

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

**MODELO EXPERIMENTAL DE ATELECTASIA
EM SUÍNOS RECÉM-NASCIDOS.**

Talitha Comaru

Orientador: Prof. Dr. Renato Machado Fiori
Co-orientador: Humberto Holmer Fiori

Porto Alegre
2011

Talitha Comaru

**MODELO EXPERIMENTAL DE ATELECTASIA
EM SUÍNOS RECÉM-NASCIDOS.**

Tese de doutorado apresentada à
Faculdade de Medicina da Pontifícia
Universidade Católica do Rio Grande do
Sul para obtenção do título de doutor em
Pediatria e Saúde da Criança.

Orientador: Prof. Dr. Renato Machado Fiori

Co-orientador: Humberto Holmer Fiori

Porto Alegre
2011

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

C728m Comaru, Talitha

Modelo experimental de atelectasia em suínos recém-nascidos/
Talitha Comaru. Porto Alegre: PUCRS, 2011.

72f.: gráf. il. tab. Inclui um artigo de periódico submetido à publicação.

Orientador: Prof. Dr. Renato Machado Fiori.

Coorientador: Prof. Dr. Humberto Holmer Fiori.

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

I. ATELECTASIA PULMONAR. 2. MODALIDADES DE FISIOTERAPIA. 3. RECÉM-NASCIDO. 4. SUÍNOS. 5. RESPIRAÇÃO ARTIFICIAL. 6. EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. 7. ANIMAIS DE LABORATÓRIO. 8. EPIDEMIOLOGIA EXPERIMENTAL. I. Fiori, Renato Machado. II. Fiori, Humberto Holmer. III. Título.

C.D.D. 615.836

C.D.U. 616.24-007.288:615.825-053.2(043.2)

N.L.M. WF 645

Dedico esta tese
aos meus filhos, Israel e Clarissa,
que me impulsionam para o futuro.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Renato Machado Fiori pelo entusiasmo contagiante, pelo exemplo constante, pela confiança que sempre demonstrou em meu trabalho e por ensinar, a cada momento, as lições mais importantes que um pesquisador na área da saúde precisa aprender.

Ao Prof Dr. Humberto Holmer Fiori, por ter acreditado na idéia de criar um modelo animal para o estudo das técnicas de fisioterapia respiratória em recém-nascidos, pelo apoio e confiança constantes e, especialmente, por ter insistido no exame de imagens, o que acabou se mostrando o grande diferencial de nosso trabalho.

Ao CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela concessão da verba que possibilitou a realização deste trabalho.

A CAPES, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de doutorado.

Às alunas de mestrado Jaqueline Basso Stivanin e Priscila Padoim, pelo excelente trabalho no preparo dos animais e parceria nos momentos difíceis.

À bolsista Mayara Menezes, pela parceria, disponibilidade, desprendimento e vontade de aprender, durante a coleta de dados.

Ao bolsista Guilherme Eder, pelo auxílio na coleta de dados.

Ao técnico de laboratório Gilmar Pontes Moreira, pelo apoio técnico, profissionalismo, pela vontade de fazer sempre “perfeito” e pelo companheirismo durante as longas horas de laboratório.

A todos que conviveram conosco durante o período de coletas no Laboratório de Habilidades Médicas e Cirurgia Experimental da PUCRS, especialmente às sempre amáveis Juliana Oliveira Rangel e Franciele Dietrich.

Ao pessoal do IPB - Instituto de Pesquisas Biomédicas, especialmente Daniel Marinowic e Ricardo Breda pela disponibilidade, boa vontade, apoio técnico e didático nas várias fases do experimento.

À Prof. Dr^a. Rosane Ligabue, pelo apoio técnico e, sobretudo didático, pela paciência nos ensinamentos e pelo uso do laboratório.

À equipe do LAIF- Laboratório de Análises em Insumos Farmacêuticos, pelo apoio didático e uso do laboratório.

A Arno Kieling Steiger, do IDEIA- Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, pela disponibilidade, amabilidade e profissionalismo na aquisição das imagens através de microscopia ótica.

Ao Prof. Dr. Vinicius Duval, pelo entusiasmo e apoio didático durante a confecção do modelo e avaliação histopatológica.

Ao técnico em histologia Tiago Giuliani, pelo desprendimento na confecção das lâminas para avaliação histopatológica, pelo apoio técnico e didático.

Ao Prof. Dr. João Luis Oliveira Dias, por viabilizar a aquisição de imagens radiológicas durante o estudo.

Ao supervisor de aplicações radiológicas Gilmar de Lemos Tanger, pelo apoio constante e decisivo para a aquisição das imagens.

Ao técnico em radiologia Andreo Fernandes, pelo profissionalismo, disponibilidade, dedicação e desprendimento com que realizou as imagens.

Aos colegas d pós graduação em Pediatria e Saúde da Crianças e médicos radiologistas Tiago Krieger e Marvin pelo auxílio e atuação fundamental na avaliação radiológica.

Ao CEUA - Comitê de Ética para o Uso de Animais, pelo aprendizado que me oportunizou sobre o manejo de animais durante as pesquisas.

Às secretárias Ana Cardoso e Carla Rothmann, pelas inúmeras vezes em que me auxiliaram, pela disponibilidade e amabilidade em todos os momentos.

A todos os professores que me inspiraram.

Aos colegas do Programa de Pós Graduação em Pediatria e Saúde da Criança, pelo reconhecimento a esse trabalho e pelas críticas e sugestões, muitas das quais foram aceitas e colocadas em prática, ao longo dessa jornada.

Aos amigos e, sobretudo às amigas, que sentiram a minha ausência e reclamaram e aos que simplesmente compreenderam.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha mãe, Maria Dalva Garcia, por ter me ensinado a desmanchar tudo e fazer novamente, até acertar.

A tese é como um porco: nada se desperdiça.
(Umberto Eco, Como escrever uma tese, 2007)

RESUMO

Introdução: existem poucos estudos utilizando modelos animais em fisioterapia respiratória. Além disso, não existem modelos para avaliar esses efeitos em recém-nascidos. O objetivo deste estudo foi desenvolver um modelo de atelectasia por obstrução brônquica em porcos recém-nascidos, para o estudo das técnicas de fisioterapia respiratória neonatal.

Métodos: foram utilizados 30 leitões recém-nascidos, originários de um cruzamento entre as raças Large-White e Landrace devidamente sedados, anestesiados, traqueostomizados, paralisados e colocados sob ventilação mecânica. Quinze minutos após a instrumentação, os animais receberam infusão de muco artificial através de bomba de infusão. Transcorridos 30 minutos da infusão de muco artificial os animais foram submetidos à avaliação radiológica do tórax (em posição supina) e gasometria arterial para confirmar a produção de atelectasia.

Resultados: as imagens radiológicas foram analisadas por dois radiologistas não envolvidos no estudo. O modelo apresentado mostrou consistência de resultados entre os parâmetros de oxigenação e a análise radiológica. O modelo de atelectasia foi desenvolvido com sucesso em mais de 70% dos casos, ultrapassando 90% das tentativas na fase final do estudo.

Conclusões: este modelo de atelectasia apresentou resultados suficientemente consistentes para que possa ser testado em estudos sobre técnicas de fisioterapia respiratória em recém-nascidos.

Palavras chave: Fisioterapia. Modelos animais. Ventilação Mecânica. Atelectasia

ABSTRACT

Background: there are few studies using animal models in chest physical therapy. However, there are no models to assess these effects in newborns. The objective of this study was to develop a model of atelectasis by bronchial obstruction in newborn pigs for the study of neonatal physiotherapy.

Methods: 30 newborn pigs resulting from a cross-breeding between Large White and Landrace, properly sedated, anesthetized, tracheostomized, paralyzed and mechanically ventilated were used. Artificial mucus was instilled into the airways through an infusion pump 15 minutes after instrumentation. Radiological assessment of the lungs (in supine position) and blood gas analysis was performed 30 minutes after mucus infusion to confirm the production of atelectasis.

Results: two radiologist not involved in this research analyzed X ray. The model showed consistent results between parameters of oxygenation and radiological analysis. The atelectasis model was successfully developed in over 70% of cases, surpassing 90% of attempts in the final phase of the study.

Conclusions: this model of atelectasis showed results consistent enough to be tested in studies of chest physiotherapy techniques in newborns.

Key-words: Physiotherapy. Animal Models. Mechanical Ventilation. Atelectasis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura III-1 Fluxograma da utilização dos animais durante o estudo	55
Figura III-2 Representação esquemática das fases do estudo	56
Figura III-3 Exemplo da produção de atelectasia	58
Figura III-4 Comportamento da PaO ₂ (mmHg) em cada grupo	59
Figura III-5 Exemplo de imagem histológica	61
Figura III-6 Exemplo de imagem histológica após infusão de muco artificial	62

LISTA DE TABELAS

Tabela III-1 Resultados da avaliação radiológica	57
Tabela III-2 Escore de atelectasia, hiperinsuflação e desvio do mediastino	58
Tabela III-3 Resultados da gasometria arterial em cada grupo	60

LISTA DE SIGLAS

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

DP – desvio padrão

FC – frequência cardíaca

FiO₂ – fração inspirada de oxigênio

I:E – relação entre inspiração e expiração

i.m. – intra muscular

i.p. – intra peritoneal

i.v. – intra venoso(a)

PaCO₂ – pressão parcial de dióxido de carbono arterial

PaO₂ – pressão parcial de oxigênio arterial

PaO₂/ FiO₂ – relação entre a pressão parcial de oxigênio arterial e a fração inspirada de oxigênio

PEEP – *positive end expiratory pressure* - pressão positiva expiratória final

pH – potencial de hidrogênio

PIP – *Peak of inspiratory pressure* - pico de pressão inspiratória

POE – poli (oxi-etileno)

PUCRS – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

RX – raios X

SatO₂ - saturação de oxigênio

SPSS – *statistic package software*

TET – tubo endotraqueal

Vt – volume corrente

LISTA DE SÍMBOLOS

mg/Kg – miligramas por quilograma

µg/Kg – micrograma por quilograma

cmH₂O – centímetros de água

l/min – litros por minuto

ml – mililitros

dH₂O – água destilada

°C – graus Celsius

G' – módulo elástico

G'' – módulo viscoso

Pa – Pascal

rad/s – radiano por segundo

ml/Kg – mililitros por quilograma

mmHg – milímetros de mercúrio

ml/min – mililitros por minuto

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1 APRESENTAÇÃO	16
2 JUSTIFICATIVA	19
3 OBJETIVO	20
4 REFERÊNCIAS	21

CAPÍTULO II

5 ESTUDO DE REVISÃO	24
---------------------	----

CAPÍTULO III

6 ARTIGO ORIGINAL	47
-------------------	----

CAPÍTULO IV

7 CONCLUSÕES	69
--------------	----

ANEXO A – Estudo piloto	71
-------------------------	----

CAPÍTULO I

APRESENTAÇÃO

1 APRESENTAÇÃO

Esta tese foi escrita de acordo com as normas do Programa de Pós Graduação em Pediatria e Saúde da Criança, versão de maio de 2011, e é apresentada em quatro capítulos, conforme segue: apresentação, justificativa e objetivos, apresentados no capítulo I; um artigo de revisão, em língua portuguesa, formatado conforme as normas da revista Scientia Medica, apresentado no Capítulo II, um artigo original, em língua portuguesa, formatado conforme normas da revista Respiratory Care, apresentado no Capítulo III e as conclusões do estudo, apresentadas no Capítulo IV.

INTRODUÇÃO

Apesar de inúmeros avanços nas últimas décadas, as afecções respiratórias ainda representam uma das principais causas de morbimortalidade no período neonatal, o que muitas vezes conduz a internação prolongada e suporte ventilatório e/ou ventilação mecânica em um recém-nascido frágil, cujo sistema respiratório frequentemente é imaturo.

A intubação endotraqueal e a ventilação mecânica causam trauma, inflamação e infecção nas vias aéreas e aumentam a produção de secreção nos pulmões. Estes efeitos podem contribuir para o surgimento de complicações respiratórias durante o período de ventilação mecânica e peri-extubação, frequentemente relacionadas à mobilização de tampões mucosos ou secreções nas vias aéreas, causando desconforto e agitação e conseqüentemente uma maior necessidade de aspiração a fim de evitar a obstrução de grandes brônquios e o colapso pulmonar. A pequena dimensão das vias aéreas de um recém-nascido contribui significativamente para o desenvolvimento desses eventos. A presença de um segmento pulmonar colapsado pode ocasionar a necessidade de aumento nos parâmetros do respirador, suporte ventilatório adicional em uma criança recém extubada e muitas vezes a re-intubação. Essas complicações frequentemente prolongam a fase de recuperação do recém-nascido, o que pode causar impacto em longo prazo sobre seu desenvolvimento.¹

A fisioterapia respiratória neonatal tem como objetivo básico a depuração brônquica, a remoção de secreções e tampões mucosos e a

consequente melhora na troca gasosa, a prevenção de atelectasias através de técnicas específicas, como a vibração ou vibrocompressão torácica, além de outras técnicas descritas na literatura.²

A efetividade da fisioterapia respiratória em recém-nascidos sob ventilação mecânica foi avaliada recentemente, através da revisão de estudos randomizados ou quase randomizados em que as técnicas de vibração ou compressão torácicas, seguidas de aspiração traqueal foram comparadas com a aspiração traqueal isolada ou foram comparadas diferentes técnicas fisioterapêuticas.³ Os revisores concluíram que a amostra total dos pacientes foi insuficiente para produzir uma metanálise, além de apresentar variabilidade em relação aos métodos, estratégias e frequência de aplicação das técnicas de fisioterapia respiratória. Como conclusão os autores da revisão afirmam que não há base científica para recomendação clínica da fisioterapia neonatal como rotina ou evidências suficientes sobre desfechos importantes a curto e longo prazo, incluindo efeitos adversos.

Assim como a neonatologia, a fisioterapia respiratória foi introduzida nas unidades neonatais baseada em experiências e resultados obtidos em pacientes pediátricos ou mesmo adultos, sem evidências científicas fidedignas de sua eficácia. Poucos estudos são desenvolvidos nessa área, e quando são, apresentam baixa qualidade metodológica e os desenhos experimentais não são uniformes assim como as técnicas de fisioterapia avaliadas e os parâmetros utilizados para mensurar sua segurança e eficácia.^{2, 4-6}

Recentes estudos realizados no Brasil confirmam essa tendência de disparidade em relação ao uso das técnicas e estratégias utilizadas em fisioterapia neonatal, com variadas formas de aplicação, tempo de procedimento, associação com outras técnicas e protocolos de tratamento, o que dificulta a avaliação quanto a segurança e eficácia desse procedimento aplicado a uma população extremamente vulnerável.⁶⁻¹⁰

Nesse contexto, surge a necessidade da realização de estudos controlados que possam servir de base para o desenvolvimento de técnicas capazes de proporcionar um efeito seguro e eficaz sobre a remoção de secreções brônquicas em recém-nascidos sob ventilação mecânica. Pesquisadores no Canadá,¹¹ Austrália^{12, 13} e no Japão¹⁴⁻¹⁶ estudaram os efeitos da fisioterapia respiratória em animais, usando cães, ovelhas ou

coelhos adultos como modelo experimental. Estes estudos representam um avanço em relação à preparação e utilização de modelos animais em fisioterapia respiratória, entretanto, ainda não foram desenvolvidos modelos capazes de avaliar o efeito das técnicas de fisioterapia em recém-nascidos. Adicionalmente, estudos com muco artificial tem sido propostos para avaliar a transportabilidade do muco, utilizando polímeros artificiais com propriedades comparáveis ao muco humano,^{17,18} sendo que um modelo de atelectasia utilizando muco artificial foi utilizado recentemente para estudar técnicas de fisioterapia respiratória em coelhos.^{14,15}

O Programa de Pós Graduação em Pediatria e Saúde da Criança da PUCRS vem acumulando significativa experiência na utilização de porcos recém-nascidos como modelo experimental, através de trabalho desenvolvido no Laboratório de Habilidades Médicas e Pesquisa Cirúrgica. Até o momento, foram desenvolvidas pesquisas utilizando modelos de Síndrome de Aspiração de Mecônio e de Hipóxia Neonatal. O caráter multiprofissional que o programa adquiriu, nos últimos anos, e a necessidade de incrementar a pesquisa e o ensino em todas as áreas de atenção à saúde viabilizaram a realização de um projeto de fisioterapia experimental na instituição, e a criação de uma linha de pesquisa ainda não desenvolvida em nosso meio.

2 JUSTIFICATIVA

Uma vez definida a necessidade da obtenção de evidências científicas dos tratamentos fisioterapêuticos em recém-nascidos e do desenvolvimento de modelos experimentais para o estudo dessas técnicas e havendo nesta instituição viabilidade dos meios físicos para sua execução, cremos justificado o trabalho aqui apresentado, o qual apresenta caráter inovador, podendo constituir-se em modelo para o ensino e a pesquisa em fisioterapia respiratória neonatal, além de incentivar o desenvolvimento de outros modelos.

3 OBJETIVO

Desenvolver um modelo de experimentação animal de atelectasia por obstrução brônquica em porcos recém-nascidos para o estudo das técnicas de fisioterapia respiratória.

4 REFERÊNCIAS

- 1.Flenady V, Gray P. Chest physiotherapy for preventing morbidity in babies being extubated from mechanical ventilation. *Cochrane Database Syst Rev.* 2002(2):CD000283.
- 2.Nicolau C, Falcão M. Efeitos da Fisioterapia Respiratória em Recém-nascidos: análise crítica da literatura. *Rev Paul Ped.* 2007;25(1):72-5.
- 3.Hough J, Flenady V, Johnston L, Woodgate P. Chest physiotherapy for reducing respiratory morbidity in infants requiring ventilatory support. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008(3):CD006445.
- 4.Krause M, Hoehn T. [Efficiency and risk of chest physiotherapy in the newborn--review of the literature]. *Klin Padiatr.* 1999;211(1):11-7.
- 5.Lewis J, Lacey J, Henderson-Smart D. A review of chest physiotherapy in neonatal intensive care units in Australia. *J Paediatr Child Health.* 1992;28(4):297-300.
- 6.Comaru T, Silva E. Segurança e Eficácia da Fisioterapia Respiratória em Recém-nascidos: uma revisão de literatura. *Fisioterapia e Pesquisa.* 2007;14(2):91-7.
- 7.Nicolau C, Falcão M. Influência da Fisioterapia Respiratória sobre a Função Cardiopulmonar em Recém-nascidos de Muito Baixo Peso. *Rev Paul Ped.* 2010;28(2):170-5.
- 8.Abreu L, Abgheben J, Braz P, Oliveira A, Falcão M, Saldiva P. Efeitos da Fisioterapia Neonatal sobre a frequência cardíaca em recém-nascidos pré-termos com doença pulmonar das membranas hialinas pós reposição de surfactante exógeno. *Arq Med ABC.* 2006;31(1):5-11.
- 9.Antunes L, Silva E, Bocardo P, Faggioto R, Rugolo L. Efeitos da fisioterapia respiratória convencional versus aumento do fluxo expiratório na $Sat O^2$, frequência cardíaca e frequência respiratória em prematuros no período pós-extubação. *Rev Bras Fisioter.* 2006;10(1):97-103.
- 10.Selestrim C, Oliveira A, Ferreira C, Siqueira A, Abreu L, Murad N. Avaliação dos parâmetros fisiológicos em recém-nascidos pré-termo em ventilação mecânica após procedimentos de fisioterapia neonatal. *Rev Bras Cres e Desenv Hum.* 2007;17(1):146-55.
- 11.Zidulka A, Chrome J, Wight D, Burnett S, Bonnier L, Fraser R. Clapping or percussion causes atelectasis in dogs and influences gas exchange. *J Appl Physiol.* 1989;66(6):2833-8.
- 12.Wong W, Paratz J, Wilson K, Burns Y. Hemodynamic and ventilatory effects of manual respiratory physiotherapy techniques of chest clapping, vibration, and shaking in an animal model. *J Appl Physiol.* 2003;95(3):991-8.
- 13.Anning L, Paratz J, Wong WP, Wilson K. Effect of manual hyperinflation on haemodynamics in an animal model. *Physiother Res Int.* 2003;8(3):155-63.

14.Unoki T, Mizutani T, Toyooka H. Effects of expiratory rib cage compression and/or prone position on oxygenation and ventilation in mechanically ventilated rabbits with induced atelectasis. *Respir Care*. 2003;48(8):754-62.

15.Unoki T, Mizutani T, Toyooka H. Effects of expiratory rib cage compression combined with endotracheal suctioning on gas exchange in mechanically ventilated rabbits with induced atelectasis. *Respir Care*. 2004;49(8):896-901.

16.Zhang E, Hiroma T, Sahashi T, Taki A, Yoda T, Nakamura T. Airway lavage with exogenous surfactant in an animal model of meconium aspiration syndrome. *Pediatr Int*. 2005;47(3):237-41.

17.Kim C, Abraham W, Chapman C, Sackner M. Influence of Two-Phase Gas-liquid Interaction on Aerosol Deposition in Airways. *Am Rev Respir Dis*. 1985;131(4):618-23.

18.Puchelle E, Zahm JM, Duvivier C, Didelon J, Jacquot J, Quemada D. Elasto-thixotropic properties of bronchial mucus and polymer analogs. I. Experimental results. *Biorheology*. 1985;22(5):415-23.

CAPÍTULO II
ESTUDO DE REVISÃO

O uso de modelos animais no estudo das técnicas de fisioterapia
respiratória: uma revisão.

The use of animal models in chest physiotherapy: a review.

Estudo realizado com financiamento do Conselho Nacional de
Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e bolsa da Coordenação de
Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.

RESUMO

Objetivos: pesquisar sobre a existência de estudos que utilizaram técnicas de fisioterapia respiratória em modelos animais e avaliar, crítica e sistematicamente, os métodos de investigação utilizados nesses estudos.

Fonte de dados: foram pesquisados estudos envolvendo procedimentos de fisioterapia respiratória aplicados em modelos animais no período de janeiro de 1980 a dezembro de 2010, através de busca nas bases eletrônicas de dados Cochrane Central Register of Controlled Trials, National Library of Medicine (MEDLINE, PUBMED) e Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS). Os artigos foram selecionados utilizando os seguintes termos, nos idiomas português e inglês, combinados com as expressões fisioterapia respiratória e animal: atelectasia, aumento do fluxo expiratório, compressão torácica, modelo animal, modelo experimental, percussão, ventilação mecânica, vibração e tapotagem. Foram incluídos estudos experimentais aprovados por comitês de ética em pesquisa em animais, abordando procedimentos de fisioterapia respiratória utilizando técnicas manuais e/ou com aparelhos utilizados pelo fisioterapeuta.

Síntese dos dados: foram analisados sete estudos utilizando mamíferos como modelo experimental de fisioterapia respiratória. Um estudo utilizou cães adultos como modelo experimental, dois estudos utilizaram ovelhas adultas, três utilizaram coelhos adultos e um estudo utilizou ratos Wistar. As técnicas de fisioterapia utilizadas variaram entre percussão, tapotagem, compressão torácica, vibração, vibração associada à hiperventilação manual (bag squeezing) e hiperventilação manual isolada.

Conclusões: poucos estudos utilizando modelos animais em fisioterapia respiratória foram realizados até o momento, embora o atual estágio de conhecimento permita que se desenvolvam estudos promissores nessa área, utilizando mamíferos, como modelo experimental.

Palavras-chave: Fisioterapia. Modelos Animais. Terapia Respiratória

ABSTRACT

Aims: search for studies using physical therapy techniques in animal models and evaluate, critically and systematically, their research methods.

Source of data: studies using animal models in chest physiotherapy, published between January of 1980 and December of 2010 were searched through electronic databases Cochrane Central Register of Controlled Trials, National Library of Medicine (MEDLINE, PUBMED) e Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS). The studies were selected, using the following terms, in English and Portuguese language, combined with chest physiotherapy or CPT and animal expression: atelectasis, expiratory flow increase, rib cage compression, animal model, experimental model, percussion, mechanical ventilation, vibration, shaking, squeezing and clapping. Studies approved by ethics committee of animal studies, using manual chest physical therapy techniques and/or physiotherapy devices applied by physiotherapists were included.

Summary of findings: seven studies using mammals as experimental model were analyzed. One of them used adult dogs as experimental model, two used adult sheep, three used adult rabbits and one Wistar rats. The physical therapy techniques utilized were percussion, clapping, rib cage compression, vibration, shaking, squeezing, bag squeezing and manual hyperventilation.

Conclusions: there were few studies using animal models in chest physiotherapy at this time, despite of the current state of the art allow for promising studies in this area, using mammals as experimental model.

Key-words: Physical Therapy. Animal Models. Respiratory Therapy

Introdução

Mamíferos tem sido utilizados como modelo experimental de doenças respiratórias encontradas em humanos, devido às semelhanças na estrutura das vias aéreas e fisiologia respiratória.¹⁻⁴ A escolha do modelo animal para um determinado estudo depende, fundamentalmente, das características da doença ou do tratamento que se deseja avaliar. Pequenos animais, como ratos ou ferrets são frequentemente utilizados em estudos sobre bronquite crônica causada pela exposição ao tabaco, agentes poluentes ou endotoxinas.⁵⁻⁷ Nesses casos os aspectos histológicos, bioquímicos e a viscoelasticidade do muco podem ser avaliados. Animais de médio a grande porte, como cães, ovelhas ou babuínos, podem ser utilizados com os mesmos objetivos, assim como em estudos nos quais se deseja avaliar o transporte mucociliar.⁸⁻¹³ ou a mecânica respiratória.¹⁴⁻¹⁷ Recentemente foi desenvolvido um modelo experimental com suínos, para o estudo de técnicas capazes de prevenir os efeitos deletérios da ventilação mecânica,^{18,19} devido ao impacto desta sobre o transporte mucociliar. Embora os animais necessitem ser mantidos sob sedação e analgesia durante os experimentos, a indução anestésica não influencia a transportabilidade de muco,^{20,21} o que permite a realização de estudos com esse objetivo.

Considerando o atual estágio de desenvolvimento dos estudos com modelos animais em doenças respiratórias, parece lógico considerar a utilização destes modelos para o estudo das técnicas de fisioterapia respiratória, principalmente em relação à higiene brônquica e, sobretudo, nos casos em que não há evidências suficientes sobre a eficácia e segurança da aplicação das mesmas.

O principal objetivo desta revisão foi pesquisar sobre a existência de estudos que utilizaram técnicas de fisioterapia respiratória em modelos animais e avaliar, crítica e sistematicamente, os métodos de investigação utilizados nesses estudos.

Métodos

Esta revisão focalizou estudos envolvendo procedimentos de fisioterapia respiratória aplicados em modelos animais no período de janeiro de 1980 a dezembro de 2010 por meio de busca nas bases eletrônicas de dados Cochrane Central Register of Controlled Trials, National Library of Medicine (MEDLINE, PUBMED) e Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS). Foram selecionados artigos utilizando os seguintes termos, nos idiomas português e inglês, combinados com a expressão fisioterapia respiratória (*chest physiotherapy* ou *CPT*) e animal (*animal*): atelectasia (atelectasis) aumento do fluxo expiratório (*expiratory flow increase*), compressão torácica (*rib cage compression, squeezing, lung squeezing*), modelo animal (*animal model*), modelo experimental (*experimental model*), percussão (*percussion*), ventilação mecânica (*mechanical ventilation*), vibração (*vibration, shaking*) e tapotagem (*clapping*). Foram incluídos nesta revisão estudos experimentais aprovados por comitês de ética em pesquisa em animais, abordando procedimentos de fisioterapia respiratória utilizando técnicas manuais e/ou com aparelhos utilizados pelo fisioterapeuta. Foram excluídos estudos que utilizaram técnicas de fisioterapia respiratória através de aparelhos ou dispositivos automáticos e estudos que empregaram técnicas recrutamento alveolar em ventilação mecânica.

Para a avaliação das informações, foram considerados os seguintes itens: objetivo do estudo; modelo animal; técnica de fisioterapia utilizada, incluindo frequência e duração do procedimento; descrição da técnica de forma a possibilitar a reprodução pelo leitor; mensuração do desfecho principal; resultados e conclusão dos autores.

Resultados

A busca segundo os descritores já mencionados permitiu encontrar nove artigos, porém dois não foram considerados elegíveis: um por se tratar de estudo sobre recrutamento alveolar em suínos²² e outro por se tratar de estudo avaliando os efeitos da compressão torácica através de aparelhos automáticos.²³

Os estudos selecionados foram os seguintes: Zidulka A, Chrome JF, Wight DW, Burnett S, Bonnier L, Fraser R. Clapping or percussion causes atelectasis in dogs and influences gas exchange;²⁴ Unoki T, Mizutani T, Toyooka H. Effects of respiratory rib cage compression and/or prone position on oxygenation and ventilation in mechanically ventilated rabbits with induced atelectasis.²⁵ Anning L, Paratz J, Wong WP, Wilson K. Effect of manual hyperinflation on haemodynamics in an animal model;²⁶ Wong WP, Paratz J, Wilson K, Burns YR. Hemodynamic and ventilator effects of manual respiratory physiotherapy techniques of chest clapping, vibration and shaking in an animal model;²⁷ Unoki T, Mizutani T, Toyooka H. Effects of respiratory rib cage compression combined with endotracheal suction on gas exchange in mechanically ventilated rabbits with induced atelectasis;²⁸ Zhang E, Hiroma T, Sahashi T, Taki A, Yoda T, Nakamura T. Airway lavage with exogenous surfactant in an animal model of meconium aspiration syndrome;²⁹ Lima J, Reis L, Moura F, Souza C, Walchan E, Bergmann A. Compressão manual torácica em um modelo experimental de atelectasia em ratos Wistar.³⁰

Os estudos revisados foram publicados entre 1989 e 2008 e são apresentados por ordem cronológica de publicação.

Artigos selecionados:

Artigo 1: *Clapping or percussion causes atelectasis in dogs and influences gas exchange.*²⁴

Objetivo: analisar os efeitos das técnicas de tapotagem e percussão torácicas sobre a ventilação e oxigenação e estrutura pulmonar em cães saudáveis.

Modelo animal: 20 cães adultos sem raça definida (22-29 Kg), anestesiados com fenobarbital (25mg/Kg em *bolus*) e paralisados com succinilcolina sódica (20mg i.v.), sob ventilação mecânica (Harvard Ventilator™, Estados Unidos) em posição supina, com volume corrente de 15 ml/Kg e frequência respiratória de 12 movimentos por minuto. Os animais foram divididos em grupos, conforme a técnica fisioterapêutica aplicada: percussão (n=12) ou tapotagem (n=6). Um grupo controle (n=2) foi preparado do mesmo modo e recebeu as mesmas avaliações, porém sem ser submetido a nenhuma técnica fisioterapêutica.

Técnica de fisioterapia utilizada: tapotagem ou percussão torácica sobre a região látero-inferior do tórax, entre a 4^a e 8^a costelas, na linha média da axila. Os animais foram randomizados para receber percussão ou tapotagem em decúbito lateral direito ou esquerdo. A tapotagem foi realizada por um, entre dois fisioterapeutas treinados, sobre o tórax do animal coberto com toalhas, como normalmente utilizado em humanos. A percussão torácica foi aplicada com percussor manual (ITI Mechanical percussor, Internal Therapeutics™, Estados Unidos), na frequência de 10-16 Hz. Cada técnica foi aplicada uma única vez, em cada animal durante dez minutos.

Desfechos principais: alterações sobre a PaO₂ e PaCO₂ verificadas através de gasometria arterial seriada; variação na pressão esofágica (Δ Pes) mensurada através de cateter balão esofágico de 10 cm, posicionado na região entre a 4^a e 8^a costelas do animal; avaliação da estrutura pulmonar através de análise anatomopatológica e histopatológica.

Resultados: nos animais que receberam percussão (n=12), houve um aumento da PaO₂ imediatamente após a aplicação da técnica (p<0,005), com queda na PCO₂ no mesmo período (p<0,001). Os animais que receberam tapotagem (n=6) apresentaram aumento da PaO₂ imediatamente após o procedimento (p<0,001), e queda na PCO₂, porém sem apresentar significância estatística nesta última. Em relação à variação da pressão esofágica durante a aplicação das técnicas, os animais submetidos à percussão torácica aplicada na frequência de 10-16 Hz apresentaram uma variação (Δ Pes) de 10-17 cmH₂O e os animais submetidos à tapotagem, aplicada numa frequência de 4-7 Hz, apresentaram uma variação de 6-17 cmH₂O. As análises macroscópica e histopatológica mostraram grandes áreas de atelectasia no pulmão que foi submetido à técnica e pequenas áreas de atelectasia na região hilar de ambos os pulmões e no pulmão contralateral.

Conclusão dos autores: Apesar da atelectasia, a troca gasosa melhorou após a realização da percussão torácica ou tapotagem.

Artigo 2: *Effects of respiratory rib cage compression and/or prone position on oxygenation and ventilation in mechanically ventilated rabbits with induced atelectasis.*²⁵

Objetivo: testar a hipótese de que a compressão torácica e/ou a posição prona melhoram a ventilação e oxigenação ou a complacência dinâmica do sistema respiratório.

Modelo animal: 41 coelhos brancos japoneses adultos ($3,4 \pm 0,35$ Kg), anestesiados com 75-150 mg de fenobarbital diluído em ringer lactato (40 ml/h) e paralisados com 0,375 mg de pancurônio, traqueostomizados e mantidos sob ventilação mecânica (Servo 900B, Siemens- Elema AB™, Suécia) com FiO_2 de 0.3, fluxo de 15L/min, frequência respiratória de 30 movimentos por minuto, pressão positiva expiratória final (PEEP) de 5 cm/H₂O e pico de pressão inspiratória (PIP) ajustada para atingir $PaCO_2$ de 40 ± 5 mmHg. A pressão média arterial, a frequência cardíaca e o volume corrente expiratório foram medidos continuamente (NVM1, Bear Medical System™, Estados Unidos), assim como o CO₂ expirado (Capnomac Ultima, Datex Instrumentarium™, Finlândia). Os animais receberam infusão de muco artificial (0.2 ml/min por 10 minutos) e foram randomizados em 4 grupos (n=10 em cada grupo): 1-posição supina sem compressão torácica, 2- posição supina com compressão torácica, 3- posição prona sem compressão torácica e 4- posição prona com compressão torácica. Após os procedimentos, todos os animais foram mantidos em posição supina por 120 minutos.

Técnica de fisioterapia utilizada: compressão manual torácica, bilateral, aplicada pelo mesmo operador (enfermeira intensivista). A técnica utilizada se baseia no modelo padrão de utilização clínica e consiste na aplicação de compressões bilaterais simultâneas, na região inferior do tórax durante a fase expiratória, seguida de pausa durante a inspiração. Nos grupos posição supina com compressão torácica e posição prona com compressão torácica, a técnica foi aplicada a cada movimento respiratório durante 5 minutos, iniciando 50 minutos após a verificação dos dados basais e repetida 5 vezes a cada 30 minutos.

Desfechos principais: alterações sobre a PaO_2 e $PaCO_2$, mensuradas através de gasometria arterial (288 Blood Gas System, Ciba-Corning™, Estados Unidos); complacência dinâmica do sistema respiratório.

Resultados: a compressão torácica não modificou a relação entre a pressão parcial de oxigênio arterial e a fração inspirada de oxigênio ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$) ou a complacência dinâmica. Os animais que foram posicionados em posição prona apresentaram uma $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ mais elevada do que os animais posicionados em posição supina ($P < 0,05$). A média da complacência dinâmica em todos os animais decresceu $0,80 \pm 0,44$ cmH_2O (média \pm desvio padrão (DP)) aos 10 minutos após a infusão de muco artificial. Não houve diferença estatisticamente significativa na complacência dinâmica entre os grupos que receberam e que não receberam compressão torácica ($P = 0,74$) ou entre os grupos que foram posicionados na posição prona ou supina ($P = 0,65$).

Conclusão dos autores: é improvável que a compressão torácica possa re-expandir áreas colapsadas do pulmão. A posição prona promove a oxigenação em coelhos em que foi induzida atelectasia.

Artigo 3: *Effect of manual hyperinflation on haemodynamics in an animal model.*²⁶

Objetivo: investigar os efeitos da hiperinsuflação manual sobre a função hemodinâmica em um modelo animal saudável.

Modelo animal: nove ovelhas adultas ($39,5 \text{ Kg} \pm 1,6$) sedadas com tiopental (15-20 ml i.v.) e mantidas sob sedação com oxigênio/halotano 1.5%, intubadas e mantidas sob ventilação mecânica (Ulco Engineering PtyTM, Austrália) com FiO_2 de 0.4, volume corrente de 10 ml/Kg, frequência respiratória entre 10 e 14 movimentos por minuto e PEEP de 5 cmH_2O . Os animais foram submetidos à inserção cirúrgica de cateter arterial na carótida esquerda e na artéria pulmonar.

Técnica de fisioterapia utilizada: hiperinsuflação manual com pressão de pico de 35mmHg e zero PEEP, relação inspiração/expiração (I:E) de 2:1 numa frequência de 10 respirações por minuto durante 2 minutos.

Desfecho principal: alterações hemodinâmicas mensuradas através da pressão da artéria pulmonar, pressão média arterial, pressão de pulso (diferença entre a pressão sistólica e a pressão diastólica), pressão atrial direita, frequência cardíaca, pressão de oclusão da artéria

pulmonar, débito cardíaco (termo diluição), resistência vascular sistêmica.

Resultados: o volume corrente durante a hiperventilação manual foi em média 294% (Desvio Padrão - DP 22%) do volume corrente do ventilador mecânico. O débito cardíaco pelo método de termo-diluição apresentou queda com diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$) e a resistência vascular sistêmica apresentou aumento ($P < 0,01$) após a aplicação da hiperventilação manual. A pressão média arterial e a pressão de pulso decresceram durante a hiperventilação ($P < 0,01$) e aumentaram significativamente (pressão média arterial $P < 0,05$ e pressão de pulso $P < 0,001$) após a aplicação da técnica. Igualmente, a pressão da artéria pulmonar apresentou aumento significativo durante a hiperventilação manual ($P < 0,01$). Não houve alterações estatisticamente significativas da pressão atrial direita, da pressão de oclusão da artéria pulmonar e da frequência cardíaca.

Conclusão dos autores: que a hiperventilação manual produziu alterações hemodinâmicas significativas no modelo animal. O aumento da pressão intratorácica, provocada pelo aumento do tempo inspiratório, reduziu o débito cardíaco produzindo vasoconstrição compensatória, evidenciada pelo aumento da resistência vascular sistêmica e pressão média arterial. Os resultados sugerem que pode haver uma redução do débito cardíaco após aumento de pressão intratorácica em indivíduos com função cardíaca e respiratória normal.

Artigo 4: *Hemodynamic and ventilatory effects of manual respiratory physiotherapy techniques of chest clapping, vibration and shaking in an animal model.*²⁷

Objetivo: descrever a frequência e a força produzidas por diferentes fisioterapeutas durante a aplicação das técnicas de fisioterapia respiratória; verificar se a força e a frequência de aplicação das técnicas estão relacionadas às características pessoais de cada fisioterapeuta e se a força e a frequência de aplicação das técnicas têm efeito sobre a estabilidade hemodinâmica e a função ventilatória.

Modelo animal: duas ovelhas merino adultas (37,9 Kg e 38,4 Kg) sedadas com tiopental (15-20 ml i.v.) e mantidas sob sedação com oxigênio/halotano 1,5% e tiopental (10ml i.v. em

bolus), intubadas e mantidas sob ventilação mecânica (Ulco Engineering Pty™, Austrália), posicionadas em decúbito lateral direito e com a cabeça elevada, com FiO₂ de 0.21, volume corrente de 10 ml/Kg, frequência respiratória entre 10 e 14 movimentos por minuto e I:E de 1:2. Os animais foram submetidos à inserção cirúrgica de cateter arterial na carótida interna esquerda (pressão sistólica e diastólica) e na artéria pulmonar (pressão da artéria pulmonar e pressão atrial direita), conectados a um transdutor de pressão (Baxter Edwards™). Um cateter-balão esofágico (CR Bard™), conectado a um transdutor de pressão (Baxter Edwards™), foi inserido ao nível do terço inferior dos pulmões dos animais e calibrado a 0 mmHg, de forma que a variação de pressão durante a aplicação das técnicas de fisioterapia viesse a refletir a variação da pressão pleural. Os pelos do animal foram cortados na região de localização do balão esofágico e a pele foi marcada por um X, onde o fisioterapeuta foi instruído a aplicar as técnicas de fisioterapia respiratória estudadas.

Técnica de fisioterapia utilizada: dez fisioterapeutas foram recrutados pelos pesquisadores e orientados a aplicar as técnicas como eram habituados a proceder com pacientes adultos em sua prática clínica. Cada fisioterapeuta aplicou tapotagem durante 1 minuto, vibração torácica e *shaking* (seis vezes cada), em uma região específica do tórax. Por *shaking* entende-se um tipo de vibração mais intensa em que o fisioterapeuta utiliza a musculatura dos braços na aplicação da técnica. A sequência em que as técnicas foram aplicadas por cada fisioterapeuta foi randomizada e estabelecido um intervalo de 10 minutos entre a aplicação de cada técnica e aproximadamente 10 a 15 minutos entre cada fisioterapeuta.

Desfechos principais: alterações hemodinâmicas mensuradas através da pressão da artéria pulmonar, pressão média arterial, pressão de pulso (diferença entre pressão sistólica e pressão diastólica) e pressão atrial direita. A variação da força (em mmHg) e a frequência (número de forças compressivas por segundo, em Hz) durante a aplicação das técnicas pelos diferentes fisioterapeutas, medidas através de registro gráfico da variação de pressão esofágica (ΔP_{es}) captada pelo transdutor de pressão conectado ao cateter balão esofágico. A frequência e a força de aplicação das técnicas foram registradas a cada dez segundos,

pelo tempo de 1 minuto durante a tapotagem e de modo contínuo durante a vibração e *shaking*. A variação sobre o Pico de Fluxo Expiratório e Volume Corrente foi capturada através de pneumotacógrafo conectado a um sistema de monitorização da mecânica ventilatória (Ven Track Respiratory Mechanics, Novametrics Medical System™, Estados Unidos).

Resultados: os fisioterapeutas participantes do estudo aplicaram a tapotagem numa frequência $6,2 \pm 0,9$ Hz, vibração a $10,5 \pm 2,3$ Hz e *shaking* $\pm 6,2 \pm 2,3$ Hz gerando uma Δ Pes de $8,8 \pm 5,0$; $0,7 \pm 0,3$ e $1,4 \pm 0,7$ respectivamente. Durante a aplicação das técnicas não foram registrados efeitos significativos sobre a função hemodinâmica dos animais. Em relação à função ventilatória, foi observado um aumento do volume corrente expirado entre o período de repouso e logo após a aplicação da vibração torácica ($P= 0,029$), sem variação estatisticamente significativa sobre o pico de fluxo expiratório e a frequência respiratória.

Conclusão dos autores: 1) a tapotagem, vibração e *shaking* podem ser aplicadas de forma consistente por fisioterapeutas; 2) a consistência na aplicação das técnicas está relacionada com as características de cada fisioterapeuta, particularmente com a experiência clínica; 3) a aplicação das técnicas não causou alterações hemodinâmicas significativas.

Artigo 5: *Effects of respiratory rib cage compression combined with endotracheal suction on gas exchange in mechanically ventilated with induced atelectasis.*²⁸.

Objetivo: avaliar os efeitos da compressão torácica e aspiração endotraqueal sobre a oxigenação, ventilação e higiene brônquica.

Modelo animal: 28 coelhos brancos japoneses, adultos ($2,8 \pm 0,24$ Kg), anestesiados com 75-150 mg de fenobarbital diluído em ringer lactato (40 ml/h), paralisados com 0,375 mg de pancurônio, traqueostomizados e mantidos sob ventilação mecânica (Servo 900B, Siemens- Elema AB™, Suécia) em posição supina, com FiO_2 de 1.0, fluxo de 15L/min, frequência respiratória de 30 movimentos por minuto, tempo inspiratório de 33% do ciclo respiratório, PEEP zero e volume corrente ajustado para atingir $PaCO_2$ de 40 ± 5 mmHg. O volume corrente expiratório foi medido continuamente (NVM1, Bear Medical System™, Estados

Unidos), assim como o CO₂ expirado (Capnomac Ultima, Datex Instrumentarium™, Finlândia). Todos os animais foram submetidos à infusão de muco artificial e randomizados em 4 grupos (cada grupo n=7): 1- grupo controle, sem intervenção após a infusão de muco, 2- aspiração endotraqueal sem compressão torácica, 3- compressão torácica sem aspiração endotraqueal e 4- compressão torácica seguida de aspiração endotraqueal. Cinco minutos após a infusão de muco artificial, foram coletadas as gasometrias basais e os parâmetros ventilatórios foram alterados para o modo pressão controlada, com FiO₂ de 1.0, PIP 18 cm H₂O, fluxo de 15L/min e PEEP zero.

Técnica de fisioterapia utilizada: compressão manual torácica, bilateral, aplicada por um mesmo operador (enfermeira intensivista). A técnica utilizada se baseia no modelo padrão de utilização clínica onde o estudo foi desenvolvido e consiste na aplicação de compressões bilaterais simultâneas na região inferior do tórax durante a fase expiratória, seguida de pausa durante a inspiração. A técnica foi aplicada a cada movimento respiratório durante 5 minutos, em duas sessões realizadas nos grupos 3 e 4 aos dois e 17 minutos após as medidas basais. Nos animais dos grupos 2 e 4 foi aplicada aspiração endotraqueal através de um cateter 6 *French* conectado a um sistema de elétrico de vácuo (MMC-1500 w, Sanko™, Japão) aos 7 e 22 minutos após o período basal.

Desfechos principais: alterações sobre a PaO₂ e PaCO₂ mensuradas através de gasometria arterial (288 Blood Gas System, Ciba-Corning™, Estados Unidos); complacência dinâmica do sistema respiratório e quantidade de muco aspirado, mensurado através de balança eletrônica (Electric Balance ER 184A, A&D Company™, Japão).

Resultados: nos grupos que receberam compressão torácica a ventilação, a oxigenação e a complacência dinâmica foram piores do que nos grupos que não receberam compressão torácica (P<0,05). Não houve diferença estatisticamente significativa na quantidade de muco aspirado entre os grupos que receberam e que não receberam compressão torácica.

Conclusão dos autores: em coelhos sob ventilação mecânica e atelectasia induzida, a compressão torácica isolada ou associada à aspiração endotraqueal não promoveu a ventilação, oxigenação, complacência dinâmica ou higiene brônquica. O colapso alveolar e

de vias aéreas provavelmente foi exacerbado pela compressão torácica.

Artigo 6: *Airway lavage with exogenous surfactant in an animal model of meconium aspiration syndrome.*²⁹

Objetivo: avaliar os efeitos do lavado bronco alveolar com surfactante combinado com técnica de fisioterapia respiratória em um modelo animal de síndrome da aspiração de mecônio.

Modelo animal: coelhos japoneses adultos (2,5 a 3 Kg), anestesiados com cetamina (10 mg/Kg i.m.) e xilazina (5 mg/Kg), traqueostomizados e mantidos sob ventilação mecânica em respirador ciclado a tempo e limitado a pressão (Humming II, Metran™, Japão), em posição supina, FiO₂ de 1.0, tempo inspiratório de 0,6 segundos, PEEP de 3 cm H₂O e PIP ajustado para manter um volume corrente de 10 ml/Kg. Os animais foram mantidos sedados através da infusão contínua (i.v.) de cetamina (5mg/Kg/h) e paralisados com pancurônio (0,1 mg/Kg/h) e foram submetidos à inserção cirúrgica de cateter arterial na carótida interna esquerda, para mensuração da pressão arterial. Após a indução da síndrome de aspiração de mecônio, pela infusão de mecônio humano diluído a 20%, seguido de ventilação artificial por 1 hora, os animais foram randomizados em 3 grupos (n=7 em cada grupo) 1- apenas aspiração, 2- lavado bronco alveolar com surfactante, 3- lavado bronco alveolar com surfactante e fisioterapia respiratória (*squeezing*).

Técnica de fisioterapia utilizada: vibração torácica (5 segundos) associada à manobra de hiperinsuflação manual (*bag squeezing*) durante o lavado bronco alveolar com surfactante, com 6 repetições em cada decúbito.

Desfecho principal: gasometria arterial (ABL700, Radiometer™, Dinamarca), pressão arterial e frequência cardíaca mensuradas 1 hora após a indução de síndrome da aspiração de mecônio e novamente a cada 30 minutos após o procedimento de aspiração, lavado bronco-alveolar com surfactante ou lavado bronco alveolar com surfactante associado à manobra e vibração (*bag squeezing*), durante 3 horas. Índice de oxigenação (IO) calculado pela equação “pressão média das vias aéreas x FiO₂ x 100/PaO₂”.

Resultados: no grupo lavado bronco-alveolar com surfactante associado à vibração (*bag squeezing*) a PaO₂ aumentou significativamente em todos os momentos quando comparada a dos grupos aspiração e lavado bronco-alveolar com surfactante. No grupo lavado bronco-alveolar com surfactante a PaO₂ aumentou significativamente após 0,5, 1 e 1,5 horas quando comparada com a do grupo que recebeu somente aspiração. Nos grupos lavado bronco-alveolar com surfactante e lavado-bronco alveolar com surfactante associado à vibração (*bag squeezing*) o IO melhorou significativamente em todos os momentos, exceto após 0,5h quando comparado ao grupo que recebeu somente aspiração endotraqueal. Adicionalmente, o grupo de animais que recebeu lavado bronco-alveolar com surfactante associado à vibração (*bag squeezing*) apresentou melhora significativa no IO após 2, 2,5 e 3h quando comparado ao grupo lavado bronco-alveolar com surfactante. A frequência cardíaca e a pressão arterial não apresentaram alterações estatisticamente significativas (dados não apresentados).

Conclusão dos autores: a combinação de lavagem com surfactante exógeno e fisioterapia respiratória (*squeezing*) melhora o distúrbio respiratório na síndrome da aspiração de mecônio.

Artigo 7: Compressão Manual Torácica em um modelo experimental de atelectasia em ratos Wistar.³⁰

Objetivo: analisar os aspectos histopatológicos do tratamento com direcionamento de fluxo em um modelo experimental de atelectasia em ratos.

Modelo animal: vinte e quatro ratos Wistar (200-250g), sedados com diazepam (5mg i.p.) e anestesiados com tiopental (20 mg/Kg i.p.), paralisados com trietiodato de galamina (2mg/Kg i.p.) traqueostomizados e conectados a um ventilador mecânico (6015, Ugo Basile™, Itália) com volume constante de 5 ml/Kg, frequência respiratória de 80 movimentos por minuto e PEEP de 3cm H₂O. Os animais foram divididos em 4 grupos: C- grupo controle; A- grupo atelectasia; T3- grupo tratado com direcionamento de fluxo 3 vezes; T6- grupo tratado com direcionamento e fluxo 6 vezes. Os animais dos grupos A, T3 e T6 foram

submetidos a um modelo de atelectasia por compressão torácica de -8mmHg durante 10 segundos, através de um esfigmomanômetro pediátrico.

Técnica de fisioterapia utilizada: direcionamento de fluxo através da utilização de um clip nasal com objetivo de simular a compressão manual, durante 5 segundos, no hemitórax direito.

Desfecho principal: aspectos histopatológicos através de análise morfológica e morfométrica dos pulmões por meio de microscópio biológico (BX 51, Olympus™).

Resultados: aumento do colapso alveolar no grupo atelectasia e nos grupos tratados com compressão torácica, quando comparados ao grupo controle. Os animais tratados com compressão torácica não apresentaram melhora do quadro de atelectasia.

Conclusão dos autores: a técnica de compressão unilateral do tórax não foi eficiente para o tratamento do modelo de atelectasia em ratos.

Discussão

Apresentamos aqui a revisão de sete estudos utilizando mamíferos como modelo experimental de fisioterapia respiratória. Um estudo²⁴ utilizou cães adultos como modelo, dois estudos utilizaram ovelhas adultas,^{26,27} três utilizaram coelhos adultos^{25,28,29} e um estudo utilizou ratos Wistar.³⁰ As técnicas de fisioterapia utilizadas foram: percussão,²⁴ tapotagem,^{24,27} compressão torácica,^{25,28,30} vibração,²⁷ vibração associada à hiperventilação manual (bag squeezing)²⁹ e hiperventilação manual isolada.²⁶ Um estudo²⁷ teve por objetivo principal avaliar a força e a frequência da aplicação das técnicas estudadas pelos fisioterapeutas, dois estudos^{24,30} investigaram a repercussão das técnicas sobre a estrutura pulmonar, um estudo²⁶ avaliou a repercussão hemodinâmica de uma técnica e todos os outros estudos objetivaram testar o efeito das técnicas propriamente ditas. Por fim, quatro estudos^{25,28,29,30} empregaram algum modelo de lesão pulmonar, enquanto três^{24,26,27} outros utilizaram animais saudáveis e previamente hígidos.

Ainda que os objetivos e modelos animais sejam diferentes entre os estudos, é possível traçar alguma comparação entre eles. Em relação ao modelo animal, somente um

estudo³⁰ utiliza animal de pequeno porte, o que levou os investigadores a realizar apenas uma simulação da técnica fisioterapêutica aplicada em humanos. Todos os outros estudos utilizaram animais com peso corporal aproximado ao do ser humano de interesse para a investigação, facilitando a reprodução das técnicas de fisioterapia respiratória, o que vem ao encontro das recomendações sobre a escolha de modelos animais para estudos que envolvam a transportabilidade de muco.¹

Alguns autores avaliaram os mesmos desfechos. A variação da pressão esofágica, durante a aplicação de tapotagem, foi avaliada em dois estudos^{24,27} encontrando-se resultados semelhantes, embora os modelos animais utilizados sejam diferentes. Um terceiro estudo²⁵ avaliou a ΔP_{es} durante a aplicação de compressão torácica manual, em apenas um dos animais estudados, observando-se aumento da pressão esofágica durante a fase expiratória. Esses resultados reafirmam a possibilidade de utilizar a ΔP_{es} como recurso para inferir a variação na pressão pleural durante a fisioterapia respiratória e a importância dessa variável em estudos que utilizem modelos animais para este fim.

A repercussão hemodinâmica da aplicação das técnicas de fisioterapia respiratória foi avaliada em dois estudos.^{26,27} Um estudo,²⁷ focalizando técnicas manuais (tapotagem, vibração e *shaking*), não mostrou repercussões hemodinâmicas significativas, enquanto outro,²⁶ avaliando os efeitos da manobra de hiperinsuflação manual, mostrou redução do débito cardíaco, aumento da resistência vascular sistêmica, além de alterações na pressão média arterial durante e após a aplicação da técnica. Embora ambos os estudos tenham utilizado ovelhas adultas como modelo experimental e tenham sido realizados, basicamente, pelo mesmo grupo de pesquisadores, nenhum dos trabalhos discute os parâmetros fisiológicos de normalidade para o modelo animal estudado, o que dificulta a avaliação do efeito clínico destas técnicas.

Quatro estudos^{24,25,28,29} avaliaram os efeitos de diferentes técnicas de fisioterapia respiratória sobre a oxigenação e ventilação, através da avaliação da gasometria arterial, utilizando diferentes modelos animais e com resultados divergentes. Um estudo utilizando modelo de síndrome de aspiração de mecônio em coelhos,²⁹ mostrou melhora gasométrica

significativa 3 horas após a utilização de *bag squeezing* e outro, em que foram utilizados cães hígidos, mostrou aumento transitório da PaO₂ e redução da PaCO₂ durante a aplicação de tapotagem.²⁴ Entre os estudos que utilizaram a compressão manual torácica em um modelo de atelectasia em coelhos, não foi encontrado nenhum resultado significativo após a aplicação da técnica²⁵ ocorrendo piora gasométrica quando utilizada uma variação deste mesmo modelo.²⁸ Este último resultado, porém, pode ter sido influenciado pela decisão dos autores em modificar o modelo inicial e não utilizar pressão positiva expiratória final durante a ventilação mecânica, ou seja, por terem decidido adotar PEEP zero. No primeiro estudo sobre o modelo,²⁵ um único animal teve gasometrias arteriais coletadas a cada minuto, durante as manobras de compressão manual torácica, e verificou-se melhora gasométrica durante a aplicação da técnica, retornando aos índices basais logo após. Ainda que os autores não apresentem os valores dessa variação, a observação parece comparável aos resultados encontrados durante a aplicação de tapotagem em cães, e aponta para a necessidade de se investigar a variação dos valores de PaO₂ e PaCO₂, não apenas antes e depois, mas durante a aplicação das técnicas de fisioterapia respiratória.

Dois estudos^{24,30} utilizaram análise histopatológica como forma de avaliar os efeitos da fisioterapia respiratória sobre o parênquima pulmonar, onde a presença de atelectasia foi o achado mais frequente, sendo que, em um deles³⁰ a indução da atelectasia fazia parte do modelo. No estudo realizado com cães,²⁴ a presença de atelectasia foi atribuída às técnicas fisioterapêuticas utilizadas, uma vez que não foi observada no grupo controle. Considerando que em nenhum desses estudos foi realizado exame de imagem, é difícil avaliar a real repercussão da atelectasia encontrada no exame histopatológico sobre os modelos animais estudados. Por outro lado, não foi observada alteração gasométrica compatível com a presença de atelectasia durante a aplicação das técnicas no estudo realizado em cães²⁴ e o estudo com ratos Wistar não foram apresentados dados gasométricos.³⁰ Ao compararmos esses dados com os observados no modelo de atelectasia em coelhos,²⁵ verificamos que, neste último, a gasometria arterial (sobretudo a queda da PaO₂) foi utilizada como parâmetro para confirmar a atelectasia induzida. Torna-se então

evidente a necessidade de se estabelecer um parâmetro clínico ou radiológico, ou ainda, uma relação entre sinais clínicos, exames laboratoriais, radiológicos e histológicos ao se estudar modelos de atelectasia em animais.

Por fim, encontramos dois estudos com proposta semelhante: avaliar os efeitos da compressão torácica manual sobre um modelo de atelectasia. Os métodos e modelos utilizados são, todavia, distintos. Em um estudo²⁵ foi empregada a infusão de muco artificial com objetivo de produzir atelectasia secundária à obstrução brônquica. Os autores justificaram a utilização da compressão torácica como tratamento devido ao entendimento de que essa técnica seria capaz de reduzir a obstrução brônquica e, conseqüentemente, resolver a atelectasia. O outro estudo³⁰ utilizou um modelo de atelectasia compressiva, não sendo apresentada justificativa para o uso da técnica de compressão torácica manual como tratamento de escolha.

Considerações finais

A presente revisão mostra que poucos estudos utilizando modelos animais em fisioterapia respiratória foram realizados até o momento e aponta para a possibilidade de se desenvolver estudos promissores nessa área utilizando mamíferos, como modelo experimental. A comparação entre os dados aqui apresentados permite sugerir aos novos autores que atentem para alguns aspectos relacionados ao delineamento de futuros estudos, entre eles: a escolha de um modelo animal com características morfológicas compatíveis com o ser humano, na faixa etária de seu interesse, sobretudo no que diz respeito ao peso do animal; possibilidade de aplicação das técnicas no modelo animal da forma habitualmente utilizada no ser humano da faixa etária de interesse da investigação; descrição dos critérios de estabilidade fisiológica do modelo animal estudado; registro dos dados basais de estabilidade fisiológica antes da aplicação do procedimento estudado; aplicação de um modelo de lesão ou doença pulmonar, teoricamente passível de tratamento fisioterapêutico e descrição da base teórica que justifica a aplicação de técnicas de fisioterapia respiratória no modelo de lesão adotado. Quanto à avaliação dos desfechos do

procedimento de fisioterapia investigado no modelo animal, sugere-se o melhor nível de avaliação possível capaz de identificar as alterações fisiológicas, repercussão clínica ou efeitos colaterais do procedimento, entre eles: registro das alterações sobre a pressão intratorácica durante a aplicação das técnicas (ex. registro da variação da pressão esofágica); registro de variáveis de mecânica respiratória (pico de fluxo, volume corrente, complacência dinâmica ou estática, resistência das vias aéreas); registro de variáveis hemodinâmicas (pressão média arterial, pressão da artéria pulmonar, débito cardíaco e resistência vascular sistêmica); gasometria arterial; avaliação radiológica do pulmão, pré e pós a indução do modelo de lesão pulmonar e procedimento de fisioterapia; análise anatomopatológica e histopatológica do pulmão de forma sistematizada (ex morfometria). Por fim, em relação à análise do material aspirado, sugere-se a adoção de técnicas de aspiração com pressão negativa mensurada e sistema de coleta padronizado; avaliação do peso, características reológicas e microscópicas do material aspirado.

Esta revisão se propôs a analisar, de forma sistematizada, estudos sobre técnicas de fisioterapia respiratória envolvendo modelos animais. Acreditamos que a síntese aqui apresentada possa mostrar-se útil para esclarecer sobre o estágio atual de desenvolvimento dessas pesquisas, esperando que possa contribuir para a realização de novos estudos nessa área.

REFERÊNCIAS

1. Tomkiewicz R, Albers G, De Sanctis G, Ramirez O, King M, Rubin B. Species differences in the physical and transport properties of airway secretions. *Can J Physiol Pharmacol.* 1994;165-71.
2. Felicetti SA, Wolff RK, Muggenburg BA. Comparison of tracheal mucous transport in rats, guinea pigs, rabbits, and dogs. *J Appl Physiol.* 1981;51(6):1612-7.
3. Boucher RC, Bromberg PA, Gatzky JT. Airway transepithelial electric potential in vivo: species and regional differences. *J Appl Physiol.* 1980;48(1):169-76.
4. Plopper CG, Mariassy AT, Lollini LO. Structure as revealed by airway dissection. A comparison of mammalian lungs. *Am Rev Respir Dis.* 1983;128(2 Pt 2):S4-7.
5. Saldiva P, King M, Delmonte V, et al. Respiratory alterations due to urban air pollution: an experimental study in rats. *Environ Res.* 1992;57:19-33.
6. Harkema J, Hotchkiss J. In vivo effects of endotoxin on intraepithelial mucosubstances in rat pulmonary airway. *Am J Pathol.* 1992;141:307-17.
7. App EM, Tomkiewicz RP, Hahn HL, Engler H, Vergin H, King M. The effect of tasuldine, a bronchosecretolytic agent, on mucus rheology and clearability and the interaction with acetylcholine in ferrets. *Pulm Pharmacol Ther.* 1997;10(5-6):271-6.
8. King M, Angus GE. Effect of aerosolized bronchodilators on viscoelastic properties of canine tracheal mucus. *Chest.* 1981;80(6 Suppl):852-4.
9. Kim C, Abraham W, Chapman C, Sackner M. Influence of Two-Phase Gas-liquid Interaction on Aerosol Deposition in Airways. *Am Rev Respir Dis.* 1985;131(4):618-23.
10. App EM, King M. Tracheal mucus rheology and epithelial potential difference in two day old puppies. *Biorheology.* 1990;27(3-4):515-26.
11. Winters S, Yeates D. Interaction between ions transporters and mucociliary transport system in dog and babon. *J Appl Physiol.* 1997;83:1348-59.
12. King M. Experimental models for studying mucociliary clearance. *Eur Respir J.* 1998;11(1):222-8.
13. Nakagawa NK, Donato-Júnior F, Kondo CS, King M, Auler-Júnior JO, Saldiva PH, et al. Effects of acute hypovolaemia by furosemide on tracheal transepithelial potential difference and mucus in dogs. *Eur Respir J.* 2004;24(5):805-10.
14. Gross D, Vartian V, Minami H, Chang HK, Zidulka A. High frequency chest wall compression and carbon dioxide elimination in obstructed dogs. *Bull Eur Physiopathol Respir.* 1984;20(6):507-11.
15. Zidulka A, Nadler S, Anthonisen NR. Pleural pressure with lobar obstruction in dogs. *Respir Physiol.* 1976;26(2):239-48.

16. Zidulka A, Braidy TF, Rizzi MC, Shiner RJ. Position may stop pneumothorax progression in dogs. *Am Rev Respir Dis.* 1982;126(1):51-3.
17. Zidulka A. Position may reduce or stop pneumothorax formation in dogs receiving mechanical ventilation. *Clin Invest Med.* 1987;10(4):290-4.
18. Luna CM, Baquero S, Gando S, Patrón JR, Morato JG, Sibila O, et al. Experimental severe *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia and antibiotic therapy in piglets receiving mechanical ventilation. *Chest.* 2007;132(2):523-31.
19. Luna CM, Sibila O, Agusti C, Torres A. Animal models of ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J.* 2009;33(1):182-8.
20. Giordano A, Holsclaw D, Litt M. Effects of various drugs on canine tracheal mucociliary transport. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1978;87(4 Pt 1):484-90.
21. Rubin BK, Finegan B, Ramirez O, King M. General anesthesia does not alter the viscoelastic or transport properties of human respiratory mucus. *Chest.* 1990;98(1):101-4.
22. Marumo C. Efeitos cardiovasculares das manobras de recrutamento alveolar durante lesão pulmonar aguda por ácido clorídrico: estudo experimental em suínos. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2007.
23. Zidulka A, Gross D, Minami H, Vartian V, Chang HK. Ventilation by high-frequency chest wall compression in dogs with normal lungs. *Am Rev Respir Dis.* 1983;127(6):709-13.
24. Zidulka A, Chrome J, Wight D, Burnett S, Bonnier L, Fraser R. Clapping or percussion causes atelectasis in dogs and influences gas exchange. *J Appl Physiol.* 1989;66(6):2833-8.
25. Unoki T, Mizutani T, Toyooka H. Effects of expiratory rib cage compression and/or prone position on oxygenation and ventilation in mechanically ventilated rabbits with induced atelectasis. *Respir Care.* 2003;48(8):754-62.
26. Anning L, Paratz J, Wong WP, Wilson K. Effect of manual hyperinflation on haemodynamics in an animal model. *Physiother Res Int.* 2003;8(3):155-63.
27. Wong W, Paratz J, Wilson K, Burns Y. Hemodynamic and ventilatory effects of manual respiratory physiotherapy techniques of chest clapping, vibration, and shaking in an animal model. *J Appl Physiol.* 2003;95(3):991-8.
28. Unoki T, Mizutani T, Toyooka H. Effects of expiratory rib cage compression combined with endotracheal suctioning on gas exchange in mechanically ventilated rabbits with induced atelectasis. *Respir Care.* 2004;49(8):896-901.
29. Zhang E, Hiroma T, Sahashi T, Taki A, Yoda T, Nakamura T. Airway lavage with exogenous surfactant in an animal model of meconium aspiration syndrome. *Pediatr Int.* 2005;47(3):237-41.
30. Lima J, Reis L, Moura F, Souza C, Walchan E, Bergmann A. Compressão Manual Torácica em um modelo experimental de atelectasia em ratos Wistar. *Fisioterapia em Movimento.* 2008;21(3):77-82.

CAPÍTULO III

ARTIGO ORIGINAL

Formatado de acordo com as normas da revista *Respiratory Care*.

Modelo experimental de atelectasia em porcos recém-nascidos.

Experimental model of atelectasis in newborns piggies.

(Experimental model of atelectasis.)

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Estudo realizado com financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico -CNPq e bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.

Palavras chave: Fisioterapia. Modelos Animais. Ventilação Mecânica. Atelectasia.

RESUMO

Introdução: existem poucos estudos utilizando modelos animais em fisioterapia respiratória. Além disso, não existem modelos para avaliar esses efeitos em recém-nascidos. O objetivo deste estudo foi desenvolver um modelo de atelectasia por obstrução brônquica em porcos recém-nascidos, para o estudo das técnicas de fisioterapia respiratória neonatal.

Métodos: foram utilizados 30 leitões recém-nascidos, originários de um cruzamento entre as raças Large-White e Landrace devidamente sedados, anestesiados, traqueostomizados, paralisados e colocados sob ventilação mecânica. Quinze minutos após a instrumentação, os animais receberam infusão de muco artificial através de bomba de infusão. Transcorridos 30 minutos da infusão de muco artificial os animais foram submetidos à avaliação radiológica do tórax (em posição supina) e gasometria arterial para confirmar a produção de atelectasia.

Resultados: as imagens radiológicas foram analisadas por dois radiologistas não envolvidos no estudo. O modelo apresentado mostrou consistência de resultados entre os parâmetros de oxigenação e a análise radiológica. O modelo de atelectasia foi desenvolvido com sucesso em mais de 70% dos casos, ultrapassando 90% das tentativas na fase final do estudo.

Conclusões: este modelo de atelectasia apresentou resultados suficientemente consistentes para que possa ser testado em estudos sobre técnicas de fisioterapia respiratória em recém-nascidos.

Palavras chave: Fisioterapia. Modelos animais. Ventilação Mecânica. Atelectasia

ABSTRACT

Background: there are few studies using animal models in chest physical therapy. However, there are no models to assess these effects in newborns. The objective of this study was to develop a model of atelectasis by bronchial obstruction in newborn pigs for the study of neonatal physiotherapy.

Methods: 30 newborn pigs resulting from a cross-breeding between Large White and Landrace, properly sedated, anesthetized, tracheostomized, paralyzed and mechanically ventilated were used. Artificial mucus was instilled into the airways through an infusion pump 15 minutes after instrumentation. Radiological assessment of the lungs (in supine position) and blood gas analysis was performed 30 minutes after mucus infusion to confirm the production of atelectasis.

Results: two radiologist not involved in this research analyzed X ray. The model showed consistent results between parameters of oxygenation and radiological analysis. The atelectasis model was successfully developed in over 70% of cases, surpassing 90% of attempts in the final phase of the study.

Conclusions: this model of atelectasis showed results consistent enough to be tested in studies of chest physiotherapy techniques in newborns.

Key-words: Physiotherapy. Animal Models. Mechanical Ventilation. Atelectasis.

Introdução

Existem ainda muitos questionamentos a respeito da segurança e eficácia de algumas formas de fisioterapia respiratória utilizadas em recém-nascidos internados em Unidades de Terapia Intensiva Neonatal.^{1,2} Considerando que a ventilação mecânica nessa população leva ao aumento da produção de muco nas vias aéreas em questão de horas e que a fisioterapia respiratória tem por princípio a mobilização de secreções, é justificável analisar procedimentos seguros e eficazes no que diz respeito a prevenção de complicações associadas à ventilação mecânica em recém-nascidos. Com base nisso, levantamos a hipótese da factibilidade da utilização de porcos recém-nascidos como modelo experimental, a fim de avaliar as técnicas de fisioterapia respiratória neonatal.

Pesquisadores do Canadá estudaram os efeitos de algumas técnicas manuais de fisioterapia respiratória utilizando cães adultos sob ventilação mecânica.³ Na Austrália, um grupo de estudos utilizou ovelhas adultas^{4,5} e, no Japão foram realizados estudos utilizando coelhos adultos como modelo experimental.⁶⁻⁸ No Brasil foi utilizado um modelo de atelectasia por compressão em ratos Wistar, para simular uma técnica de fisioterapia respiratória.⁹ Esses poucos estudos representam um avanço na utilização de modelos animais em fisioterapia respiratória, porém, a despeito de alguns estudos focalizarem doenças respiratórias infantis, não existem modelos para avaliar os efeitos da fisioterapia respiratória na mobilização de secreções em recém-nascidos sob ventilação mecânica.

Recentemente, porcos adultos, sob ventilação mecânica, vêm sendo utilizados com sucesso como modelo experimental de doenças respiratórias¹⁰⁻¹² e leitões recém-nascidos como modelo de síndrome de aspiração de mecônio.¹³⁻¹⁶ Adicionalmente, estudos com muco artificial tem sido propostos para avaliar o transporte do muco nas vias aéreas, utilizando polímeros artificiais com propriedades comparáveis ao muco humano,^{17,18} sendo que um modelo de atelectasia utilizando muco artificial foi utilizado recentemente para estudar técnicas de fisioterapia respiratória em coelhos.^{6,7}

Devido às características do leitão recém-nascido¹⁹ (peso, anatomia e parâmetros fisiológicos muito semelhantes aos dos recém-nascidos humanos) é possível concluir que este pode se constituir em um modelo promissor para o estudo das técnicas de fisioterapia respiratória. Assim, o objetivo deste estudo foi desenvolver um modelo de atelectasia por obstrução brônquica através da infusão de muco artificial em leitões recém-nascidos, para servir como base para o estudo das técnicas de fisioterapia respiratória neonatal.

Material e métodos

Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA) e realizado em acordo com o *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*²⁰ e as normas nacionais de pesquisa em animais (lei 11.794).²¹ Foram utilizados 30 leitões recém-nascidos, com menos de 24 horas de vida, originários de um cruzamento entre as raças Large-White e Landrace. Os animais tiveram livre acesso à amamentação logo após o nascimento, foram transportados por pessoal experiente no transporte de animais e mantidos em local aquecido no laboratório, até o momento da experimentação.

Preparação do modelo animal e mensuração

Os animais foram colocados em posição supina e mantidos aquecidos na temperatura fisiológica (38° a 39° Celsius)¹⁹ através de colchão térmico. Foi induzida anestesia com cetamina (5 mg/Kg) e midazolam (0,5 µg/Kg) e realizada cateterização umbilical arterial para coleta de gasometria e cateterização venosa para infusão de medicação. Após a realização de analgesia local com lidocaína, foi realizada traqueostomia e intubação traqueal. Depois de obtido acesso às vias aéreas, os animais foram paralisados com pancurônio (0,1mg/kg) e colocados sob ventilação mecânica controlada, com pressão limitada (BP 200, Pró-médico™, Brasil), frequência respiratória de 40 movimentos por minuto, pressão inspiratória de 15 cmH₂O, pressão positiva expiratória final de 3 cmH₂O e fração inspirada de oxigênio (FIO₂) de 1,0. A fim de manter a anestesia e promover a hipnose e sedação adequadas

durante o procedimento, foi administrado cetamina (5mg/Kg), fentanil (5mg/Kg), midazolam (5µg/Kg) e pancurônio (0,1mg/kg) a cada 1 ou 2 horas, ou quando julgado necessário para manter os animais sedados e paralisados. A frequência cardíaca e a saturação de oxigênio foram mensuradas continuamente (Ohmeda™, PA, Estado Unidos). Os animais foram posicionados com a cabeça elevada em 30 graus, em decúbito lateral direito, e mantidos nessa posição até o final do experimento. Foram realizadas gasometrias arteriais 15 minutos após a preparação dos animais, imediatamente e 30 minutos após a infusão de muco artificial.

Modelo de atelectasia

Os animais foram submetidos a um modelo artificial de atelectasia, adaptado de outros estudos com modelos animais,^{6,7,17} Um sistema de infusão de muco artificial foi criado através de um conector tipo “Y” colocado entre o tubo traqueal e o circuito do ventilador e uma sonda nº 6, com uma extremidade inserida na via aérea e outra conectada a um infusor acoplado a uma bomba de infusão do tipo seringa (670 T, Samtronic™, Brasil). A sonda foi medida previamente de forma a garantir sua introdução 1 cm além da extremidade do tubo endotraqueal.

Avaliação radiológica

A fim de avaliar a efetividade do modelo de atelectasia, os animais foram submetidos a exame radiológico de tórax em incidência ântero-posterior, na posição supina, 30 minutos após a infusão de muco artificial. As imagens captadas foram gravadas para posterior análise por dois médicos radiologistas, com experiência em radiologia pediátrica, não envolvidos na pesquisa, que desconheciam o resultado das análises gasométricas e realizaram as avaliações de forma independente. Para mensurar as áreas de atelectasia nas imagens radiológicas, foi aplicado um escore modificado de outros autores.²²

Produção de muco artificial

A produção de muco artificial foi modificada de outros estudos.^{6,7} O muco artificial foi preparado com 1g de Poli (óxido de etileno) – POE, com peso molecular de 5.000.000 (Sigma- Aldrich™, Estados Unidos) diluído em 100 ml de água destilada (dH₂O), colocado em um agitador mecânico com hélice naval (711, Fisaton™, São Paulo, Brasil) em banho refrigerado a -20°C (116R, Fanem™, São Paulo, Brasil). Após a solubilização foi adicionado e 1% de xilenocianol (Sigma Aldrich™, Estados Unidos).

As propriedades reológicas do muco artificial produzido foram avaliadas através de um reômetro (AR 1500ex, TA Instruments™, Estados Unidos). Os valores obtidos foram: módulo elástico (G') de 58 Pa e módulo viscoso (G'') de 78 Pa na frequência de 1.0 rad/s. A fim de garantir a homogeneidade das amostras ao longo do estudo, o muco artificial foi mensurado através de um viscosímetro rotacional (VP 1000, Viscotech,™ Espanha) e foi observada uma viscosidade de 860 mmPa em todas as amostras, utilizando *spindle* R3.

Modelo de aspiração endotraqueal

A fim de garantir que o tipo de muco artificial escolhido para produzir o modelo de atelectasia obstrutiva fosse passível de remoção, dois animais foram utilizados para testar um modelo de aspiração endotraqueal utilizando o seguinte protocolo: após a instilação de 0,2 a 0,5ml de soro fisiológico pelo tubo endotraqueal (TET), os animais foram hiperventilados com balão manual (seis insuflações) e com o TET desconectado foram aspirados através de uma pressão negativa entre 50 a 100mmHg durante período de 10 a 15 segundos, utilizando cateter de aspiração nº6. Foi utilizado um frasco coletor adaptado a fim de permitir a mensuração da quantidade de secreção aspirada em cada procedimento.

Avaliação macroscópica e histopatológica

Ao término do experimento, os animais foram submetidos à eutanásia com injeção de cloreto de potássio. Em seis animais, após a eutanásia, foi realizada toracotomia e os pulmões foram insuflados com pressão de 5cmH₂O, a traquéia foi clampeada e se procedeu à injeção de formaldeído no átrio direito, com a posterior remoção dos pulmões e coração em bloco. Foi realizada avaliação macroscópica seguida de documentação fotográfica das peças que logo a seguir foram fixadas em formalina tamponada a 10% por 24 horas. Posteriormente foram realizados os cortes de amostras representativas de ambos os pulmões descartando-se um centímetro em cada extremidade dos lobos pulmonares superior e inferior e extraíndo 5 mm de cada um dos lobos, que foram incluídos em blocos de parafina, submetidos a novos cortes com 3μ de espessura e corados com hematoxilina-eosina. Para análise histopatológica as lâminas foram visualizadas através de microscópio biológico (Axioskop 40, Zeiss,TM Alemanha), fotografadas por câmera digital (Cool Snap - Pro, Media CybernetcsTM Estados Unidos).

Análise estatística

Para verificar a eficácia da produção do modelo sobre a variação da PaO₂ foi utilizado os teste de Mann-Whitney. Para verificar o comportamento de cada grupo antes e após a infusão de muco artificial foi utilizado o teste t de *Student* para amostras pareadas. Para avaliar uma possível diferença na quantidade de muco infundida entre os grupos, foi utilizado o teste t de *Student* para amostras independentes. A concordância entre os radiologistas foi avaliada através do teste de Kappa. As variáveis foram expressas como média e desvio-padrão ou mediana e intervalos interquartis, quando apropriado. Foi utilizado o programa SPSS, versão 11.0.

Resultados

Um total de 30 leitões recém-nascidos foram utilizados neste estudo, cinco dos quais para a realização de um estudo piloto a fim de avaliar a aplicabilidade das técnicas de fisioterapia respiratória nesses animais, como modelo experimental. No início do experimento com infusão de muco, dois animais receberam muco em excesso e foram considerados como perdas, uma vez que o evento não gerou dados possíveis de comparação ou análise. Ainda nessa fase, dois animais foram usados para testar o modelo de infusão de muco utilizando um cateter vascular do tipo balão, conforme utilizado em outros estudos.²³ Este procedimento, porém, não se mostrou efetivo para os objetivos propostos e, não sendo possível coletar dados para análise, os animais foram igualmente considerados como perdas. Na fase de desenvolvimento do sistema de infusão de muco foram utilizados 17 animais. Adicionalmente, dois animais foram usados para testar o procedimento de aspiração endotraqueal, e foram aspirados aproximadamente 0,4 ml de secreção em cada animal após a infusão de muco artificial conforme o modelo. Outros dois animais foram utilizados para avaliar as condições histopatológicas do pulmão após 5 horas de ventilação mecânica, sem infusão de muco artificial. A distribuição dos animais durante o estudo é apresentada na figura 1.

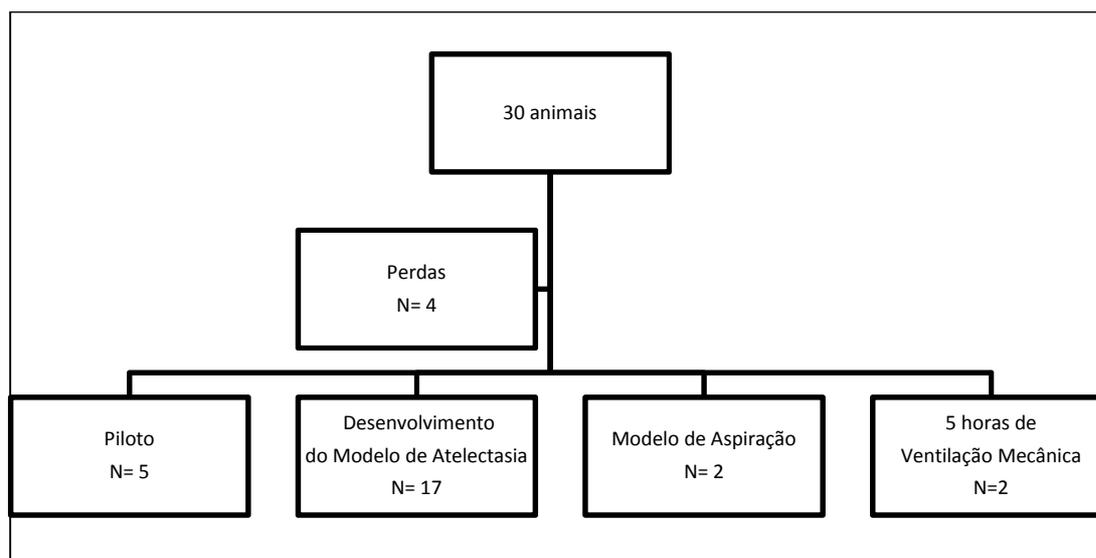


Figura 1: Fluxograma da utilização dos 30 leitões recém-nascidos durante o estudo.

Os 17 animais que receberam infusão de muco através de sonda comum, realizaram Rx e tiveram gasometria arterial coletada, tinham peso de 1.690 ± 71 gramas (média \pm desvio padrão) e menos de 24 horas de vida. Os primeiros quatro animais receberam infusão de muco artificial, via seringa, na proporção de 0,2 ml/min, com resultado insatisfatório em relação ao desenvolvimento do modelo e essa foi classificada como a fase 1 do estudo. Os quatro animais subsequentes receberam infusão de muco via bomba de infusão do tipo seringa (670T, Samtronic™, Brasil), na razão de 0,6 a 0,8 ml/Kg durante 10 minutos e foram classificados como fase 2. Os nove animais restantes receberam infusão de muco nos mesmos moldes da fase 2, porém mantendo a taxa de 0,8 ml/Kg durante dez minutos, após os quais foi realizada gasometria arterial. Caso a relação entre a pressão parcial de oxigênio arterial e a fração inspirada de oxigênio (PaO_2/FiO_2) apresentasse valores maiores do que 60% em relação à gasometria basal, uma dose adicional entre 0,3 a 5 ml de muco artificial era infundida durante 5 minutos. Esta fase foi classificada como fase 3 do estudo. Todos os animais apresentaram parâmetros fisiológicos de frequência cardíaca e saturação de oxigênio dentro dos limites de normalidade esperados¹⁹ durante todas as fases do estudo. A Figura 2 representa esquematicamente as fases do estudo.

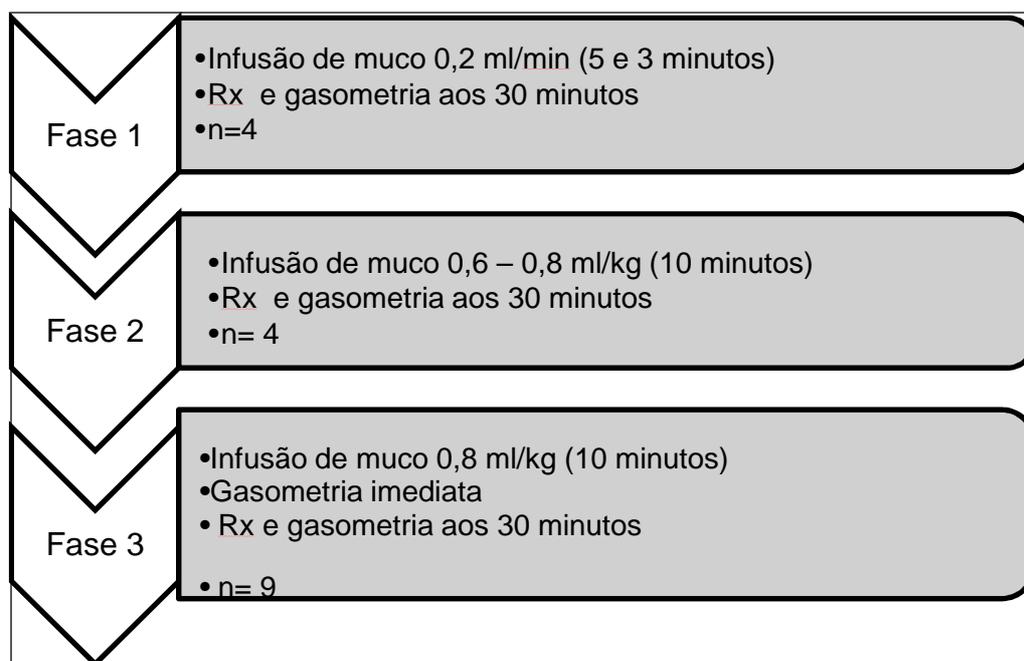


Figura 2 – Representação esquemática das fases do estudo.

Na avaliação radiológica realizada após 30 minutos da infusão de muco artificial foi detectada presença de atelectasia em 10 dos 13 animais que participaram das fases 2 e 3 do estudo. A concordância entre os dois radiologistas pelo teste de Kappa apresentou resultado de 0,80 ($P=0,003$). A tabela 1 mostra o resultado detalhado das avaliações radiológicas e a figura 3 ilustra um exemplo da produção de atelectasia. Com base nos resultados apresentados pelos radiologistas, foi aplicado um escore de atelectasia, hiperinsuflação e desvio do mediastino adaptado de outros autores²² para o uso em animais, apresentado na tabela 2.

Tabela 1. Resultado da avaliações radiológicas

Animal	Radiologista 1	Radiologista 2
1	sem atelectasia	sem atelectasia
2	lobo inferior esquerdo	lobo inferior esquerdo
3	sem atelectasia	sem atelectasia
4	lobo inferior esquerdo lobo inferior direito lobo médio	lobo inferior esquerdo lobo inferior direito lobo médio
5	lobo inferior direito lobo médio	lobo inferior direito lobo médio
6	lobo médio lobo superior direito	lobo médio lobo superior direito
7	atelectasia completa a direita	atelectasia completa a direita
8	lobo médio	lobo médio
9	lobo superior direito	lobo superior direito
10	sem atelectasia	sem atelectasia
11	lobo superior direito	sem atelectasia
12	lobo médio	lobo médio
13	lobo médio lobo inferior direito	lobo inferior direito

Resultado das avaliações independentes de dois radiologistas não envolvidos no estudo. Para efeito de concordância a presença de atelectasia = 1 ausência = 0. Teste de Kappa 0.80 $P= 0,003$.

Tabela 2 – Escore para atelectasia, hiperinsuflação e desvio do mediastino.

	ATELECTASIA	HIPERINSUFLAÇÃO	DESVIO DO MEDIASTINO	TOTAL
P1	0	0	0	0
P2	1	0	1	2
P3	0	0	0	0
P4	1	0	0	1
P5	3	1	1	5
P6	1	1	1	3
P7	6	1	1	8
P8	3	0	1	4
P9	1	0	0	1
P10	0	1	0	1
P11	1	1	0	2
P12	1	0	1	2
P13	1	0	1	2

Presença de atelectasia: parcial = 1, total = 2 (cada lobo); Hiperinsuflação: ausência = 1, presença = 1; Desvio do mediastino: ausência = 0, presença = 1.

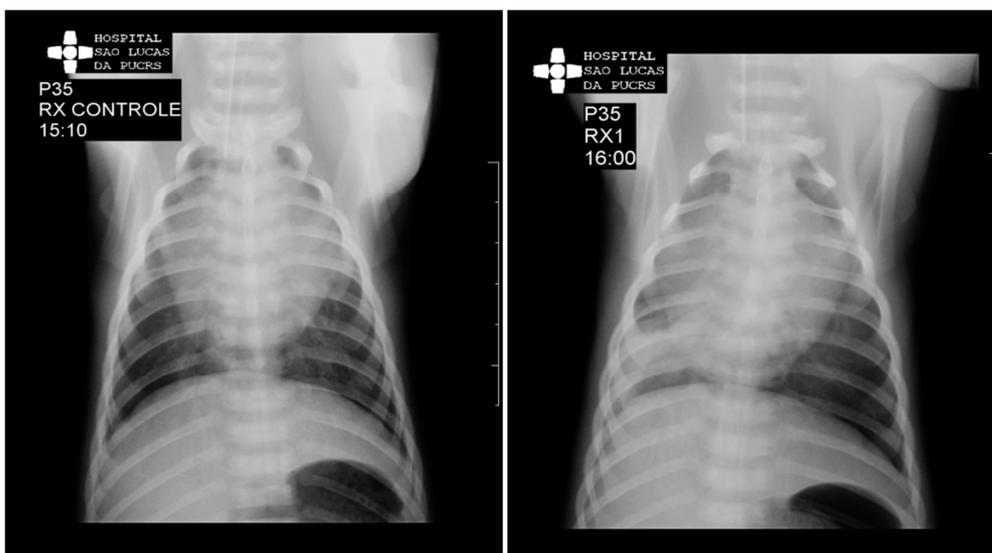


Figura 3. Exemplo da produção de atelectasia. Rx de um porco recém-nascido, antes (esquerda) e após (direita) a infusão de muco artificial.

Para efeito de análise estatística, os animais que apresentaram atelectasia ao Rx são apresentados aqui como grupo 1 (G1) e os animais que não apresentaram atelectasia como grupo 2 (G2). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação à quantidade total de muco infundido ($P=0,76$) ou quantidade de muco por quilo de peso do animal ($P=0,34$). A variação da PaO_2 nos momentos pré e 30 minutos após a infusão de muco artificial difere estatisticamente entre G1 e G2 ($P= 0,043$). Os resultados das

gasometrias arteriais em todos os animais nas fases 2 e 3 do estudo são mostrados na tabela 3. O comportamento da PaO_2 nos momentos pré e 30 minutos após a infusão de muco artificial difere entre os grupos G1($P=0,051$) e G2 ($P=0,47$) e os resultados estão representados na figura 4.

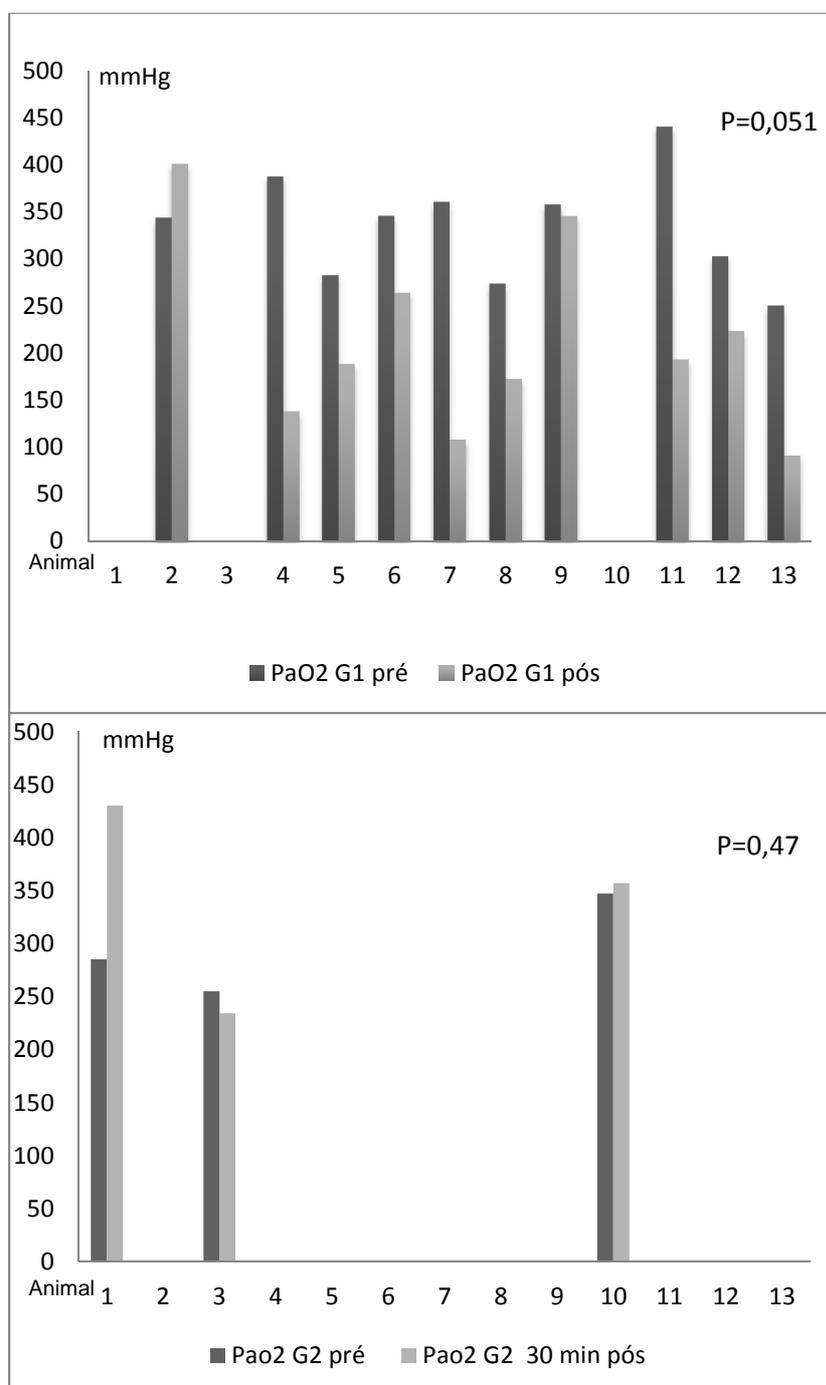


Figura 4. Comportamento da PaO_2 (mmHg) nos porcos recém-nascidos, em cada grupo, nos momentos pré e 30 minutos após a infusão de muco artificial. Teste t de *Student* para amostras pareadas (G1:N=9; $P=0,051$ e G2:N=3; $P=0,47$).

Tabela 3 – Gasometrias arteriais dos animais antes e após a infusão de muco artificial.

Animal		Antes	Imediatamente após	30 minutos após
1	PaO ₂	285	-	430
	PaCO ₂	21	-	19
	pH	7.59	-	7.64
2	PaO ₂	344	-	401
	PaCO ₂	25	-	27
	pH	7.62	-	7.62
3	PaO ₂	254	-	234
	PaCO ₂	21	-	23
	pH	7.66	-	7.65
4	PaO ₂	387	-	138
	PaCO ₂	21	-	27
	pH	7.74	-	7.58
5	PaO ₂	282	141	188
	PaCO ₂	33	33	32
	pH	7.43	7.30	7.30
6	PaO ₂	346	221	264
	PaCO ₂	23	28	24
	pH	7.66	7.57	7.65
7	PaO ₂	360	58	108
	PaCO ₂	31	45	41
	pH	7.46	7.32	7.39
8	PaO ₂	273	257	172
	PaCO ₂	19	24	40
	pH	7.49	7.36	7.24
9	PaO ₂	357	150	345
	PaCO ₂	12	8	14
	pH	7.62	7.62	7.67
10	PaO ₂	347	373	369
	PaCO ₂	10	30	20
	pH	7.67	7.49	7.58
11	PaO ₂	440	338	193
	PaCO ₂	17	14	10
	pH	7.57	7.64	7.67
12	PaO ₂	302	125	223
	PaCO ₂	15	15	15
	pH	7.59	7.60	7.58
13	PaO ₂	250	55	188
	PaCO ₂	21	30	18
	pH	7.55	7.43	7.59

PaO₂ e PaCO₂ em mmHg.

Na avaliação macroscópica foram evidenciadas áreas de atelectasia, caracterizadas por áreas de aspecto avermelhado e compactação do parênquima pulmonar, em todos os pulmões dos animais submetidos à infusão de muco artificial, independentemente do resultado do Rx, mas não nos animais submetidos apenas à ventilação mecânica. Por outro lado, na avaliação histopatológica qualitativa, todos os animais, incluindo aqueles que não receberam muco artificial e foram ventilados por 5 horas, apresentaram áreas de hipo-expansão evidentes nas regiões basais dos pulmões, com redução do espaço alveolar e presença de neutrófilos e polimorfonucleares. Já em relação aos septos inter alveolares, os animais submetidos apenas à ventilação mecânica mantiveram a conformação esperada, enquanto os animais que receberam muco artificial apresentaram deformidades na apresentação dos septos, com perda das características habituais. As figuras 5 e 6 apresentam exemplos de imagens histológicas realizadas durante o estudo.

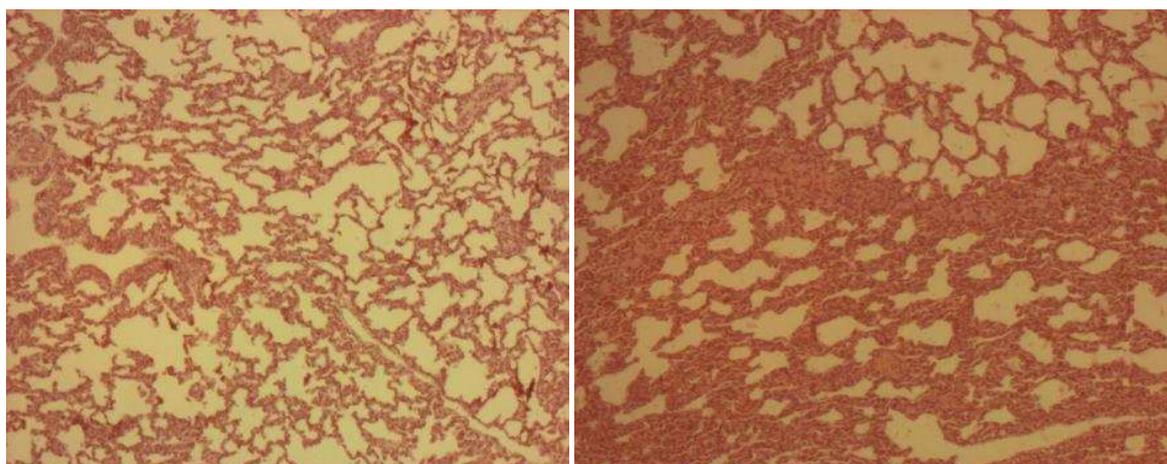


Figura 5. Exemplo de imagem histológica. Cortes histológicos de amostras representativas dos lobos inferiores de dois animais submetidos a: ventilação mecânica (esquerda) e ventilação mecânica e infusão de mucoartificial (direita). Aumento 50X.

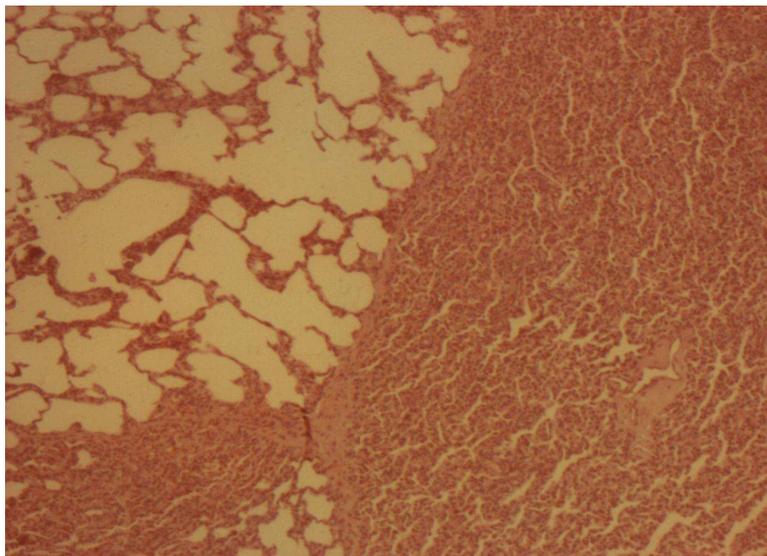


Figura 6. Exemplo de imagem histológica após infusão de muco. Cortes histológicos de amostras representativas do lobo inferior direito de um porco recém-nascido após a infusão de muco artificial. Aumento 50X.

Discussão

Neste trabalho é apresentado o desenvolvimento de um modelo de atelectasia por obstrução brônquica em porcos recém-nascidos, para que este possa servir como base para futuros estudos das técnicas de fisioterapia respiratória neonatal. O modelo mostrou consistência de resultados entre os parâmetros de oxigenação e a análise radiológica. A produção de atelectasia foi realizada com sucesso em mais do que 70% dos casos durante o desenvolvimento do modelo, chegando a superar 90 % das tentativas na fase final do estudo.

O modelo animal escolhido está em acordo com recomendações para estudos sobre transportabilidade de muco utilizando modelos animais, segundo as quais, o peso corporal do animal deve aproximar-se o máximo possível do modelo humano de interesse ao investigador.^{24,25} Esta afirmação deve-se ao fato de que o diâmetro da traquéia é um dos fatores que exerce maior influência sobre a transportabilidade do muco traqueobrônquico. Considerando que, em mamíferos, o diâmetro da traquéia pode ser calculado sabendo-se o peso do indivíduo,²⁴ sendo o diâmetro da traquéia igual ao peso corporal ^{0.39}, é correto afirmar que um modelo animal cujo objetivo seja avaliar a higiene brônquica em recém-nascidos humanos sob ventilação mecânica deve utilizar animais cujo peso corporal seja

aproximadamente de 1500g a 2000g, como é o caso dos porcos recém-nascidos. Deve-se considerar ainda que os parâmetros fisiológicos dos porcos recém-nascidos, sobretudo frequência respiratória e frequência cardíaca, encontram-se na mesma faixa de normalidade dos parâmetros fisiológicos dos recém-nascidos humanos, o que reforça a escolha destes animais como modelo experimental.

Várias formas de muco artificial têm sido utilizadas para estudar a transportabilidade de muco em animais^{6,17,18} e suas propriedades reológicas comparadas com o muco humano, encontrando semelhanças que justificam sua aplicação.¹⁸ Porém, as diferentes composições químicas e a diversidade de formas de mensuração das propriedades reológicas impedem uma comparação mais acurada entre o muco artificial preparado neste estudo e outros descritos na literatura. Ainda assim, é possível inferir alguma semelhança com o muco humano, quando considerada a relação entre viscosidade e elasticidade. Uma baixa relação viscosidade/elasticidade em baixas frequências de medida caracteriza um muco mais elástico, que favorece a higiene através do movimento ciliar, ou seja, o muco mucóide.¹⁸ O muco artificial produzido neste estudo apresenta baixa relação viscosidade/elasticidade quando medido em baixa frequência, o que é adequado ao objetivo de estudar técnicas de higiene brônquica em recém-nascidos sob ventilação mecânica, cujo acúmulo de secreções se deve, sobretudo, ao suporte ventilatório. Devemos considerar, no entanto, a necessidade de realizar novos estudos, a fim de confirmar ou ajustar a produção do modelo de muco artificial utilizado neste estudo, devido à escassez de dados analisados até o momento. Em futuros estudos, a utilização de marcadores radiopacos inseridos nas vias aéreas do animal avaliado¹² podem dirimir as dúvidas em relação à transportabilidade do modelo de muco aqui utilizado.

O protocolo utilizado em nosso estudo teve como proposta a produção de um modelo agudo de atelectasia, localizada no pulmão direito, com confirmação radiológica. Embora tenha sido demonstrada uma forte associação entre a queda da PaO₂ e a análise radiológica, esta última permanece como parâmetro de escolha para o diagnóstico da atelectasia. Outros autores,⁶ utilizando a gasometria arterial como critério de atelectasia,

com posterior confirmação através de análise anátomo patológica, encontraram resultados diferentes, tanto na alteração da oxigenação quanto na localização da região pulmonar atelectasiada. Essas diferenças podem ser explicadas, primeiramente, pelas características do muco artificial produzido em cada estudo e também pela posição do animal no protocolo de infusão utilizado. Outro estudo,³ avaliando técnicas de fisioterapia respiratória em cães previamente hígidos, encontrou achados característicos de atelectasia na avaliação histológica, mais proeminente nas regiões pulmonares em que foram aplicadas as técnicas fisioterapêuticas, porém esses achados não foram analisados de forma quantitativa. Ainda assim, a avaliação gasométrica mostrou incremento da PaO₂ com redução da PaCO₂ durante da fisioterapia. Em um estudo utilizando ratos Wistar,⁹ os autores avaliaram a presença de atelectasia através de análise histopatológica morfométrica, como forma de mensurar a quantidade de alvéolos colapsados em cada grupo, não encontrando diferença entre os grupos em que foi aplicada a simulação de uma técnica fisioterapêutica e o grupo que foi submetido somente à atelectasia. Porém não foi realizada avaliação gasométrica nesse estudo. Adicionalmente, nenhum desses estudos utilizou exame de imagem, de forma que não é possível mensurar a dimensão clínica da atelectasia observada em cada caso.

Em nosso estudo, utilizando modelo de infusão de muco artificial nas vias aéreas, com o animal posicionado em decúbito lateral direito, foi possível direcionar a atelectasia para o pulmão direito em oito dos dez animais que apresentaram atelectasia ao Rx. Na avaliação histopatológica qualitativa, encontramos áreas colapsadas nas bases pulmonares tanto nas amostras retiradas de animais que foram submetidos à ventilação mecânica, sem infusão de muco artificial, quanto nos animais em que foi produzida atelectasia. Estes resultados contribuem para o questionamento do impacto da ventilação mecânica sobre os modelos utilizados e apontam para a necessidade da criação de protocolos de estudo que contemplem a avaliação gasométrica, radiológica e histopatológica durante o estudo das técnicas de fisioterapia respiratória.

Algumas limitações devem ser consideradas nesse estudo. A primeira se refere ao uso de FiO_2 a 1,0. Embora os efeitos da hiperóxia sobre o tecido pulmonar sejam bem descritos na literatura,²⁶ as condições técnicas disponíveis durante a realização desse estudo não nos permitiram utilizar frações de oxigênio mais baixas. Da mesma forma, o infusão, mesmo intermitente de NaCl a 0,9%, ao invés do uso de Ringer Lactato, pode ter influenciado negativamente o resultado das gasometrias arteriais e até mesmo contribuído para o surgimento de reações inflamatórias nos tecidos pulmonares.²⁷ Por fim, a realização de imagens radiológicas apenas na incidência ântero-posterior acabaram por limitar as avaliações, principalmente em relação à confirmação de atelectasias no lobo médio.²⁸

Considerando que este trabalho se propôs ao desenvolvimento de um modelo de atelectasia em porcos recém-nascidos para o estudo de procedimentos de fisioterapia respiratória, e o caráter inovador deste modelo, não seria adequado inferir conclusões definitivas. Ainda assim, devido à consistência dos resultados, acreditamos que o modelo apresentado é viável e adequado ao objetivo proposto, podendo servir de base para novos estudos nessa linha de pesquisa, bem como outros estudos utilizando modelos animais em fisioterapia respiratória.

REFERÊNCIAS:

- 1.Flenady V, Gray P. Chest physiotherapy for preventing morbidity in babies being extubated from mechanical ventilation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002(2):CD000283.
- 2.Hough J, Flenady V, Johnston L, Woodgate P. Chest physiotherapy for reducing respiratory morbidity in infants requiring ventilatory support. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008(3):CD006445.
- 3.Zidulka A, Chrome J, Wight D, Burnett S, Bonnier L, Fraser R. Clapping or percussion causes atelectasis in dogs and influences gas exchange. *J Appl Physiol*. 1989;66(6):2833-8.
- 4.Anning L, Paratz J, Wong WP, Wilson K. Effect of manual hyperinflation on haemodynamics in an animal model. *Physiother Res Int*. 2003;8(3):155-63.
- 5.Wong W, Paratz J, Wilson K, Burns Y. Hemodynamic and ventilatory effects of manual respiratory physiotherapy techniques of chest clapping, vibration, and shaking in an Animal model. *J Appl Physiol*. 2003;95(3):991-8.
- 6.Unoki T, Mizutani T, Toyooka H. Effects of expiratory rib cage compression and/or prone position on oxygenation and ventilation in mechanically ventilated rabbits with induced atelectasis. *Respir Care*. 2003;48(8):754-62.
- 7.Unoki T, Mizutani T, Toyooka H. Effects of expiratory rib cage compression combined with endotracheal suctioning on gas exchange in mechanically ventilated rabbits with induced atelectasis. *Respir Care*. 2004;49(8):896-901.
- 8.Zhang E, Hiroma T, Sahashi T, Taki A, Yoda T, Nakamura T. Airway lavage with exogenous surfactant in an animal model of meconium aspiration syndrome. *Pediatr Int*. 2005;47(3):237-41.
- 9.Lima J, Reis L, Moura F, Souza C, Walchan E, Bergmann A. Compressão Manual Torácica em um modelo experimental de atelectasia em ratos Wistar. *Fisioterapia em Movimento*. 2008;21(3):77-82.
- 10.Marumo C. Efeitos cardiovasculares das manobras de recrutamento alveolar durante lesão pulmonar aguda por ácido clorídrico: estudo experimental em suínos. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2007.
- 11.Luna CM, Baquero S, Gando S, Patrón JR, Morato JG, Sibila O, et al. Experimental Severe Pseudomonas Aeruginosa pneumonia and antibiotic therapy in piglets receiving mechanical ventilation. *Chest*. 2007;132(2):523-31.
- 12.Luna CM, Sibila O, Agusti C, Torres A. Animal models of ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J*. 2009;33(1):182-8.
- 13.Wiswell TE, Peabody SS, Davis JM, Slayter MV, Bent RC, Merritt TA. Surfactant therapy and high-frequency jet ventilation in the management of a piglet model of the meconium aspiration syndrome. *Pediatr Res*. 1994;36(4):494-500.
- 14.Colvero M, Fiori H, Luz J, Fiori R. Bronchoalveolar lavage plus surfactant in piglet model of meconium aspiration syndrome. *Neonatology*. 2008;93:188-92.

15. Dargaville PA, Mills JF, Headley BM, Chan Y, Coleman L, Loughnan PM, et al. Therapeutic lung lavage in the piglet model of meconium aspiration syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168(4):456-63.
16. Jeng MJ, Soong WJ, Lee YS, Chang HL, Shen CM, Wang CH, et al. Effects of therapeutic bronchoalveolar lavage and partial liquid ventilation on meconium-aspirated newborn piglets. *Crit Care Med.* 2006;34(4):1099-105.
17. Kim C, Abraham W, Chapman C, Sackner M. Influence of Two-Phase Gas-liquid Interaction on Aerosol Deposition in Airways. *Am Rev Respir Dis.* 1985;131(4):618-23.
18. Puchelle E, Zahm JM, Duvivier C, Didelon J, Jacquot J, Quemada D. Elasto-thixotropic properties of bronchial mucus and polymer analogs. I. Experimental results. *Biorheology.* 1985;22(5):415-23.
19. Ferreira R, Chiquieri J, Mendonça P, Melo T, Cordeiro M, Soares R. Comportamento e parâmetros fisiológicos de leitões nas primeiras 24 horas de vida. *Cienc Agrotec Lavras.* 2007;31(6):1845-9.
20. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.* Washington 1996.
21. Brasil. Lei 11.794/08 Procedimentos para o Uso Científico de Animais. *Diário Oficial da União;* 2008.
22. Hendriks T, de Hoog M, Lequin MH, Devos AS, Merkus PJFM. DNase and atelectasis in non-cystic fibrosis pediatric patients. *Crit Care.* 2005, 9: R351-R356.
23. Tessler R, Wu S, Fiori R, KM M, J B. Sildenafil Acutely Reverses the Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction Response of the Newborn Pig. *Pediatric Research.* 2008;64(3):251-5.
24. Tomkiewicz R, Albers G, De Sanctis G, Ramirez O, King M, Rubin B. Species differences in the physical and transport properties of airway secretions. *Can J Physiol Pharmacol.* 1994:165-71.
25. Felicetti SA, Wolff RK, Muggenburg BA. Comparison of tracheal mucous transport in rats, guinea pigs, rabbits, and dogs. *J Appl Physiol.* 1981;51(6):1612-7.
26. Davis JM, Dickerson B, Metlay L, Penney DP. Differential effects of oxygen and barotrauma on lung injury in the neonatal piglet. *Pediatr Pulmonol.* 1991;10(3):157-163.
27. Neta JH, Trapp SM, Sturion SJ. Considerações fisiológicas na fluidoterapia em cães e gatos. *Arq Ciên Vet Zool UNIPAR.* 2005; 8(1):63-70.
28. Müller NL, Silva CIS. *Imaging of the Chest.* Philadelphia. Saunders Elsevier. 2008. 1608pg.

CAPÍTULO IV
CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

O modelo de atelectasia por obstrução brônquica foi produzido com sucesso em porcos recém-nascidos.

Os resultados do modelo experimental proposto podem servir como base para estudos sobre técnicas de fisioterapia respiratória em recém-nascidos.

Novos estudos sobre técnicas de fisioterapia respiratória em recém-nascidos utilizando o modelo experimental proposto devem considerar a avaliação da transportabilidade do muco artificial utilizado.

ANEXO A
ESTUDO PILOTO

The use of piglets as experimental model of chest physiotherapy in newborn babies

O uso de suínos como modelo experimental de fisioterapia respiratória em recém-nascidos

Talitha Comaru¹, Renato Machado Fiori², Humberto Holmer Fiori³

¹ Physiotherapist, Professor of Pediatrics at the Federal University of Santa Maria - UFSM. PhD student in Pediatrics and Child Health at the Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS, Brazil.

² Physician, Doctor of Science, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Professor and coordinator of the Neonatology Service at the Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS, Brazil.

³ Physician, Doctor of Pediatrics and Child Health, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS. Professor at the Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS, Brazil.

ABSTRACT

Aims: The purpose of the present study was to investigate the viability of the use of piglets as experimental model of newborn chest physiotherapy.

Methods: Five piglets (1-2 days old) were studied. The animals received anesthesia and analgesia and were ventilated with positive pressure, on 100% oxygen. All piglets received chest physiotherapy protocol of manual vibration.

Results: All five animals presented stable physiological parameters during the preparation phase and the physiotherapy protocol application.

Conclusions: We conclude that piglets are a viable model for studies of chest physiotherapy in mechanically ventilated newborns.

KEY WORDS: MODELS, ANIMAL; VENTILATION, MECHANICAL; RESPIRATORY THERAPY; INFANT, NEWBORN.

RESUMO

Objetivos: o objetivo do presente estudo foi investigar a viabilidade do uso de suínos como modelo experimental de fisioterapia respiratória em recém-nascidos.

Métodos: foram estudados cinco suínos recém-nascidos (1-2 dias de idade). Os animais receberam anestesia e analgesia e foram ventilados com pressão positiva, com oxigênio a 100%. Todos os animais receberam o protocolo de fisioterapia respiratória de vibração manual.

Resultados: todos os cinco animais apresentaram estabilidade dos parâmetros fisiológicos durante a fase de preparação e aplicação do protocolo de fisioterapia.

Conclusões: concluímos que os suínos representam um modelo viável para estudos de fisioterapia respiratória em recém-nascidos em ventilação mecânica.

DESCRIPTORIOS: MODELOS ANIMAIS; VENTILAÇÃO MECÂNICA; TERAPIA RESPIRATÓRIA; RECÉM-NASCIDO.

INTRODUCTION

Chest physiotherapy has been used in many neonatal nurseries around the world to improve airway clearance and treat lung collapse in newborns who needed mechanical ventilation. However, the evidence

to support its use has been conflicting. Despite the large number of studies, there is very little evidence of sufficiently good quality on which to base current practice. Additionally, there are concerns about the safety of some forms of chest physiotherapy in newborn infants.^{1,2} On that basis, we hypothesized about the use of piglets as a valid experimental model to investigate chest physical therapy for newborns in neonatal intensive care units. The purpose of the present study was to investigate the viability of the use of piglets as an experimental model of newborn chest physiotherapy.

Endereço para correspondência/Corresponding Author:

TALITHA COMARU
Rua Dalro Filho, 159-101
CEP 97015-280, Santa Maria, RS, Brazil
Telefone: 55(55)3307-4864
E-mail: talithacomaru@hotmail.com

METHODS

Preparation of animals and measures

Five newborn pigs (1-2 days old) were studied. The piglets were positioned in supine and maintained warm with the use of a heating blanket. General anesthesia was induced and the animals received analgesia.³ After analgesia and anesthesia, a tracheostomy was performed and a cuffed endotracheal tube was inserted. After obtaining access to airway, the piglets were paralyzed with pancuronium and ventilated with timed cycled, pressure limited mechanical ventilation (Bourns BP 200, SOMA Technology Inc. Bloomfield, USA). In order to verify the tolerance of the animals during chest physiotherapy, heart rate and oxygen saturation were continuously measured by pulse oximetry (Omhedra, PA, USA).^{4,5}

Experimental protocol of chest physiotherapy

The study protocol consists of positioning with the head elevated 30°, associated with the use of cushions placed on the back of the animal to help maintain the position. The animals were positioned at right lateral position followed by the left lateral position, or vice versa. After positioning, a manual vibration associated with a mild and intermittent compression of the chest wall at the end of expiration on the same amplitude done during mechanical ventilation was applied. To perform this technique, the physiotherapist placed one cupped hand over the rib cage of the animal while was produced a vibration in the upper limb through the simultaneous isometric contraction of the muscles of the forearm of physiotherapist. Moving the hand down, the physiotherapist produced a slight compression on the chest wall. This technique was applied at a frequency of 40 repetitions per minute for about ten minutes in each position, right side or left side.

Ethics

This study was approved by the Ethics Committee on Animal Studies of Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. All procedures were conducted according to criteria established by the ethics committee and the animals received analgesia and anesthesia during all the time of the study. At the end of the study, animals were given euthanasia with an overdose of thiopental or sodium chloride.

RESULTS AND CONCLUSION

All five animals presented stable physiological parameters during the preparation phase and physiotherapy. There was no statistically significant

difference between the values of heart rate ($p=0,14$) and oxygen saturation ($p=0,20$) before and after the chest physiotherapy protocol application. The mean of heart rate and oxygen saturation persisted all the time (Table 1). Only one piglet showed lower both heart rate and oxygen saturation without clinical relevance (piglet nº 3). Considering the short sample size we do not conclude if the low weight of this piglet was responsible for this result. These animals presented a mean weight of 1492 g (range 1250 to 1800 g) at the study entry. At the visual observation, the chest wall movements were similar to intubated human newborn babies during the chest physiotherapy. Although the intensity of manual vibration was not measured due to technical limitations at the time of this study, in the researcher opinion, the manual vibration used in the piglet model is comparable to the manual vibration applied in the chest of the intubated human newborns in clinical practice. This brief communication points to a favorable experience with newborn piglets as an experimental model, and we conclude that all procedures used in this model are tolerated and reproducible, suggesting that it is a viable model for studies of chest physiotherapy in ventilated newborns.

Table 1. Physiologic parameters and weight of animal models.

Animal	Weight (g)	Preparation		Chest physiotherapy	
		Heart Rate	O ² Sat (%)	Heart Rate	O ² Sat (%)
1	1560	145	99,5	146	99,5
2	1400	142	99	142	99
3	1250	129	94	132	92,5
4	1800	149	98	149	99
5	1450	141	99	142	98

O² Sat: oxygen saturation.

REFERENCES

1. Flenady V, Gray PH. Chest physiotherapy for preventing morbidity in babies being extubated from mechanical ventilation. Cochrane Database of Systematic Reviews. In: The Cochrane Library, Issue 1, Art. No. CD000283. DOI: 10.1002/14651858. CD000283.pub1.
2. Comaru T, Silva EB. Segurança e eficácia da fisioterapia respiratória em recém-nascidos: uma revisão de literatura. [Chest physiotherapy in newborn: a review] *Fisioter Pesqui.* 2007;14:91-7.
3. Frisk CS, Herman MD, Senta KE. Guinea pig anesthesia using various combinations and concentrations of Ketamine, Xylazine, and/or Acepromazine. *Lab Anim Sci.* 1982;32: 434.
4. Tessler R, Wu S, Fiori RM, et al. Sildenafil acutely reverses the hypoxic pulmonary vasoconstriction response of the newborn pig. *Pediatr Res.* 2008;64:251-5.
5. Colvero MO, Fiori HH, Luz JH, et al. Bronchoalveolar lavage plus surfactant in a piglet model of meconium aspiration syndrome. *Neonatology.* 2008;93:188-92.