entre os tempos, os tipos de estrutura de variância

e covariância encontrados e a estabilização ou tendência de cada uma das variáveis hemodinâmicas estudadas encontram-se na Tabela 2.

Quanto às variáveis da mecânica respiratória, observamos um valor de p significativo para os testes dos efeitos lineares e quadráticos para FR, VC (mL/kg peso corporal), VM e W. Todas essas variáveis estabilizaram-se aos 30 min de experimento. Somente o W/min aumentou indefinidamente. Os achados referentes a essas variáveis estão na Tabela 2.

A PaO₂, SaO₂, PaO₂/FiO₂ (Figura 1) e Qs/Qt (Figura 2) alteraram imediatamente após a administração de AO e estabilizaram aos 30 min. O gradiente alvéolo-arterial de oxigênio [P(A-a)O₂] estabilizou aos 60 min. O VO₂ não se alterou durante o experimento, TEO₂ e pH aumentaram, e PaCO₂ e bicarbonato diminuiram, todos sem estabilização. Como DO₂ não apresentou distribuição normal, foi feita sua transformação em logaritmo neperiano. Houve queda constante sem estabilização. Os efeitos testados e as estruturas de variância e covariância dessas variáveis estão na Tabela 3.

Discussão

O AO é administrado via endovenosa há décadas para mimetizar, em modelo animal, a embolia pulmonar⁽⁴⁾ e, desde a década de 1970, como modelo de LPA.⁽⁵⁾ Um grupo de autores⁽¹⁷⁾ realizou um estudo com 22 cães, mantendo-os vivos por sete dias, a fim de avaliar as várias fases

da fisiopatologia da LPA. O estudo revelou que Q_s/Q_t e $P(A-a)O_2$ retornaram a valores próximos aos basais ao final do experimento. Há uma considerável piora dessas variáveis no primeiro dia e posterior melhora até o sétimo dia. Um estudo mais recente⁽¹⁸⁾ evidenciou a resolução do edema ao sétimo dia após a infusão do AO. Outros autores⁽¹¹⁾ mostraram a evolução de variáveis mecânicas, hemodinâmicas e gasométricas, mas não se preocuparam em averiguar a estabilidade do modelo. Esses autores estudaram 8 cães durante 2,5 h e compararam as variáveis utilizando a análise de variância com medidas repetidas. Notou-se um indefinido aumento da PAP e IRVP. Denominaram como eventos recentes o aumento da elastância pulmonar, IRVP e $P(A-a)O_2$, assim como a diminuição de PaO_2 , IC e PAM. Consideraram o aumento de PAP, Q_s/Q_t e $PaCO_2$ como eventos tardios. Alguns autores⁽¹²⁾ publicaram um estudo em porcos, demonstrando estabilidade do modelo em 30 min para FC, PAP, Q_s/Q_t e espaço morto. Esses autores também utilizaram a análise de variância com medidas repetidas para estudar suas variáveis. Em nosso estudo, observamos a estabilização da PAM aos 30 min e a tendência de estabilização de FC, PAP e PCP aos 60 min. Alguns autores⁽¹⁹⁾ observaram que essas medidas não se alteraram no decorrer do estudo, garantindo a estabilidade hemodinâmica necessária para um modelo de LPA. A queda e a posterior estabilização do IC e da troca gasosa, assim como o aumento de IRVP são biologicamente plausíveis e aceitas na literatura. É provável que a diminuição da contratilidade do miocárdio e a lesão vascular observadas à histologia simples, mas sem alteração da relação peso líquido/seco, sejam responsáveis pela queda inicial do Q_t .⁽²⁰⁾ Outro fator importante para a queda do IC é a vasoplegia causada neste modelo. Em nosso estudo, observamos a queda do IC por termodiluição e o aumento do IRVP sem estabilização; evoluções essas discordantes às da literatura. Dois autores⁽²¹⁾ demonstraram que o IRVP total não se altera, e sim a distribuição segmentar das resistências em pulmões de ratos. É provável que nossa metodologia tenha sido a razão das discordâncias com outros autores e, se há estabilização hemodinâmica, essa se dará posteriormente à das propriedades mecânicas e às trocas gasosas. Em nosso estudo, ficou claro que o aumento do VM se deveu ao grande aumento

da FR, uma vez que o VC caiu. Isso determinou a queda da $PaCO_2$ e a não estabilização do pH. Não fomos capazes de medir a elastância e a resistência do sistema respiratório devido às altas FRs observadas. No entanto, o W caiu em cada incursão respiratória devido à importante queda do VC; porém, o W/min aumentou durante todo o experimento, sugerindo uma elevação constante da elastância e/ou da resistência ao fluxo aéreo e, portanto, da impedância pulmonar. A elastância pulmonar pode aumentar em até três vezes em relação ao valor basal quando o AO é administrado.⁽²²⁾ É conhecido também o aumento da resistência de via aérea devido ao acúmulo de secreção, aferida por vários métodos.⁽²³⁾ Um grupo de autores⁽²⁴⁾ aferiu a relação peso líquido/seco em porcos e observou um aumento significativo dessa relação entre o grupo que recebeu AO e o grupo controle (4,9 e 6,78, respectivamente), o que sugere piora da elastância. Em outro estudo,⁽²⁵⁾ foi demonstrado, por oscilação forçada, um aumento da pressão de abertura de vias aéreas, mas sem estabilização por até 140 min. Os principais eventos responsáveis pelo aumento da elastância são o acúmulo de líquido no espaço intersticial e alveolar e o aumento da tensão superficial. A Q_s/Q_t parece correlacionar-se com a gravidade da lesão; portanto, o extravasamento de líquido intra-alveolar tende a diminuir com o decorrer do experimento. Com uma dose de 0,09 mL/kg de AO, o *shunt* atinge mais de 40%.⁽²⁶⁾ Utilizando 0,08 mL/kg, alguns autores⁽¹²⁾ mensuraram *shunt* de até 35%. Eles evidenciaram também a queda e estabilização da PaO_2 nos primeiros 30 min, evento que perdurou por 4 h. Outros autores⁽²⁷⁾ encontraram frações de Q_s/Q_t basais menores que as encontradas em nosso estudo, em torno de 15-20%. A dose por nós utilizada, de 0,15 mL/kg, explica os níveis altos de Q_s/Q_t encontrados. A dose de 0,08 mL/kg de AO foi capaz de reduzir a relação PaO_2/FiO_2 de 451 para 139.⁽⁸⁾

Estudos recentes têm se apoiado na possível estabilidade do modelo de LPA induzida pelo AO.^(28,29) Todos os estudos que averiguaram a estabilidade desse modelo animal utilizaram a análise de variância com medidas repetidas como metodologia estatística. Há duas metodologias tradicionais para o estudo de variáveis longitudinais: ANOVA univariada com medidas repetidas e ANOVA multivariada com medidas repetidas. Infelizmente, esses métodos tradi-

cionais são limitados porque assumem a priori prerrogativas que não raramente são falsas. A análise univariada assume que a estrutura de variância e covariância dos eventos medidos no decorrer do tempo é simétrica, o que pode não ser real quando as variâncias tendem a aumentar com o tempo e as correlações a diminuir com o aumento dos intervalos de tempo. A outra alternativa, a análise multivariada para medidas repetidas, somente inclui sujeitos com os dados completos, não aceitando eventuais perdas durante o estudo. Além disso, esses procedimentos estimam as tendências do grupo no decorrer do tempo e pouco observam as mudanças individuais. Por essas e outras razões, os modelos mistos de covariância tem se popularizado como uma ferramenta útil e poderosa no estudo de dados longitudinais. Em um interessante estudo,⁽³⁰⁾ pesquisadores comparam procedimentos de análise de medidas repetidas, ressaltando a importância do uso de modelos lineares mistos em uma abordagem em dois estágios. No primeiro estágio, estima-se a estrutura de covariância. No segundo estágio, a estimativa da covariância é substituída no modelo linear misto e avalia-se o efeito do tempo sobre a variável estudada. Em nosso estudo, foram observadas estruturas de covariância simétricas, heterogêneas, autorregressivas e não-estruturadas. O modelo linear misto descreveu uma relação entre determinada variável aferida ao longo de cinco medidas no tempo como função de sua média, do efeito entre os animais e do efeito intra-animais.

Estamos certos de que, com o aumento do número de animais, com a dilatação do tempo do experimento e com a abreviação dos intervalos de aferição de variáveis, poderemos entender melhor a evolução e a estabilidade hemodinâmica, mecânica e de troca gasosa na LPA induzida por AO. A oscilometria forçada terá a capacidade de avaliar melhor a mecânica respiratória na ventilação espontânea, visto que, em alta FR, não há como realizar a oclusão das vias aéreas ao final da inspiração. As outras técnicas de mensuração da elastância e da resistência ao fluxo aéreo exigiriam manobras que poderiam alterar parâmetros hemodinâmicos, o que não seria interessante neste caso.

Em síntese, estudamos a estabilidade de variáveis biológicas utilizando um tratamento estatístico robusto e moderno e concluímos que

variáveis de troca gasosa e da mecânica respiratória se estabilizam precocemente e variáveis hemodinâmicas se estabilizam posteriormente no modelo de LPA induzida pelo AO.

Referências

1. Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, Weaver J, Martin DP, Neff M, et al. Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med*. 2005;353(16):1685-93.
2. Jedlińska B, Mellström A, Jönsson K, Hartmann M. Influence of positive end-expiratory pressure ventilation on peripheral tissue perfusion evaluated by measurements of tissue gases and pH. An experimental study in pigs with oleic acid lung injury. *Eur Surg Res*. 2000;32(4):228-35.
3. Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2008;295(3):L379-99.
4. Ashbaugh DG, Uzawa T. Respiratory and hemodynamic changes after injection of free fatty acids. *J Surg Res*. 1968;8(9):417-23.
5. King EG, Wagner WW Jr, Ashbaugh DG, Latham LP, Halsey DR. Alterations in pulmonary microanatomy after fat embolism. In vivo observations via thoracic window of the oleic acid-embolized canine lung. *Chest*. 1971;59(5):524-30.
6. Schuster DP. ARDS: clinical lessons from the oleic acid model of acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994;149(1):245-60.
7. Beilman G. Pathogenesis of oleic acid-induced lung injury in the rat: distribution of oleic acid during injury and early endothelial cell changes. *Lipids*. 1995;30(9):817-23.
8. Kafi SA, Scillia P, Mélot C, Gevenois PA, Pagnamenta A, Naeije R. Abnormal pulmonary vascular tone in canine oleic acid lung injury. *Crit Care Med*. 2002;30(7):1565-9.
9. Suga K, Ogasawara N, Matsunaga N, Sasai K. Perfusion characteristics of oleic acid-injured canine lung on Gd-DTPA-enhanced dynamic magnetic resonance imaging. *Invest Radiol*. 2001;36(7):386-400.
10. Julien M, Hoeffel JM, Flick MR. Oleic acid lung injury in sheep. *J Appl Physiol*. 1986;60(2):433-40.
11. Hofman WF, Ehrhart IC, Granger WM, Miller DA. Sequential cardiopulmonary changes after oleic-acid injury in dogs. *Crit Care Med*. 1985;13(1):22-7.
12. Sum-Ping ST, Symreng T, Jebson P, Kamal GD. Stable and reproducible porcine model of acute lung injury induced by oleic acid. *Crit Care Med*. 1991;19(3):405-8.
13. Davidson KG, Bersten AD, Barr HA, Dowling KD, Nicholas TE, Doyle IR. Lung function, permeability, and surfactant composition in oleic acid-induced acute lung injury in rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2000;279(6):L1091-102.
14. McGuigan RM, Mullenix P, Norlund LL, Ward D, Walts M, Azarow K. Acute lung injury using oleic acid in the laboratory rat: establishment of a working model and evidence against free radicals in the acute phase. *Curr Surg*. 2003;60(4):412-7.
15. Luce JM, Huang TW, Robertson HT, Colley PS, Gronka R, Nessler ML, et al. The effects of prophylactic expiratory positive airway pressure on the resolution

- of oleic acid-induced lung injury in dogs. *Ann Surg.* 1983;197(3):327-36.
16. Grotjohan HP, van der Heijde RM, Wagenvoort CA, Wagenvoort N, Versprille A. Pulmonary vasoconstriction in oleic acid induced lung injury. A morphometric study. *Int J Exp Pathol.* 1993;74(4):347-55.
 17. Schoene RB, Robertson HT, Thorning DR, Springmeyer SC, Hlastala MP, Cheney FW. Pathophysiological patterns of resolution from acute oleic acid lung injury in the dog. *J Appl Physiol.* 1984;56(2):472-81.
 18. Shioya S, Christman R, Ailion DC, Cuttillo AG, Goodrich KC, Morris AH. In vivo Hahn spin-echo decay (Hahn-T2) observation of regional changes in the time course of oleic acid lung injury. *J Magn Reson Imaging.* 2000;11(2):215-22.
 19. Motohiro A, Furukawa T, Yasumoto K, Inokuchi K. Mechanisms involved in acute lung edema induced in dogs by oleic acid. *Eur Surg Res.* 1986;18(1):50-7.
 20. Schuster DP, Perez JE, Trulock EP, Williamson JR, Biello DR, Kenzora JL, et al. Cardiac dysfunction during acute lung injury induced by oleic acid in dogs. *Am Rev Respir Dis.* 1986;133(4):519-25.
 21. Maarek JM, Grimbert F. Segmental pulmonary vascular resistances during oleic acid lung injury in rabbits. *Respir Physiol.* 1994;98(2):179-91.
 22. Scharf SM, Ingram RH Jr. Effects of decreasing lung compliance with oleic acid on the cardiovascular response to PEEP. *Am J Physiol.* 1977;233(6):H635-41.
 23. Mishima M, Balassy Z, Bates JH. Temporal response of lung impedance after i.v. oleic acid in dogs. *Respir Physiol.* 1996;103(2):177-85.
 24. Darien BJ, Saban MR, Hart AP, MacWilliams PS, Clayton MK, Kruse-Elliott KT. Morphometric analysis of oleic acid-induced permeability pulmonary edema: correlation with gravimetric lung water. *Shock.* 1997;8(1):61-7.
 25. Räsänen J, Gavriely N. Detection of porcine oleic acid-induced acute lung injury using pulmonary acoustics. *J Appl Physiol.* 2002;93(1):51-7.
 26. Leeman M, Closset J, Vachiéry JL, Lejeune P, Mélot C, Naeije R. Sinoaortic deafferentation reduces intrapulmonary shunt in dogs with oleic acid lung injury. *J Appl Physiol.* 1989;67(2):833-8.
 27. Nunes N, Martins SE, Santos PS, Rezende ML. Effects of desflurane, sevoflurane and isoflurane on pulmonary shunt in dogs during spontaneous ventilation. *Arq Bras Med Zootec.* 2003;55(2):173-177.
 28. 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. *J Anesth.* 2007;21(1):47-54.
 29. Claesson J, Lehtipalo S, Bergstrand U, Amerlöv C, Winsö O. Negative mesenteric effects of lung recruitment maneuvers in oleic acid lung injury are transient and short lasting. *Crit Care Med.* 2007;35(1):230-8.
 30. Littell RC, Henry PR, Ammerman CB. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J Anim Sci.* 1998;76(4):1216-31.

Sobre os autores

Eduardo Gaio

Professor. Departamento de Clínica Médica, Universidade de Brasília, Brasília (DF) Brasil.

César Augusto de Melo e Silva

Chefe do Serviço de Fisioterapia. Hospital Universitário de Brasília, Brasília (DF) Brasil.

Flávio Brito

Médico. Hospital de Base do Distrito Federal, Brasília (DF) Brasil.

Marco Aurélio Pereira Firmino

Médico Residente. Hospital Universitário de Brasília, Brasília (DF) Brasil.

Rodrigo Storck

Fisioterapeuta. Hospital Universitário de Brasília, Brasília (DF) Brasil.

Eduardo Freitas

Professor. Departamento de Estatística, Universidade de Brasília, Brasília (DF) Brasil.