

Norimar Hernandez Dias

**Papel protetor da laringe e da traquéia proximal na
prevenção de lesões epiteliais causadas pela inalação de
gases pouco condicionados. Estudo experimental em cães.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bases Gerais da
Cirurgia da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, para a
obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Profa. Livre-Docente Regina Helena Garcia Martins

Botucatu – SP

2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP

Bibliotecária responsável: Selma Maria de Jesus

Dias, Norimar Hernandes.

Papel protetor da laringe e da traquéia proximal na prevenção de lesões epiteliais causadas pela inalação de gases pouco condicionados. Estudo experimental em cães / Norimar Hernandes Dias. – Botucatu : [s.n.], 2008.

Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina de Botucatu,
Universidade Estadual Paulista, 2008.

Orientadora: Regina Helena Garcia Martins
Assunto CAPES: 40102009

1. Ventilação mecânica 2. Respiração artificial 3. Anestesia

CDD 616.028

Palavras chave: Laringe; Máscara laríngea; Morfologia; Traquéia; Tubo traqueal

Salmo 22/23

O senhor é meu pastor, nada me faltará.

Em verdes prados ele me faz repousar.

Conduz-me junto às águas refrescantes, restaura as forças de minha alma.

Pelos caminhos retos ele me leva, por amor do seu nome.

Ainda que eu atravessasse o vale escuro, nada temerei, pois estais comigo.

Vosso bordão e vosso báculo são o meu amparo.

Preparais para mim a mesa à vista de meus inimigos.

Com óleo vós ungis minha cabeça, e o meu cálice transborda.

A vossa bondade e misericórdia hão de seguir-me por todos os dias da minha vida.

E habitarei na casa do Senhor pelos tempos infinitos.

Dedicatória

À minha filha, ***Beatriz***, dádiva de Deus, cujo simples sorriso e olhar carinhoso revigoram diariamente minhas forças para superar os desafios da vida.

À minha esposa, ***Cristiane***, pelo amor, dedicação, estímulo constante e auxílio imensuráveis em mais esta importante etapa de minha vida.

Agradecimento Especial

À minha mãe, ***Clarisse***, por todo amor, dedicação e educação, alicerce das minhas conquistas pessoais e profissionais.

Ao meu pai, ***Noé (in memoriam)***, pela força espiritual e pelo exemplo de vida e amor pela família.

À minha irmã ***Ana Paula e seu marido José Antônio***, e aos meus irmãos, ***Nivaldo e Norivaldo***, que foram fundamentais para a minha formação e crescimento pessoal.

À toda minha ***família***, essência da vida, pela força na superação deste desafio.

À ***Deus***, pela presença constante ao meu lado.

Agradecimento Especial

À ***Professora Regina Helena Garcia Martins***, o meu mais profundo e sincero agradecimento pela orientação e pelos grandiosos ensinamentos ao longo desses anos, e acima de tudo pela amizade e oportunidade de crescimento pessoal a mim proporcionadas.

Agradecimentos

Agradeço a todas as pessoas e instituições que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, em especial:

Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), pela minha formação acadêmica e atualização permanente;

Hospital Estadual Bauru (UNESP), pela oportunidade na concretização de um projeto;

Professor José Reinaldo Cerqueira Braz, do Departamento de Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), pelas inúmeras e valiosas colaborações e pelo enorme incentivo na concretização deste trabalho;

Professores Emanuel Celice Castilho, Jair Cortez Montovani, José Vicente Tagliarini, Onivaldo Bretan, Silke Anna Theresa Weber e Victor Nakajima, do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), pelos ensinamentos e formação profissional desde o início da residência médica;

Ivanira Ayako Tamashiro, Marisa Portes Fioravanti e Daniela Polo, fonoaudiólogas do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), pela amizade e constante atenção a mim dispensada;

Professor Júlio Defáveri, do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), pelo auxílio na realização das análises histológicas;

Professoras Elisa Aparecida Gregório e Daniela Carvalho dos Santos, do Instituto de Biociências do Campus de Botucatu (UNESP), pelo auxílio no estudo de microscopia eletrônica;

Professora Lúdia Raquel de Carvalho, do Departamento de Bioestatística do Instituto de Biociências de Botucatu (UNESP), pela orientação e análise estatística dos resultados;

Departamento de Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), pela permissão de utilização da estrutura do seu laboratório para realização do experimento;

Cristiano Correa de Oliveira e Jurandir Antonio, funcionários do Laboratório Experimental do Departamento de Anestesiologia, pela colaboração na execução do trabalho experimental;

Carlos Alberto Martins e Marta Regina Russo Sarzi, funcionários do Laboratório Experimental do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço, pela colaboração na execução do trabalho experimental;

Marta Regina Russo Sarzi, funcionária do Laboratório Experimental do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço, pelo preparo das lâminas histológicas;

Nivalde Antonio Basso e Maria Helena Moreno, funcionários do Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências do Campus de Botucatu (UNESP), pelo preparo do material de microscopia eletrônica;

Cinthia Scolastico Cecílio, secretária do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), pela atenção e inúmeras colaborações a mim dispensadas;

Nilse Ribeiro da Silva, funcionária do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), pela atenção e colaboração a mim dispensada;

Simone Barroso Corvino Camargo, secretária do Programa de Pós-graduação em Bases Gerais da Cirurgia, pela atenção e colaboração a mim dispensada;

aos funcionários do Departamento de Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), ***Danilo Cláudio de Godoy, Joana Jacirene Costa Teixeira, Neli Aparecida Pavan e Sonia Maria Martins e Silva***, pela atenção e colaboração a mim dispensada;

ao desenhista ***Benedicto Vinicio Aloise***, pela confecção das ilustrações;

aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), pela atenção e colaboração a mim dispensada;

Selma Maria de Jesus, bibliotecária da Seção Técnica de Referência, Atendimento ao Usuário e Documentação do Campus de Botucatu (UNESP), pela confecção da ficha catalográfica e orientação bibliográfica;

Professor Álvaro Oscar Campana, do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP) pela gentileza da correção gramatical.

Sumário

Lista de Figuras	
Lista de Tabelas	
Lista de Abreviaturas e Siglas	
Resumo	
Abstract	
1 INTRODUÇÃO E LITERATURA	1
2 OBJETIVO	8
3 MATERIAL E MÉTODOS	9
3.1 Animais Utilizados	9
3.2 Grupos Experimentais	9
3.3 Seqüência Experimental	11
3.4 Atributos Estudados	13
3.4.1 Atributos para controle do experimento	13
3.4.2 Atributos para atendimento das finalidades do experimento	13
3.5 Momentos Estudados	14
3.6 Técnicas Utilizadas	14
3.6.1 Preparo do animal	14
3.6.2 Medidas dos atributos	17
3.6.3 Estudo morfológico	19
3.7 Análise Estatística	25
4 RESULTADOS	26
4.1 Peso dos Animais	26
4.2 Comprimento dos Animais	27
4.3 Sexo dos Animais	28
4.4 Pressão Arterial Média	29
4.5 Frequência de Pulso	30
4.6 Frequência Respiratória	31
4.7 Volume Corrente	32
4.8 Saturação Periférica da Oxihemoglobina	33
4.9 Pressão Expiratória Final de CO ₂	34
4.10 Pressão Inspiratória	35
4.11 Temperatura Timpânica	36
4.12 Temperatura Ambiente	37
4.13 Umidade Relativa do Ar Ambiente	38
4.14 Umidade Absoluta do Ar Ambiente	39
4.15 Temperatura dos Gases Inalados	40
4.16 Umidade Relativa dos Gases Inalados	41
4.17 Umidade Absoluta dos Gases Inalados	42

4.18 Análise de Microscopia de Luz	43
4.18.1 Infiltração de polimorfonucleares (PMN) no epitélio	45
4.18.2 Infiltração de polimorfonucleares (PMN) no córion	47
4.18.3 Congestão	49
4.19 Análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	51
4.19.1 Escore morfológico da microscopia eletrônica de varredura (MEV)	53
4.20 Análise de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	55
4.20.1 Escore morfológico da microscopia eletrônica de transmissão (MET)	57
5 DISCUSSÃO	59
5.1 Peso, Comprimento e Sexo dos Animais	59
5.2 Pressão Arterial Média e Frequência de Pulso	59
5.3 Frequência Respiratória, Volume Corrente, Saturação Periférica da Oxihemoglobina, Pressão Expiratória Final de CO ₂ e Pressão Inspiratória	61
5.4 Temperatura Timpânica	62
5.5 Temperatura, Umidade Relativa e Umidade Absoluta do Ar Ambiente	63
5.6 Temperatura, Umidade Relativa e Umidade Absoluta dos Gases Inalados	64
5.7 Resultados Morfológicos	65
5.7.1 Microscopia de luz	66
5.7.2 Microscopia eletrônica	70
5.7.2.1 Microscopia eletrônica de varredura	70
5.7.2.2 Microscopia eletrônica de transmissão	72
6 CONCLUSÃO	76
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
8 APÊNDICES	85

Lista de Figuras

Figura 1	Epitélio pseudoestratificado da traquéia do homem. Setas estreitas apontam para células caliciformes e setas largas para as células ciliadas. Em A, microscopia de luz (H&E, 40X). Em B, microscopia eletrônica de transmissão – MET (1.550X).	3
Figura 2	Em A, desenho esquemático da estrutura da membrana basal (Gartner & Hiatt, 2002); em B, setas apontando para a membrana basal da traquéia do homem (MET, 2.750X).	3
Figura 3	Máscara laríngea.	7
Figura 4	A – tubo traqueal nº 8,5 utilizado no grupo TT; B – máscara laríngea nº 4 utilizada no grupo ML.	10
Figura 5	Representação esquemática dos grupos experimentais: A – grupo TT e B – grupo ML, mostrando o posicionamento do tubo traqueal e da máscara laríngea, bem como o segmento livre da via aérea em contato com os gases inalados em ambos os grupos.	11
Figura 6	Foto panorâmica do experimento após término do preparo do animal.	17
Figura 7	Termohigrômetro digital portátil, modelo Higrotermo 95, da Gulon do Brasil.	18
Figura 8	Termohigrômetro acoplado ao ramo inspiratório do sistema de ventilação, para medida da temperatura e da umidade relativa dos gases inalados.	18
Figura 9	Dissecção cervical e mediastinal, obtendo completa exposição e individualização da traquéia cervical e torácica.	20
Figura 10	Bloco laringotraqueal removido, abertura da traquéia pela porção membranosa e áreas de biópsia da mucosa traqueal (TP – traquéia proximal, TM – traquéia média, TD – traquéia distal).	20
Figura 11	Microscópio eletrônico de varredura.	22
Figura 12	Microscópio eletrônico de transmissão.	24
Figura 13	<i>Peso dos animais (kg)</i> . Média e desvio padrão dos valores observados nos grupos estudados ($p>0,05$).	26
Figura 14	<i>Comprimento dos animais (cm)</i> . Média e desvio padrão dos valores observados nos grupos estudados ($p>0,05$).	27
Figura 15	<i>Sexo dos animais</i> . Distribuição das proporções observadas nos grupos estudados ($p>0,05$).	28
Figura 16	<i>Pressão arterial média (mm Hg)</i> . Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).	29
Figura 17	<i>Frequência de pulso (bat.min^{-1})</i> . Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).	30
Figura 18	<i>Frequência respiratória (insp.min^{-1})</i> . Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).	31
Figura 19	<i>Volume corrente (ml.kg^{-1})</i> . Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).	32

Lista de Figuras

Figura 20	<i>Saturação periférica da oxihemoglobina (%)</i> . Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).	33
Figura 21	<i>Pressão expiratória final de CO₂ (mm Hg)</i> . Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).	34
Figura 22	<i>Pressão inspiratória (cm H₂O)</i> . Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados (T ₀ grupo TT < grupo ML, $p<0,05$; no grupo TT: T ₀ < T ₆₀ < T ₁₂₀ < T ₁₈₀ , $p<0,05$).	35
Figura 23	<i>Temperatura timpânica (°C)</i> . Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).	36
Figura 24	<i>Temperatura ambiente (°C)</i> . Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).	37
Figura 25	<i>Umidade relativa do ar ambiente (%)</i> . Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).	38
Figura 26	<i>Umidade absoluta do ar ambiente (mg H₂O.l⁻¹)</i> . Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).	39
Figura 27	<i>Temperatura dos gases inalados (°C)</i> . Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).	40
Figura 28	<i>Umidade relativa dos gases inalados (%)</i> . Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).	41
Figura 29	<i>Umidade absoluta dos gases inalados (mg H₂O.l⁻¹)</i> . Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).	42
Figura 30	Microscopia de luz, epitélio traqueal normal pseudoestratificado cilíndrico ciliado (cão do grupo TT). Em A, detalhe da camada epitelial (ce) e da lâmina própria (lp) (H&E 40X); em B, detalhe das células ciliadas (cc) e das células mucosecretoras (cm) contendo secreção mucosa (H&E 60X); em C e D, detalhe da membrana basal bem delimitada (cabeças de setas), alguns capilares (setas contínuas) e glândulas seromucosas (seta descontínua) presentes na lâmina própria, assim como o tecido conjuntivo (H&E 40X).	44
Figura 31	<i>Escore histológico da infiltração de PMN no epitélio. Box plot</i> dos valores obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados ($p>0,05$).	45
Figura 32	Microscopia de luz, infiltrado de PMN (cabeças de setas) no epitélio (A e B – discreto, cão do grupo ML; C e D – moderado, cão do grupo TT); H&E 40X.	46
Figura 33	<i>Escore histológico da infiltração de PMN no córion. Box plot</i> dos valores obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados ($p>0,05$).	47
Figura 34	Microscopia de luz, infiltrado discreto de PMN na lâmina própria (A e B; H&E 40X, cão do grupo TT); e de moderada intensidade (C e D; H&E 40X e 60X, respectivamente, cão do grupo ML).	48

Lista de Figuras

Figura 35	<i>Escore histológico da congestão. Box plot dos valores obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados ($p>0,05$).</i>	49
Figura 36	Epitélio traqueal: congestão (cabeças de setas) discreta em A (40X), cão do grupo ML; moderada intensidade em B (40X), cão do grupo ML; e intensa em C (40X) e D (60X), cão do grupo TT (Microscopia de luz, H&E).	50
Figura 37	Epitélio traqueal normal, cão do grupo ML. A – visão do epitélio respiratório em menor aumento; B, C, D, E e F – grande quantidade de cílios soltos e orientados recobrando totalmente a superfície mucosa; B e C – detalhe das reentrâncias normais presentes na superfície do epitélio (setas); D – detalhe de uma célula mucosecretora (cm) sem cílios, posicionada entre as células ciliadas, notar a diferença de tamanho entre os seus microvilos e os cílios das células ciliadas; E e F – detalhe da configuração normal dos cílios em maior aumento. MEV (A – 129X; B – 4.055X; C – 5.280X; D – 4.820X; E – 4.630X; F – 6.840X).	52
Figura 38	<i>Escore morfológico da microscopia eletrônica de varredura. Box plot dos valores obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados ($p>0,05$).</i>	53
Figura 39	Epitélio traqueal, cão do grupo TT. A e B – detalhe da desorganização e desorientação dos cílios na superfície epitelial e de gota de muco (setas) com aspecto normal sendo expelida para a superfície epitelial; C e D – cílios aderidos formando pequenos agrupamentos (setas); E e F – detalhe da desorientação ciliar mais intensa, além da formação de agrupamentos (setas). MEV (A – 2.760X; B – 4.825X; C – 3.500X; D – 4.825X; E – 4.440X; F – 3.885X).	54
Figura 40	Epitélio traqueal normal, cão do grupo ML. A – detalhe da camada epitelial (ce), células com núcleos ovóides (nu), posicionados na região basal da mesma, e lâmina própria (lp); B – destaque para as células mucosecretoras (cm) contendo grânulos secretórios na região apical; C – inúmeros cílios soltos e orientados em cortes transversais e longitudinais, implantados nos corpúsculos basais; D – célula mucosecretora abrindo-se no lúmen; E – célula em escova ou <i>brush cells</i> (bc) com microvilos altos ao lado de uma célula ciliada (cc), detalhe da junção tipo desmossomo (seta contínua) entre as células; F – membrana basal delicada e contínua (seta descontínua), lâmina própria com fibras colágenas e elásticas. MET (A – 2.450X; B – 5.750X; C – 17.000X; D – 13.250X; E – 23.000X; F – 17.000X).	56
Figura 41	<i>Escore morfológico da microscopia eletrônica de transmissão. Box plot dos valores obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados (grupo TT > grupo ML, $p<0,05$).</i>	57
Figura 42	Epitélio traqueal, cão do grupo TT. A – desorientação e rarefação ciliar na superfície epitelial; B, C e D – alargamento de junções celulares (setas), núcleo picnótico com cromatina condensada (nu); E e F – detalhe para vacuolização citoplasmática (setas), rarefação e desorganização ciliar. MET (A – 7.750X; B – 3.250X; C – 5.750X; D – 7.750X; E – 9.750X; F – 13.250X).	58

Lista de Tabelas

Tabela 1	Peso dos animais (kg). Média e desvio padrão dos valores observados nos grupos estudados.	26
Tabela 2	Comprimento dos animais (cm). Média e desvio padrão dos valores observados nos grupos estudados.	27
Tabela 3	Sexo dos animais. Distribuição das frequências absolutas (n) e relativas (%) observadas nos grupos estudados.	28
Tabela 4	Pressão arterial média (mm Hg). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.	29
Tabela 5	Frequência de pulso (bat.min-1). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.	30
Tabela 6	Frequência respiratória (insp.min-1). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.	31
Tabela 7	Volume corrente (ml.kg-1). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.	32
Tabela 8	Saturação periférica da oxihemoglobina (%). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.	33
Tabela 9	Pressão expiratória final de CO ₂ (mm Hg). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.	34
Tabela 10	Pressão inspiratória (cm H ₂ O). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.	35
Tabela 11	Temperatura timpânica (oC). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.	36
Tabela 12	Temperatura ambiente (oC). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.	37
Tabela 13	Umidade relativa do ar ambiente (%). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.	38
Tabela 14	Umidade absoluta do ar ambiente (mg H ₂ O.l-1). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.	39
Tabela 15	Temperatura dos gases inalados (oC). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.	40
Tabela 16	Umidade relativa dos gases inalados (%). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.	41
Tabela 17	Umidade absoluta dos gases inalados (mg H ₂ O.l-1). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.	42
Tabela 18	Escore histológico da infiltração de PMN no epitélio. Valores da mediana, 1o e 3o quartis obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados.	45
Tabela 19	<i>Escore histológico da infiltração de PMN no córion.</i> Valores da mediana, 1º e 3º quartis obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados.	47
Tabela 20	<i>Escore histológico da congestão.</i> Valores da mediana, 1º e 3º quartis obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados.	49

Lista de Tabelas

Tabela 21	<i>Escore morfológico da microscopia eletrônica de varredura.</i> Valores da mediana, 1º e 3º quartis obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados.	53
Tabela 22	<i>Escore morfológico da microscopia eletrônica de transmissão.</i> Valores da mediana, 1º e 3º quartis obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados.	57
Tabela 23	Peso, comprimento e sexo dos animais nos grupos TT e ML.	85
Tabela 24	Valores da pressão arterial média (PAM) e da frequência de pulso (FP) obtidos ao longo do tempo nos animais dos grupos TT e ML.	86
Tabela 25	Valores da frequência respiratória (FR), do volume corrente (VC) e da saturação periférica da oxihemoglobina (SpO ₂) obtidos ao longo do tempo nos animais dos grupos TT e ML.	87
Tabela 26	Valores da pressão expiratória final de CO ₂ (P _{ET} CO ₂) e da pressão inspiratória (PI) obtidos ao longo do tempo nos animais dos grupos TT e ML.	88
Tabela 27	Valores da temperatura timpânica e da temperatura ambiente obtidos ao longo do tempo nos animais dos grupos TT e ML.	89
Tabela 28	Valores da umidade relativa (UR) e da umidade absoluta (UA) do ar ambiente obtidos ao longo do tempo nos animais dos grupos TT e ML.	90
Tabela 29	Valores da temperatura dos gases inalados obtidos ao longo do tempo nos animais dos grupos TT e ML.	91
Tabela 30	Valores da umidade relativa (UR) e da umidade absoluta (UA) dos gases inalados obtidos ao longo do tempo nos animais dos grupos TT e ML.	92
Tabela 31	Valores dos escores obtidos com relação à erosão e infiltrado de PMN no epitélio pela microscopia de luz nos animais dos grupos TT e ML.	93
Tabela 32	Valores dos escores obtidos com relação à congestão, hemorragia e infiltrado de PMN na lâmina própria pela microscopia de luz nos animais dos grupos TT e ML.	94
Tabela 33	Valores dos escores obtidos pela microscopia eletrônica de varredura nos três animais de cada grupo.	95
Tabela 34	Valores dos escores obtidos pela microscopia eletrônica de transmissão nos três animais de cada grupo.	95

Lista de Abreviaturas e Siglas

ANOVA	análise de variância
bat.min⁻¹	batimento por minuto
°C	grau Celsius
CO₂	dióxido de carbono
cm	centímetro
cm H₂O	centímetro de água
F	fêmea
FP	frequência de pulso
FR	frequência respiratória
FiO₂	fração inspirada de oxigênio
H&E	hematoxilina-eosina
HME	<i>heat and moisture exchanger</i> ou permutador de calor e umidade
insp.min⁻¹	Inspiração por minuto
kg	quilograma
L.min⁻¹	litro por minuto
M	macho
MEV	microscopia eletrônica de varredura
MET	microscopia eletrônica de transmissão
ML	máscara laríngea
mg H₂O.l⁻¹	miligrama de água por litro
mg.kg⁻¹	miligrama por quilograma
mg.kg⁻¹.h⁻¹	miligrama por quilograma por hora
min	minuto
ml.kg⁻¹	mililitro por quilograma
ml.kg⁻¹.h⁻¹	mililitro por quilograma por hora
mm	milímetro
mm Hg	milímetro de mercúrio
μm	micrômetro
nm	nanômetro
N	frequência absoluta

Lista de Abreviaturas e Siglas

n°	número
O₂	oxigênio
p	nível de significância
PAM	pressão arterial média
PMN	polimorfonucleares neutrófilos
P_{ET}CO₂	pressão expiratória final de dióxido de carbono
PI	pressão inspiratória
SpO₂	saturação periférica da oxihemoglobina
%	porcentagem
TT	tubo traqueal
TP	traquéia proximal
TM	traquéia média
TD	traquéia distal
UA	umidade absoluta
UR	umidade relativa
VC	volume corrente

DIAS, N.H. Papel protetor da laringe e da traquéia proximal na prevenção de lesões epiteliais causadas pela inalação de gases pouco condicionados. Estudo experimental em cães. Botucatu, 2008. 95p. Tese de Doutorado em Cirurgia - Faculdade de Medicina, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Introdução: Durante a inspiração, grande parte da umidade e do calor é incorporada ao ar durante sua passagem pelas fossas nasais e rinofaringe. Entretanto, quando as fossas nasais estão impedidas de participar do condicionamento dos gases como no paciente respirador bucal, traqueotomizado, sob intubação traqueal ou laringectomizado, os demais segmentos das vias aéreas passam a atuar mais ativamente na tarefa do condicionamento. Vários autores têm constatado lesões na mucosa respiratória frente à inalação de gases secos e frios. Estudos experimentais morfológicos do epitélio respiratório demonstraram importantes alterações, como áreas de completa desorganização e agrupamentos dos cílios, além de zonas de devastação. Em pesquisa experimental prévia, foi quantificada e constatada a participação ativa do segmento laringotraqueal no condicionamento dos gases inalados, quando se utiliza a máscara laríngea na manutenção da permeabilidade da via aérea. Entretanto, nesse estudo, a necessidade de monitoramento constante da temperatura e da umidade do ar inalado e traqueal exigia manipulação freqüente da traquéia cervical, o que inviabilizou a realização de estudo morfológico complementar do epitélio respiratório.

Objetivo: analisar, no cão, por meio de estudo morfológico, o papel protetor da laringe e da traquéia proximal na prevenção de lesões epiteliais, causadas pela inalação de gases pouco condicionados.

Material e Métodos: A pesquisa recebeu aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal sob o protocolo de nº 442/04. Doze cães adultos foram submetidos à anestesia venosa com pentobarbital sódico e ventilação mecânica, com alto fluxo de gases frescos, em sistema sem reabsorção de CO₂, durante 3 horas. Os animais foram distribuídos em dois grupos experimentais, dependendo do dispositivo utilizado para a manutenção da via aérea: Grupo

Resumo

TT – tubo traqueal e Grupo ML – máscara laríngea. Foram analisados parâmetros hemodinâmicos (pressão arterial média, frequência de pulso), ventilatórios (frequência respiratória, volume corrente, saturação periférica da oxihemoglobina, $P_{ET}CO_2$, pressão inspiratória), temperatura timpânica, temperatura, umidade relativa e absoluta do ar ambiente e dos gases inalados. Ao término do experimento, os animais foram sacrificados com dose excessiva de anestésico, o segmento laringotraqueobrônquico foi removido, sendo realizadas biópsias nas seguintes áreas pré-determinadas, TP – traquéia proximal; TM – traquéia média; TD – traquéia distal, para estudo sob microscopia de luz e microscopia eletrônica (varredura e transmissão). Os dados morfológicos foram submetidos à análise semiquantitativa por meio de escores.

Resultados: Com relação à análise histológica, observou-se que em algumas áreas houve predomínio de processo inflamatório agudo, havendo infiltrado de PMN no epitélio e congestão na lâmina própria em ambos os grupos, discretamente mais relevantes nos animais do grupo TT, porém sem diferença estatística. As alterações observadas pela microscopia eletrônica varredura foram discretamente mais prevalentes no grupo TT, destacando-se desorganização e agrupamento ciliar. Na microscopia eletrônica de transmissão verificaram-se alterações significantes, com diferença estatística entre os grupos na análise dos escores, como alargamento das junções celulares, desorientação ciliar, vacuolização citoplasmática e modificações nas características do núcleo, mantendo-se em todos os grupos a integridade da membrana basal.

Conclusão: Nos animais ventilados com elevado fluxo de gases frescos e sob baixa umidade absoluta, com a máscara laríngea foram constatadas menores alterações morfológicas, quando comparadas aos ventilados com o tubo traqueal, fato este atribuído, provavelmente, ao papel protetor do segmento laringotraqueal à inalação de gases pouco condicionados.

Palavras-chave: laringe, traquéia, máscara laríngea, tubo traqueal, morfologia.

DIAS, N.H. Protective function of the larynx and proximal trachea in preventing epithelial lesions caused by the inhalation of poor conditioned gases. Experimental study in dogs.

Introduction: during inhalation, moisture and heat is incorporated to the air in its passage through the nose and rhinopharynx. However, when the nose doesn't participate in gas conditioning, such as in mouth-breathing, tracheotomized, intubated or laryngectomized patients, other segments of the airways participate more actively in the conditioning task. Lesions in the respiratory mucosa have been detected due to the inhalation of dry and cold air. Morphologic studies of the respiratory epithelium have shown important alterations, such disorganization, ciliary clusters and devastation. In a previous experimental study, we were verified and quantified the active participation of the laryngotracheal segment in the conditioning of inhaled gases, using laryngeal mask airway for maintaining airway permeability. However the need of constant controlling of the temperature and moisture of the gases required frequent handling of the cervical trachea, and did not permit a complementary morphologic study of the respiratory epithelium.

Objective: to study the protective function of the larynx and proximal trachea in dogs, preventing epithelial lesions caused by the inhalation of poor conditioned gases.

Material and Methods: the study was approved by the ethics committee for animal experimentation under registration number 442/04. Twelve adult dogs were submitted to venous anesthesia with sodium pentobarbital and mechanical ventilation in a system without CO₂ resorption for three hours. The animals were distributed into two experimental groups, depending on the tube used for airway maintenance: Group TT – tracheal tube and Group ML – laryngeal mask airway. Hemodynamic parameters (blood pressure, heart rate), ventilatory parameters (respiratory rate, current volume, peripheral oxyhemoglobin saturation, P_{ET}CO₂, inspiratory pressure), tympanic temperature, temperature, relative and absolute moisture of the ambient and inhaled gases were analyzed. After three hours, the animals were sacrificed

Abstract

with over anesthetic dose. The laryngotracheobronchial segment was removed, and biopsies were carried out on previously determined areas as TP – proximal trachea, TM – medial trachea and TD – distal trachea. The biopsies were analyzed under light and electron microscopy (scanning and transmission). Morphologic data were submitted to semiquantitative analysis by means of scores.

Results: in some areas, the histological analysis showed a predominance of an acute inflammatory process, with PMN infiltrate in the epithelium and congestion in the lamina propria in both groups. Although slightly more relevant for the animals in Group TT, there was no significant difference. The alterations observed by electron microscopy were more prevalent in Group TT, with emphasis for disorganization and ciliary clusters, in scanning electron microscopy, and enlargement of cell junctions, ciliary disorientation, cytoplasmic vacuolization and alteration in nucleus characteristics, in transmission electron microscopy. The integrity of the basal membrane was maintained in all cases.

Conclusion: in the animals ventilated with the laryngeal mask airway, less morphologic alterations were verified when compared to those ventilated by the tracheal tube. This fact may be attributed to the protective function of the laryngotracheal segment during the inhalation of poor conditioned gases.

Key words: larynx, trachea, laryngeal mask airway, tracheal tube, morphology.

1 INTRODUÇÃO E LITERATURA

O ar inalado deve receber adequado aquecimento e umidificação durante sua passagem pelas vias aéreas superiores, para que chegue aos brônquios condicionado, isto é, aquecido à temperatura próxima à corpórea e com 100% de umidade relativa, condições estas consideradas ideais para que as trocas gasosas ocorram normalmente. O condicionamento dos gases inalados se dá por meio da incorporação de calor e de umidade, fornecidos pelo contato do ar com a mucosa das vias aéreas. As fossas nasais participam, ativamente, deste processo, filtrando, aquecendo e umidificando o ar inalado, graças às particularidades anatômicas e histológicas da sua mucosa nasal, também chamada de mucosa pituitária (Widdicombe, 1997). Na parede lateral da cavidade nasal, encontram-se as conchas nasais (inferior, média e superior), as quais aumentam a superfície de contato do ar com a mucosa durante a inspiração, tornando o condicionamento do ar ainda mais eficaz; dessa forma, aproximadamente 75% da umidificação e do aquecimento do ar ocorrem até a rinofaringe. Nos demais segmentos das vias aéreas, como a faringe, laringe, traquéia e brônquios, o condicionamento do ar é completado (MacFadden, 1992).

O epitélio respiratório de cobertura das fossas nasais e da traquéia é do tipo pseudoestratificado cilíndrico ciliado, constituído por seis tipos de células: cilíndricas ciliadas ou colunares (30%), caliciformes ou mucosecretoras (30%), células basais (30%), células em escova ou *brush cells* (3%), células serosas com grânulos apicais (3%), e células do sistema neuroendócrino (4%), atuando na regulação do sistema como um todo. Todas essas células fazem contato com a membrana basal, mas nem todas alcançam o lúmen (Gartner & Hiatt, 2002).

As células ciliadas possuem, em média, 250 cílios em seu ápice, sendo que cada um se insere em seu respectivo corpúsculo basal, estrutura semelhante aos centríolos, localizado

Introdução e Literatura

logo abaixo da membrana celular. Os cílios têm movimentos sincronizados, capazes de deslocar em direção ao trato digestivo, partículas de poluentes e microorganismos aderidos à camada de muco. O citoplasma das células ciliadas é rico em mitocôndrias, posicionadas, principalmente, na porção apical, próximo aos corpúsculos basais.

As células caliciformes possuem pedículo estreito (localizado na região basal) e teca alargada; o núcleo e as organelas ficam concentrados no pedículo inferior (região basal). Essas células produzem glicosaminoglicanos, sulfatos ácidos, glicoproteínas e o mucinogênio (Figura 1). A teca apresenta numerosos grânulos secretórios, de diâmetros variáveis, contendo mucinogênio; a membrana celular apical exibe alguns microvilos curtos, estando estas células entremeadas às demais células epiteliais, garantindo a umidificação permanente de toda a mucosa do trato respiratório.

As células basais são células indiferenciadas, mantendo-se posicionadas sobre a membrana basal. Essas células não alcançam o lúmen e não possuem cílios. São consideradas células fontes, pois podem se diferenciar em células ciliadas ou caliciformes, durante o processo de reposição celular do epitélio respiratório.

As células em escova ou *brush cells* são pequenas células colunares e estreitas, contendo microvilos altos, porém sem cílios. Sua função ainda é pouco conhecida, havendo indícios de que tenham algum papel sensorial. Entretanto, para outros autores, nada mais são do que as próprias células caliciformes que liberaram o mucinogênio de seu citoplasma (Junqueira & Carneiro, 2004).

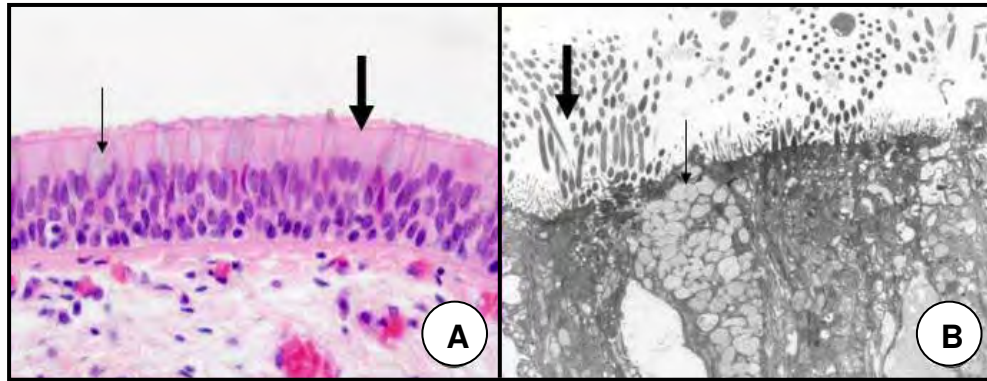


Figura 1. Epitélio pseudoestratificado da traquéia do homem. Setas estreitas apontam para células caliciformes e setas largas para as células ciliadas. Em A, microscopia de luz (H&E, 40X). Em B, microscopia eletrônica de transmissão – MET (1.550X).

As células epiteliais repousam sobre a membrana basal que é uma estrutura laminar especializada, sintetizada pelas células da camada basal e pelos fibroblastos da lâmina própria; tem papel de sustentação, suporte, adesão, filtração (barreira permeável a nutrientes e gases) e controle da organização e regeneração epitelial. Apresenta-se como estrutura delicada e contínua, discretamente sinuosa. É formada por uma lâmina basal, de derivação epitelial, e uma lâmina reticular, derivada do tecido conjuntivo. As células da camada basal aderem-se firmemente à membrana basal por meio de hemidesmossomos (Figura 2). A membrana basal é composta por fibras colágenas, laminina, fibronectina e proteoglicanas. O colágeno dá resistência e elasticidade; a laminina, o proteoglicano e a fibronectina conferem adesão celular e permeabilidade (Gartner & Hiatt, 2002).

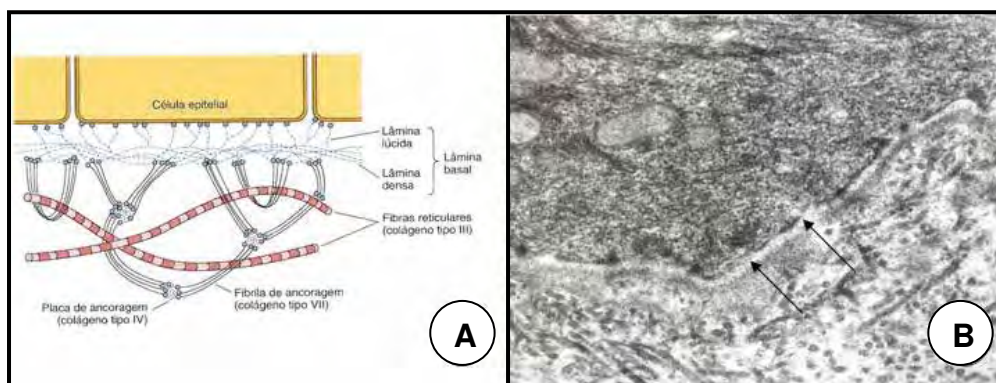


Figura 2. Em A, desenho esquemático da estrutura da membrana basal (Gartner & Hiatt, 2002); em B, setas apontando para a membrana basal da traquéia do homem (MET, 2.750X).

Logo abaixo da membrana basal, dispõe-se a lâmina própria, constituída por tecido conjuntivo frouxo e fibroelástico, elementos linfóides (folicúlos linfóides, linfócitos e neutrófilos), além de glândulas serosas e mucosas cujos ductos abrem-se na superfície epitelial e auxiliam no processo de umidificação. A lâmina própria do epitélio respiratório apresenta também densa rede de fibras elásticas e colágenas (Junqueira & Carneiro, 2004).

Como vimos, a mucosa respiratória é constituída por estruturas bastante elaboradas, que têm como um dos principais papéis, o adequado condicionamento do ar inalado. No entanto, em determinadas situações clínicas, a passagem do ar pelas fossas nasais pode estar prejudicada ou mesmo anulada, temporariamente ou não, como ocorre no paciente respirador bucal, no paciente intubado, no paciente traqueotomizado e no paciente laringectomizado. Nestes casos, são descritas várias morbidades relacionadas ao *déficit* no condicionamento dos gases inalados como rouquidão, congestão de mucosa faríngea e laríngea, ressecamento das secreções, formação de crostas e rolhas, e atelectasia (Chalon *et al.*, 1972; Marfatia *et al.*, 1975; Schiffmann *et al.*, 1997).

Em algumas situações, é possível adicionar, ao menos parcialmente, calor e umidade aos gases inalados, como ocorre durante ventilação mecânica, cujos respiradores são dotados de umidificadores aquecidos, garantindo assim, que o ar inalado chegue aos brônquios em condições mais próximas às ideais, possibilitando que as trocas gasosas ocorram normalmente, e prevenindo efeitos deletérios para o organismo (Jaber *et al.*, 2004; Branson, 2006; Schulze, 2007).

Os efeitos nocivos à mucosa respiratória exposta à inalação de gases pouco condicionados foram temas de várias pesquisas, tanto clínicas como experimentais, sendo descritas lesões epiteliais como diminuição da atividade ciliar, aumento da viscosidade do muco, erosão de mucosa, ulceração, necrose, infiltrado de células inflamatórias na lâmina própria, e até mesmo metaplasia do epitélio traqueal (Martins *et al.*, 1996; Turner & Loan,

2000; Todd *et al.*, 2001a; 2001b). De acordo com Sottiaux (2006), a mucosa respiratória e a função pulmonar podem ser muito prejudicadas em pacientes sob ventilação mecânica, se os gases inalados não forem adequadamente condicionados. Entretanto, a avaliação prática da umidade e aquecimento dos gases pode não ser fácil, principalmente porque não existem parâmetros clínicos capazes de detectar, com exatidão, todos os efeitos do condicionamento inadequado dos gases. Nos pacientes que necessitam de ventilação mecânica por período mais prolongado, o adequado condicionamento dos gases inalados torna-se ainda mais crucial prevenindo a retenção de secreções nas vias aéreas e possibilitando o máximo transporte mucociliar.

Bisinotto *et al.* (1999), em estudo experimental, no qual cães foram submetidos à ventilação mecânica e expostos à inalação de gases sob condições precárias de calor e umidade, constataram, por meio de análises de microscopia eletrônica das peças de biópsia traqueal, áreas de completa desorganização e agrupamento ciliar e áreas de devastação ciliar.

Visando a obtenção de condições mais satisfatórias dos gases inalados, umidificadores aquecidos e permutadores de calor e umidade (HME), também chamados de narinas artificiais, têm sido utilizados acoplados aos sistemas de ventilação (Branson *et al.*, 1992). Os HMEs atuam recuperando parte do calor e da umidade perdidos no ar expirado, sendo incorporados ao ar inalado a cada ciclo inspiratório. A umidificação é garantida a partir da condensação de vapor d'água no dispositivo durante a expiração; por outro lado, a preservação do calor ocorre porque os HMEs são constituídos por materiais com capacidade de conservação da energia térmica (Nakagawa *et al.*, 2000). Os permutadores de calor e umidade têm sido adaptados também no orifício do traqueostoma de indivíduos submetidos à laringectomia total, demonstrando resultados satisfatórios (Eckerbom *et al.*, 1991; Bisinotto *et al.*, 1999; Ackerstaff *et al.*, 2003; Keck *et al.*, 2005).

Procurando-se preservar ao máximo a integridade da mucosa das vias aéreas e ao mesmo tempo assegurar boa permeabilidade ao fluxo inspiratório dos gases, Archie Brain (1983) desenvolveu um novo protótipo de cânula, denominado de máscara laríngea (ML) (Figura 3), a qual, quando inserida, posiciona-se na hipofaringe e não toca a glote nem a traquéia cervical. Alguns autores têm destacado as vantagens da máscara laríngea em relação ao tubo traqueal, como (Hollande *et al.*, 1993; Reinhart, 1993; Brimacombe & Berry, 1993; Joshi *et al.*, 1994; Brimacombe, 1995; Dhillon, 1996; Rieger *et al.*, 1997; Martins *et al.*, 2000; Dahaba *et al.*, 2006):

- ausência de contato com a traquéia,
- inserção fácil e rápida,
- não necessidade de laringoscopia direta para sua inserção, tendo conseqüentemente menor estimulação do paciente, menor necessidade de anestésicos durante a fase de indução e menores alterações hemodinâmicas,
- menor incidência de laringoespasma, tosse, odinofagia, disfonia e disfagia,
- rápido acesso às vias aéreas em pacientes com intubação difícil ou mesmo em circunstâncias de socorro emergencial, antes de chegar no hospital.

Pelos benefícios apresentados, a máscara laríngea passou a ser cada vez mais utilizada em cirurgias de profissionais da voz (como cantores, jornalistas, professores, etc) e em procedimentos rápidos e de emergência. Além disso, desde sua introdução na prática clínica, tem sido uma interessante opção aos anestesiológicos e demais especialistas que manipulam as vias aéreas, como broncoscopistas. Mais recentemente, o surgimento de novos modelos tem proporcionado vantagens adicionais em determinadas situações clínicas e procedimentos hospitalares ou mesmo ambulatoriais.



Figura 3. Máscara laríngea.

A posição mais elevada da máscara laríngea permite que maior extensão das vias aéreas fique livre do contato com a cânula. Assim, o segmento laringotraqueal, sem a presença da cânula, pode fornecer aos gases inalados, algum grau de umidade e de aquecimento, visto que, parte do condicionamento também ocorre nas vias aéreas mais baixas, não sendo restrito ao interior das fossas nasais (MacFadden, 1992). Em pesquisa experimental prévia, foi demonstrado, quantitativamente, a real participação desse segmento da via aérea no processo de condicionamento do ar, sendo registrados valores, significativamente, mais elevados de umidade absoluta dos gases inalados na traquéia dos animais que haviam sido ventilados com máscara laríngea ($23 \text{ mg H}_2\text{O.l}^{-1}$), quando comparados aos ventilados com tubo traqueal ($14 \text{ mg H}_2\text{O.l}^{-1}$) (Dias *et al.*, 2005). Entretanto, nesse estudo, a necessidade de monitoramento constante da temperatura e umidade dos gases exigiu manipulação freqüente da traquéia cervical, incluindo a realização de traqueotomia próxima à fúrcula esternal para adaptação do termohigrômetro digital, o que inviabilizou a realização de estudo morfológico complementar, por meio do qual poderíamos avaliar se o epitélio respiratório seria menos lesado quando exposto à condições mais satisfatórias de condicionamento dos gases, provenientes da laringe e traquéia proximal.

2 OBJETIVO

O objetivo desta pesquisa foi analisar, por meio de estudo morfológico, o papel protetor da laringe e da traquéia proximal na prevenção de lesões epiteliais, causadas pela inalação de gases pouco condicionados, em cães anestesiados e ventilados com pressão positiva intermitente por meio de máscara laríngea ou tubo traqueal.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais Utilizados

Após aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, sob o protocolo de nº 442/04, foram utilizados 12 cães adultos de ambos os sexos, sem raça definida, com pesos variando de 15 a 27 quilogramas, fornecidos pelo Biotério do Campus de Botucatu da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Na seleção, foram excluídos do experimento os animais que não apresentavam aspecto sadio.

3.2 Grupos Experimentais

Os animais foram, aleatoriamente, distribuídos em dois grupos experimentais, dependendo do instrumental utilizado na manutenção da permeabilidade das vias aéreas para ventilação mecânica dos pulmões:

Grupo TT (n=6) – Tubo Traqueal Portex nº 8,5 (Inglaterra) (Figura 4A).

Grupo ML (n=6) – Máscara Laríngea ClassicTM nº 4 (Singapura) (Figura 4B).

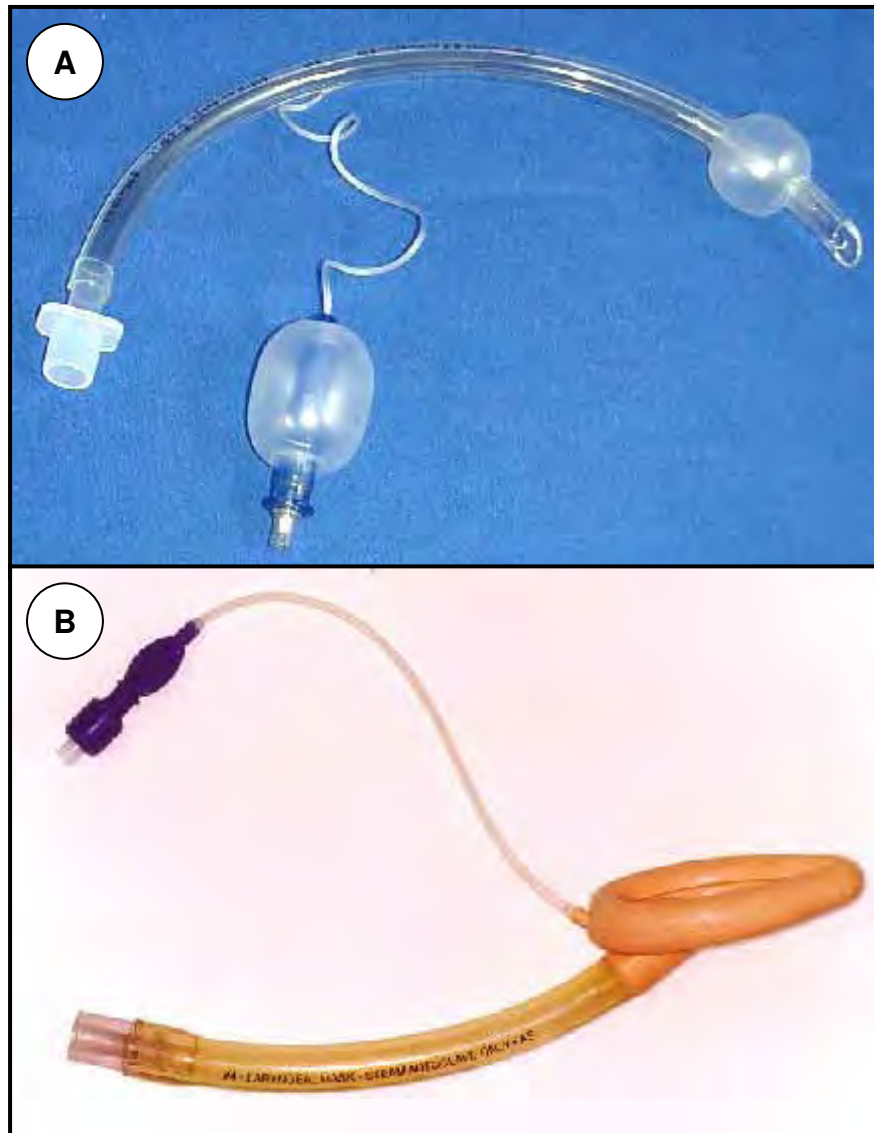


Figura 4. A – tubo traqueal nº 8,5 utilizado no grupo TT; B – máscara laríngea nº 4 utilizada no grupo ML.

No Grupo TT, a extremidade distal do tubo traqueal ficou posicionada no segmento superior da traquéia, ao nível dos primeiros anéis traqueais, em todos os animais deste grupo, reproduzindo as condições do experimento prévio (Figura 5A). No Grupo ML, a máscara laríngea permaneceu locada na hipofaringe, na transição faringolaríngea, deixando livre de contato com a cânula as estruturas da laringe e da traquéia proximal (Figura 5B).

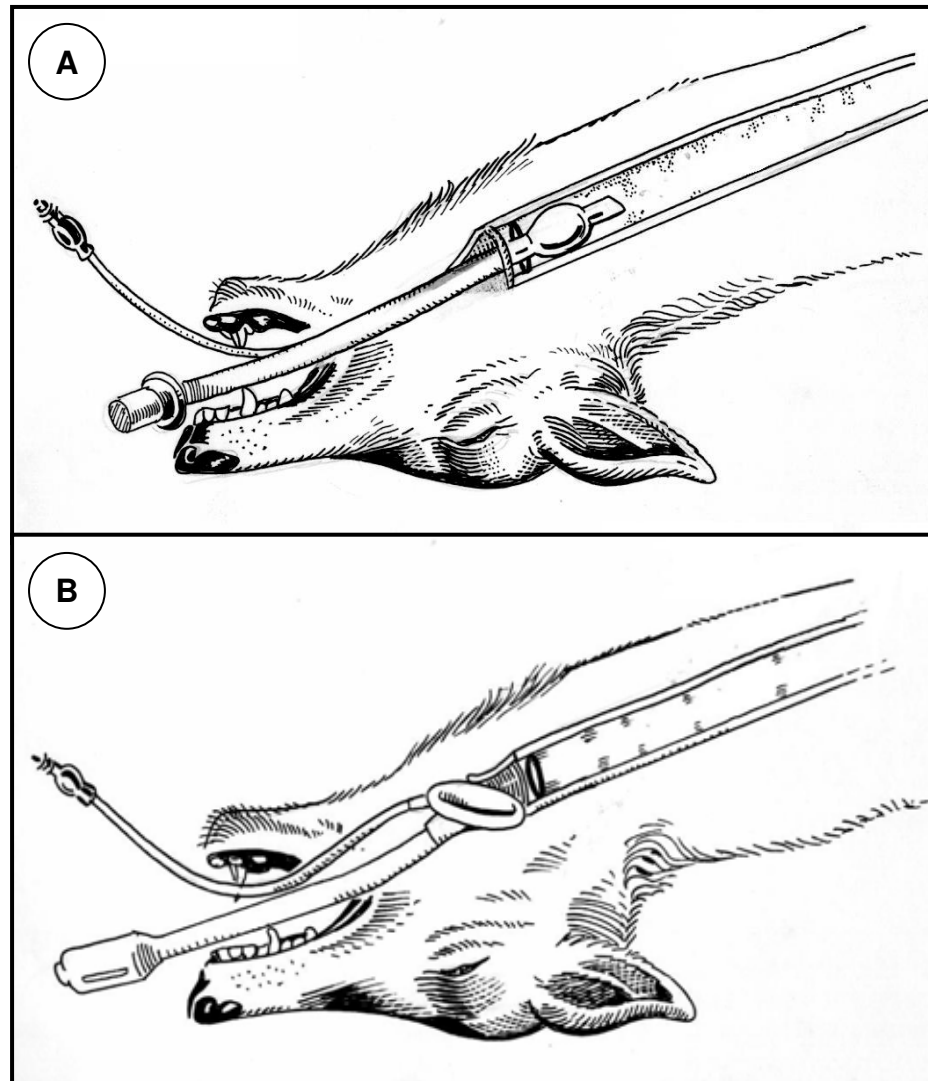


Figura 5. Representação esquemática dos grupos experimentais: A – grupo TT e B – grupo ML, mostrando o posicionamento do tubo traqueal e da máscara laríngea, bem como o segmento livre da via aérea em contato com os gases inalados em ambos os grupos.

3.3 Seqüência Experimental

Em todos os animais, foi realizada a seguinte seqüência experimental:

- Jejum alimentar de aproximadamente 14 horas, com livre acesso à água.
- Instalação do biomonitor AS/3 da Datex-Engstrom (Finlândia) para leitura dos parâmetros ventilatórios e hemodinâmicos por módulos específicos.
- Instalação do termômetro digital de dois canais marca Yellow Springs Instruments Precision 4000 A (EUA), para verificação das temperaturas timpânica e ambiente.

Material e Métodos

- Instalação do aparelho WarmTouch, modelo 5200, da Mallinckrodt Medica (EUA), para manutenção da temperatura corpórea do animal, por meio de manta específica.
- Pesagem do animal.
- Sorteio do grupo experimental.
- Anestesia venosa com pentobarbital sódico.
- Colocação do animal em goteira de Claude Bernard.
- Tricotomia da região inguinal esquerda.
- Dissecção e cateterismo da artéria e veia femorais esquerdas.
- Hidratação com Ringer lactato.
- Inserção de tubo traqueal ou máscara laríngea, de acordo com o grupo estudado.
- Instalação da monitorização hemodinâmica e ventilatória.
- Bloqueio neuromuscular com cloreto de alcurônio.
- Instalação da ventilação mecânica dos pulmões em sistema sem reabsorção de CO₂, com alto fluxo de gases frescos (ar 3 L.min⁻¹ e O₂ 2 L.min⁻¹).
- Medida dos atributos estudados logo após a realização da indução anestésica e instalação dos aparelhos de registro e após intervalos de 60 minutos, durante o período de 180 minutos.
- Eutanásia do animal, ao final do experimento, com injeção venosa de dose excessiva de anestésico (pentobarbital sódico).
- Dissecção cervical e mediastinal com remoção do segmento laringotraqueobrônquico para coleta de biópsias da mucosa traqueal em três locais pré-determinados: TP – traquéia proximal, TM – traquéia média e TD – traquéia distal, para exame histopatológico e microscopia eletrônica de varredura e transmissão.

3.4 Atributos Estudados**3.4.1 Atributos para controle do experimento**

- Peso do cão (kg).
- Comprimento do cão (cm).
- Sexo do cão (M/F).
- Pressão arterial média (mm Hg).
- Frequência de pulso (bat.min⁻¹).
- Frequência respiratória (insp.min⁻¹).
- Volume corrente (ml.kg⁻¹).
- Saturação periférica da oxihemoglobina (%).
- Pressão expiratória final de CO₂ (mm Hg).
- Pressão inspiratória (cm H₂O).
- Temperatura timpânica (°C).

3.4.2 Atributos para atendimento das finalidades do experimento

- Temperatura ambiente (°C).
- Umidade relativa do ar ambiente (%).
- Umidade absoluta do ar ambiente (mg H₂O.l⁻¹).
- Temperatura dos gases inalados (°C).
- Umidade relativa dos gases inalados (%).
- Umidade absoluta dos gases inalados (mg H₂O.l⁻¹).
- Exame histopatológico da mucosa traqueal nas áreas pré-determinadas (TP, TM, TD).

Material e Métodos

- Exame de microscopia eletrônica de varredura e de transmissão da mucosa traqueal nas áreas pré-determinadas (TP, TM, TD).

3.5 Momentos Estudados

Os atributos hemodinâmicos, respiratórios, de temperatura e de umidade foram obtidos nos seguintes tempos:

- **0** – logo após o início do experimento e instalação dos aparelhos de registro.
- **60** – 60 minutos após o início do experimento.
- **120** – 120 minutos após o início do experimento.
- **180** – 180 minutos após o início do experimento.

3.6 Técnicas Utilizadas

3.6.1 Preparo do animal

- Após período de jejum alimentar de 14 horas, mas com livre acesso à água, os animais foram pesados, submetidos à anestesia com injeção venosa de pentobarbital sódico (25 mg.kg⁻¹ de peso corporal) e colocados em decúbito dorsal horizontal, sobre goteira de Claude Bernard.
- Manutenção da permeabilidade das vias aéreas por meio da utilização de tubo traqueal ou máscara laríngea, na dependência do grupo experimental estudado.
- Intubação traqueal, no grupo TT, sempre pelo mesmo pesquisador, com auxílio de laringoscópio, para exposição da região glótica e introdução do tubo traqueal de diâmetro interno 8,5 mm, observando-se cuidadosamente a introdução da cânula para que o seu balonete (insuflado com ar para não permitir vazamento durante a respiração) ficasse posicionado, em todos os cães deste grupo, logo abaixo das pregas vocais, garantindo que

Material e Métodos

a extremidade do tubo traqueal permanecesse ao nível dos primeiros anéis traqueais, sendo o tubo fixado à boca do animal.

- Inserção da máscara laríngea nº4, no grupo ML, também pelo mesmo pesquisador, de acordo com a técnica descrita, previamente, no cão (Braz *et al.*, 1999). O cão foi colocado em decúbito dorsal, com a cabeça em extensão e a língua levemente tracionada para melhor visualização da região da hipofaringe e maior facilidade na inserção. A máscara laríngea foi inserida com o seu dorso firmemente pressionado contra o palato duro e progredida em direção a hipofaringe, até que fosse percebida alguma resistência à sua introdução. Uma vez posicionada, o balonete foi insuflado com ar, para obtenção de “selo” satisfatório ao redor da laringe, e a máscara fixada à boca do animal de modo que a linha negra, presente em toda extensão do tubo, permanecesse sempre na posição mediana.
- Instalação de ventilação mecânica dos pulmões com mistura de ar ambiente ($3 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$) e O_2 ($2 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$) em sistema de ventilação sem reinalação, empregando-se ventilador mecânico ciclado à pressão (K. TAKAOKA, modelo 2600, Série Nikkei – Brasil). Com o fluxo de gases frescos utilizados, a fração inspirada de oxigênio (FiO_2) permaneceu ao redor de 50%. Para facilitar a ventilação artificial e a manutenção do volume corrente, utilizou-se o cloreto de alcurônio, na dose inicial de $0,2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ e manutenção de $0,06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a cada 60 minutos.
- Instalação do sensor do oxímetro de pulso em forma de pinça, fixado à língua do animal e do captor da amostra de gases para medida da fração inspirada de oxigênio e da pressão expiratória final de dióxido de carbono (P_{ETCO_2}), junto à válvula expiratória, entre a máscara laríngea ou o tubo traqueal e o circuito inspiratório.
- Introdução do sensor de temperatura no conduto auditivo externo, posicionado junto à membrana timpânica, para medida da temperatura timpânica.

Material e Métodos

- Para medida da temperatura ambiente, um sensor foi mantido exposto ao ar ambiente próximo ao animal.
- Dissecção da artéria femoral esquerda, a qual foi cateterizada com cateter de polietileno PE 240 para medida da pressão arterial média. Para este fim, a extremidade do cateter foi conectada ao dômus específico para determinação da pressão arterial.
- Dissecção da veia femoral esquerda, a qual foi cateterizada com cateter de polietileno PE 240 para administração de Ringer lactato (dose de $5 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$) e pentobarbital sódico (dose de $5 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$) em bomba de infusão contínua de dois canais modelo Anne, da Abbott (EUA). Esta via foi também utilizada para injeção venosa de doses complementares de cloreto de alcurônio.
- Colocação de manta térmica para manutenção da temperatura corpórea do animal, cobrindo todo o corpo, sendo a mesma conectada ao aparelho fornecedor de ar aquecido WarmTouch, modelo 5200, da Mallinckrodt Medica (EUA).
- Fim do período de preparação e leitura dos atributos nos tempos estudados (Figura 6).
- Ao final do experimento, foi realizada eutanásia do animal com injeção venosa de dose excessiva de pentobarbital sódico (70 mg.kg^{-1}).



Figura 6. Foto panorâmica do experimento após término do preparo do animal.

3.6.2 Medidas dos atributos

- Os atributos ventilatórios e hemodinâmicos foram determinados por meio de módulos específicos do biomonitor AS/3 da Datex-Engstrom (Finlândia).
- As temperaturas timpânica ($^{\circ}\text{C}$) e ambiente ($^{\circ}\text{C}$) foram registradas pelo termômetro digital de 2 canais da Yellow Springs Instruments Precision 4000 A (USA).
- A leitura dos valores da temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e da umidade relativa (%) dos gases foi feita com o termohigrômetro digital portátil, modelo Higratermo 95, da Gulton do Brasil, o qual detecta valores de temperatura na faixa de -20°C a $+60^{\circ}\text{C}$, e de umidade relativa entre 5% e 95% (Figura 7).
- Nas avaliações dos gases inalados, o termohigrômetro foi acoplado ao ramo inspiratório do sistema de ventilação, junto à válvula expiratória, por cerca de 30 segundos até a estabilização dos valores de temperatura e umidade relativa (Figura 8).

Material e Métodos

- A umidade absoluta ($\text{mg H}_2\text{O.l}^{-1}$) foi calculada por meio da seguinte fórmula (Tubelis & Nascimento, 1980; Andrews, 1989):

$$\mathbf{da} = (\mathbf{ds} \times \mathbf{F}) \times 100^{-1}$$

onde: **da** – umidade absoluta ($\text{mg H}_2\text{O.l}^{-1}$)

ds – umidade absoluta do ar em condição de saturação ($\text{mg H}_2\text{O.l}^{-1}$), obtida em tabela específica (Tubelis & Nascimento, 1980)

F – umidade relativa (%)



Figura 7. Termohigrômetro digital portátil, modelo Higrómetro 95, da Gulton do Brasil.



Figura 8. Termohigrômetro acoplado ao ramo inspiratório do sistema de ventilação, para medida da temperatura e da umidade relativa dos gases inalados.

3.6.3 Estudo morfológico

- Após o sacrifício do animal, ao final das três horas de experimento, o segmento laringotraqueobrônquico foi imediatamente removido para a realização de biópsias da mucosa traqueal nas áreas pré-determinadas. Para esta finalidade, foi realizada, inicialmente, tricotomia da região cervical e torácica do animal, seguida de dissecação cervical e toracotomia pela linha média, interessando pele e subcutâneo, com bisturi lâmina 21, partindo-se do nível do osso hióideo e progredindo até dois centímetros abaixo do processo xifóide do osso esterno. Realizou-se, a seguir, a abertura do osso esterno com tesoura, seguida da colocação do afastador autostático, e divulsão romba das pleuras com pinçamento, ligadura e secção dos vasos mediastinais. Após completa exposição e individualização da laringe, traquéia em toda sua extensão (cervical e torácica) e dos brônquios principais (Figura 9), foi realizada remoção em bloco da laringe e traquéia, seguida da abertura cuidadosa da traquéia, em toda sua extensão, pela sua porção membranosa, com exposição de sua luz. Foram realizadas biópsias da mucosa traqueal de 1x1cm nas três áreas pré-determinadas: TP – traquéia proximal, TM – traquéia média, TP – traquéia distal, para exame histopatológico e microscopia eletrônica de varredura e transmissão (Figura 10).

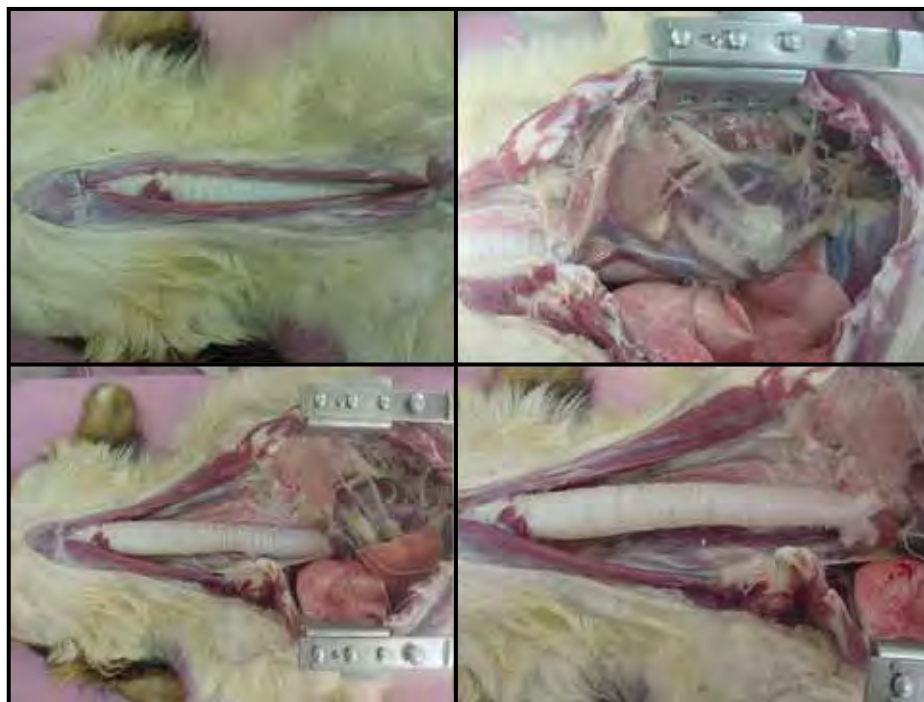


Figura 9. Dissecção cervical e mediastinal, obtendo completa exposição e individualização da traquéia cervical e torácica.

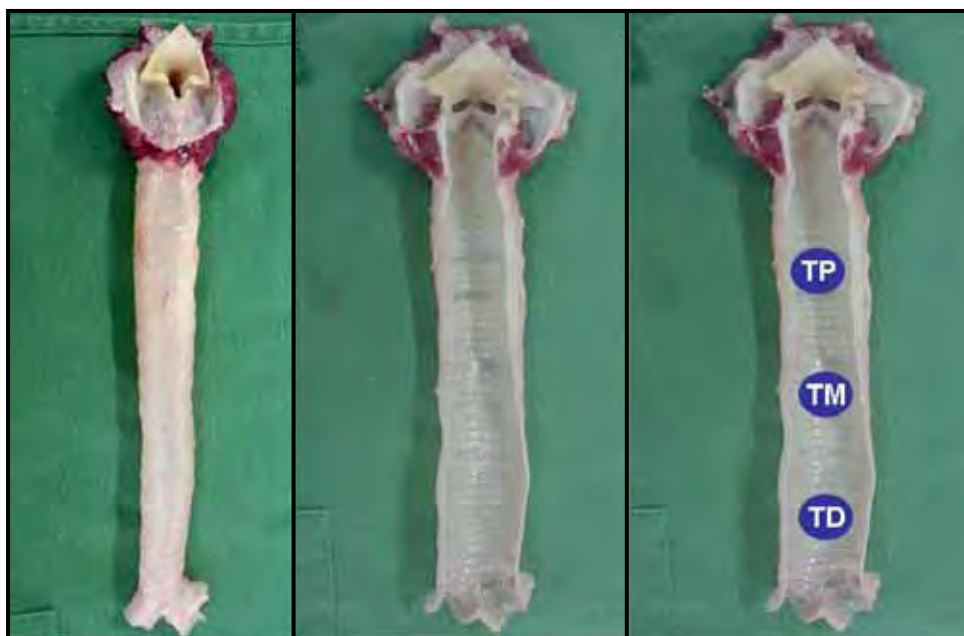


Figura 10. Bloco laringotraqueal removido, abertura da traquéia pela porção membranosa e áreas de biópsia da mucosa traqueal (TP – traquéia proximal, TM – traquéia média, TD – traquéia distal).

Material e Métodos

- **Microscopia de luz** – as biópsias coletadas nas três áreas pré-determinadas (TP, TM e TD), nos seis cães de cada grupo, foram submetidas à seguinte sequência de preparação: fixação em formalina a 10% durante 48 horas, inclusão dos fragmentos em parafina, os quais foram cortados por métodos convencionais e corados pelo método da hematoxilina-eosina. A avaliação histológica pela microscopia de luz foi feita pelo pesquisador e pelo patologista com registro fotográfico e ilustração das principais alterações encontradas, sem conhecimento prévio dos grupos aos quais pertenciam as lâminas, sendo as mesmas identificadas por letras e números. Em cada lâmina, foram analisados os seguintes parâmetros à microscopia de luz: epitélio (erosão e presença de polimorfonucleares neutrófilos) e córion (congestão, hemorragia e presença de polimorfonucleares neutrófilos). Com exceção da erosão epitelial, nos demais parâmetros, foi realizada análise semiquantitativa por meio de escores sendo 0 – ausente, 1 – discreto, 2 – moderado e 3 – intenso. Os dados relativos à erosão epitelial foram analisados em termos de extensão do corte histológico, como segue:

- 0 – ausência de erosão em toda extensão do corte histológico,
- 1 – comprometimento de até 30% da extensão do corte histológico,
- 2 – comprometimento de 31% a 60% da extensão do corte histológico,
- 3 – comprometimento de 61% a 100% da extensão do corte histológico.

Para realização do estudo de microscopia eletrônica, foram coletados fragmentos de biópsia da mucosa traqueal (1x1cm), em três animais de cada grupo, nas mesmas áreas pré-determinadas (TP, TM e TD). Cada fragmento era dividido ao meio, sendo enviada uma parte para microscopia eletrônica de varredura e outra para microscopia eletrônica de transmissão.

- **Microscopia eletrônica de varredura** – os fragmentos de biópsia da mucosa traqueal coletados nas três áreas pré-determinadas (TP, TM e TD) foram submetidos à seguinte preparação: fixação em glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato 0,1M e pH 7,3 por, no

Material e Métodos

mínimo, 12 horas; três lavagens em tampão fosfato 0,1M e pH 7,3 de 15 minutos cada; pós-fixação em tetróxido de ósmio a 1% em tampão fosfato 0,1M e pH 7,3 por 1 hora em câmara escura; três lavagens em tampão fosfato 0,1M e pH 7,3 de 15 minutos cada; desidratação da peça em série alcoólica de 75% a 100% (duas trocas de 15 min cada); secagem das peças em aparelho de ponto crítico Balzers CPD-020, utilizando-se dióxido de carbono líquido; montagem em base metálica com cola de prata; cobertura das peças com ouro (15nm) em aparelho Balzers MED-010; exame e fotografia digital do material em microscópio eletrônico de varredura modelo QUANTA 200 da FEI (República Tcheca), com aumentos crescentes, englobando toda superfície da peça (Figura 11). Cada fragmento foi submetido à análise semiquantitativa por meio de escores, sendo:

- 0** – ausência de alterações nos cílios, epitélio íntegro em toda sua extensão,
- 1** – agrupamento e/ou desorientação ciliar em áreas focais,
- 2** – agrupamento e/ou desorientação ciliar em áreas extensas, ausência de ulceração epitelial,
- 3** – rarefação ciliar em áreas extensas, ausência de ulceração epitelial,
- 4** – rarefação ciliar em áreas extensas, ulceração epitelial.



Figura 11. Microscópio eletrônico de varredura.

- **Microscopia eletrônica de transmissão** – os fragmentos de biópsia da mucosa traqueal coletados nas três áreas pré-determinadas (TP, TM e TD) foram submetidos à seguinte preparação: fixação em glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato 0,1 M e pH 7,3; secção da peça de biópsia com lâmina preparada, em fragmentos de 3x1mm, sob cera de dentista rosa, umidecida com solução fixadora de glutaraldeído a 2,5%; coleta de fragmentos por meio de micro pipetas e fixação em glutaraldeído a 2,5% por três horas; pós-fixação com ácido ósmico a 1% em tampão fosfato 0,1 molar, pH 7,3; desidratação em série crescente de acetonas (50%, 70%, 90% e 100%); mergulho dos fragmentos em mistura de acetona e resina de araldite (Polysciences, Inc.) de grau 502 por 12 horas; retirada dos fragmentos da mistura e inclusão em bloco de resina de araldite pura por uma hora em estufa a 37°C, sendo preparados 6 blocos de cada peça de biópsia; colocação em estufa a 60°C por 48 horas para polimerização; trimagem dos blocos, sob lupa, com auxílio de lâmina preparada; realização de cortes semi-finos de 0,5µm, que foram colocados sobre lâminas e corados com uma mistura de 1:1 de azul de metileno a 1% e de Azur II a 1%; exame em microscópio óptico para escolha dos cortes semi-finos apropriados; cortes ultra-finos (500) a partir dos cortes semi-finos escolhidos; exame e fotografia do material em microscópio eletrônico de transmissão Philips, modelo EM 301 (Holanda), abrangendo o epitélio e a lâmina própria (Figura 12), com aumentos variáveis e crescentes quadro a quadro, realizando algumas fotos com aumentos maiores para destacar detalhes ultra-estruturais. Cada fragmento foi submetido à análise semiquantitativa por meio de escores, sendo:

Material e Métodos

- 0** – células epiteliais com configuração normal,
- 1** – alargamento das junções intercelulares e/ou presença de células inflamatórias, membrana basal normal,
- 2** – alargamento das junções intercelulares e/ou presença de células inflamatórias, vacuolização citoplasmática, membrana basal normal,
- 3** – vacuolização citoplasmática com polimorfismo celular/nuclear, membrana basal alterada.



Figura 12. Microscópio eletrônico de transmissão.

O estudo de microscopia eletrônica foi realizado no Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho (UNESP – Botucatu).

3.7 Análise Estatística

Para verificar se a variável apresentava ou não distribuição normal, empregou-se o teste para normalidade dos resíduos de Kolmogorov-Smirnov, juntamente com o teste para homogeneidade de variância de Bartlett.

Nas situações em que as variáveis não tiveram distribuição normal, utilizou-se o teste não paramétrico de Friedman na comparação entre os valores dos momentos dentro de cada grupo e o teste não paramétrico de Mann-Whitney para comparação entre os valores dos dois grupos em cada momento. Estes atributos tiveram seus resultados expressos pela mediana, primeiro e terceiro quartis, e representação em figuras (*box plot*) com indicação do menor valor, do primeiro quartil, da mediana, do terceiro quartil e do maior valor obtido.

Para as variáveis que apresentaram distribuição normal, foi realizada ANOVA, seguida do teste para comparações múltiplas de Tukey. Os resultados dos atributos neste caso foram expressos pela média e desvio padrão.

Na análise do peso e comprimento dos animais, utilizou-se o teste t de Student, e para a distribuição dos sexos, foi empregado o teste exato de Fisher.

O nível de significância utilizado foi de 0,05 (Fisher & Belle, 1993).

4 RESULTADOS

4.1 Peso dos Animais

Tabela 1. *Peso dos animais (kg).* Média e desvio padrão dos valores observados nos grupos estudados.

Grupo	Peso (kg)
TT	$19,7 \pm 4,7$
ML	$17,5 \pm 3,2$

Teste t; $p=0,37$

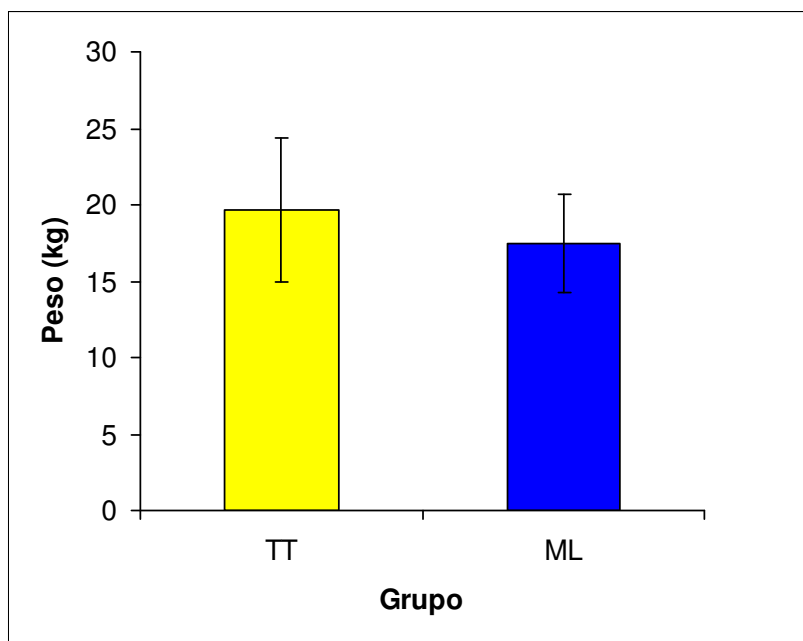


Figura 13. *Peso dos animais (kg).* Média e desvio padrão dos valores observados nos grupos estudados ($p>0,05$).

Comentário geral: não houve diferença entre os grupos com relação ao peso dos animais.

Resultados

4.2 Comprimento dos Animais

Tabela 2. *Comprimento dos animais (cm).* Média e desvio padrão dos valores observados nos grupos estudados.

Grupo	Comprimento (cm)
TT	104,8 ± 10,6
ML	97,0 ± 7,9

Teste t; p=0,18

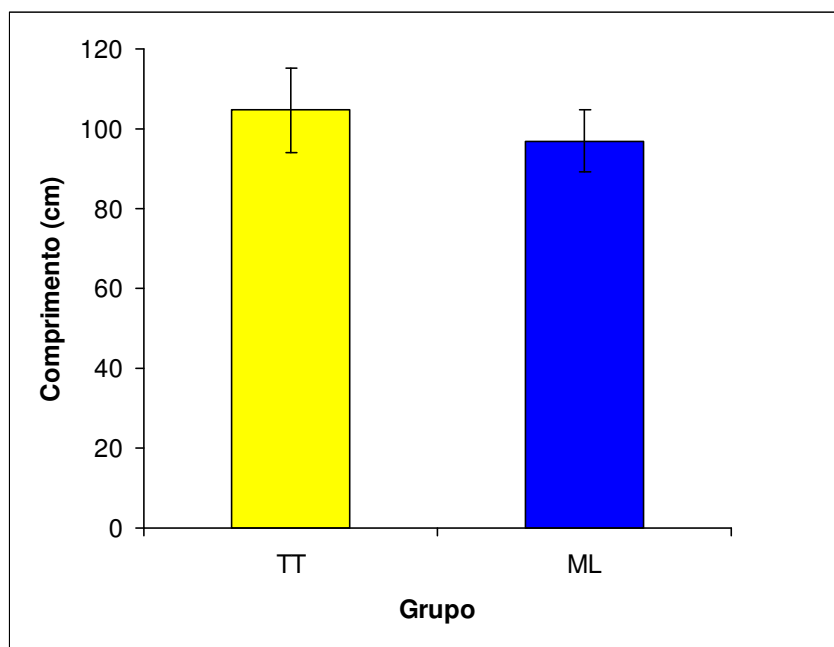


Figura 14. *Comprimento dos animais (cm).* Média e desvio padrão dos valores observados nos grupos estudados (p>0,05).

Comentário geral: não houve diferença entre os grupos com relação ao comprimento dos animais.

Resultados

4.3 Sexo dos Animais

Tabela 3. *Sexo dos animais.* Distribuição das frequências absolutas (n) e relativas (%) observadas nos grupos estudados.

Sexo	Grupo	
	TT	ML
Macho (M)	3 (50,0)	4 (66,7)
Fêmea (F)	3 (50,0)	2 (33,3)

Teste exato de Fisher; $p=0,56$

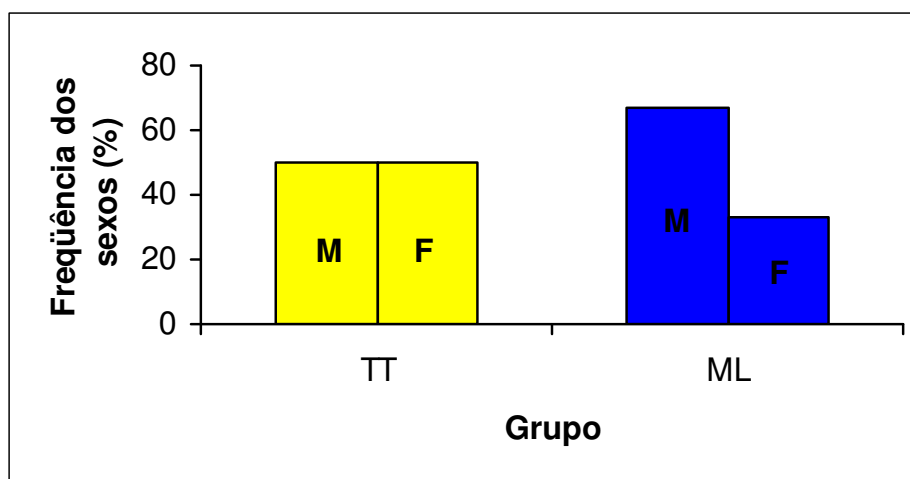


Figura 15. *Sexo dos animais.* Distribuição das proporções observadas nos grupos estudados ($p>0,05$).

Comentário geral: não houve diferença entre os grupos com relação ao sexo dos cães.

Resultados

4.4 Pressão Arterial Média

Tabela 4. Pressão arterial média (mm Hg). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.

Tempo (min)	Grupo	
	TT	ML
0	105,7 ± 12,9	100,5 ± 7,1
60	113,2 ± 11,5	119,3 ± 12,6
120	112,8 ± 7,8	122,0 ± 7,6
180	114,2 ± 8,6	120,8 ± 11,0

(1) médias dos tempos dentro de cada grupo, não diferem estatisticamente ($p=0,18$).

(2) médias dos grupos dentro de cada tempo, não diferem estatisticamente ($p=0,18$).

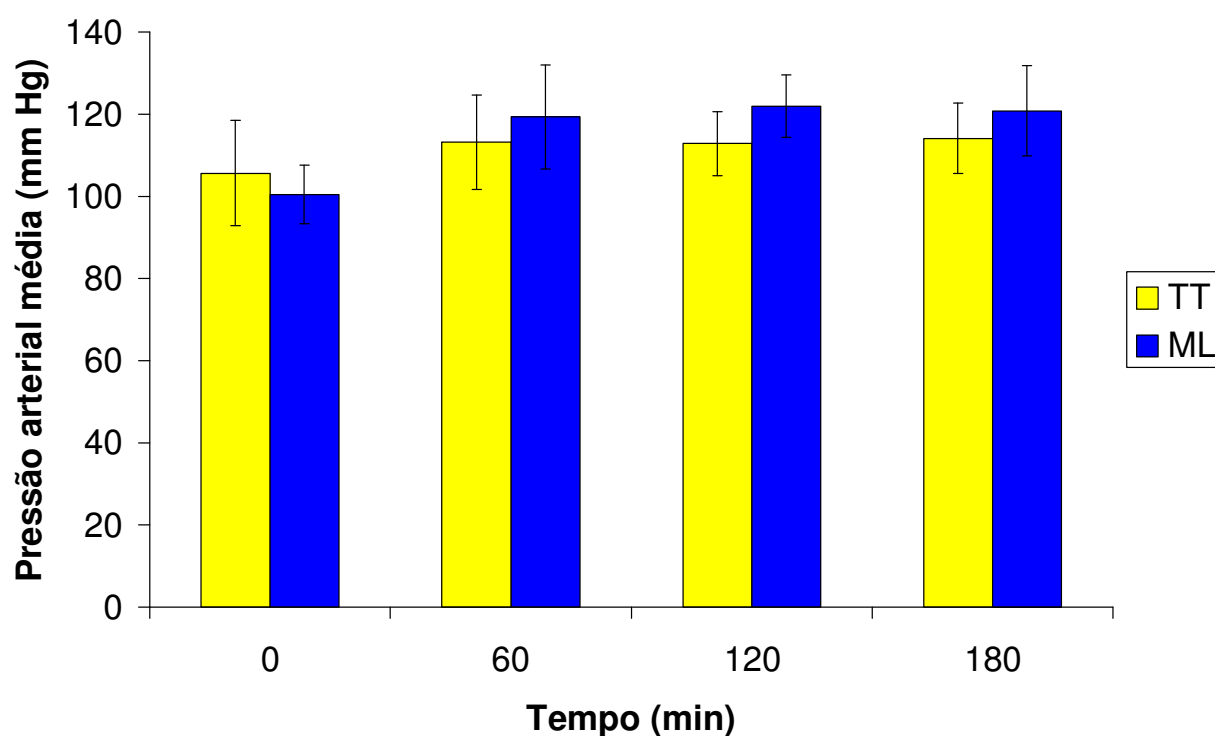


Figura 16. Pressão arterial média (mm Hg). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).

Comentário geral: os valores da pressão arterial média não se alteraram significativamente entre os grupos e ao longo do tempo nos grupos estudados.

Resultados

4.5 Frequência de Pulso

Tabela 5. *Frequência de pulso (bat.min⁻¹).* Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.

Tempo (min)	Grupo	
	TT	ML
0	153 ± 23	150 ± 29
60	162 ± 13	152 ± 25
120	162 ± 15	152 ± 17
180	156 ± 20	154 ± 17

(1) médias dos tempos dentro de cada grupo, não diferem estatisticamente ($p=0,80$).

(2) médias dos grupos dentro de cada tempo, não diferem estatisticamente ($p=0,80$).

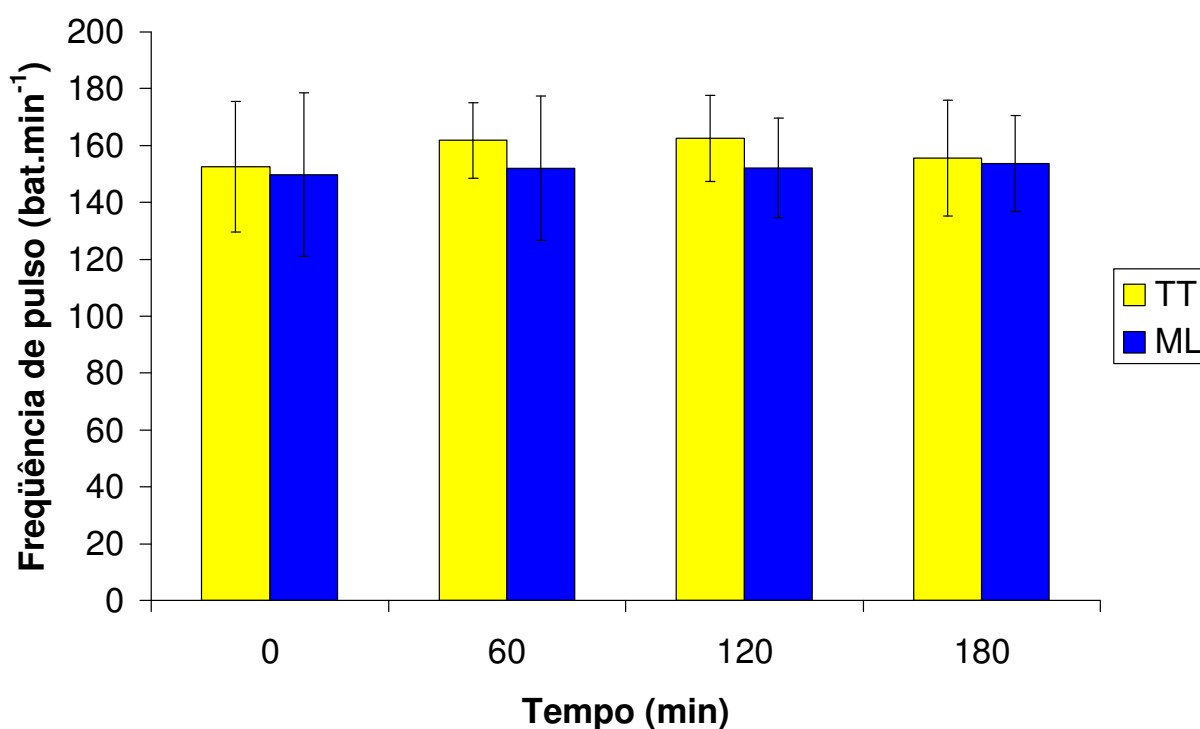


Figura 17. *Frequência de pulso (bat.min⁻¹).* Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).

Comentário geral: os valores da frequência de pulso não se alteraram significativamente entre os grupos e ao longo do tempo nos grupos estudados.

Resultados

4.6 Frequência Respiratória

Tabela 6. *Frequência respiratória (insp.min⁻¹).* Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.

Tempo (min)	Grupo	
	TT	ML
0	13 ± 1,0	13 ± 0,9
60	13 ± 1,0	13 ± 0,5
120	13 ± 0,8	13 ± 0,8
180	13 ± 1,0	13 ± 0,8

- (1) médias dos tempos dentro de cada grupo, não diferem estatisticamente ($p=0,60$).
 (2) médias dos grupos dentro de cada tempo, não diferem estatisticamente ($p=0,60$).

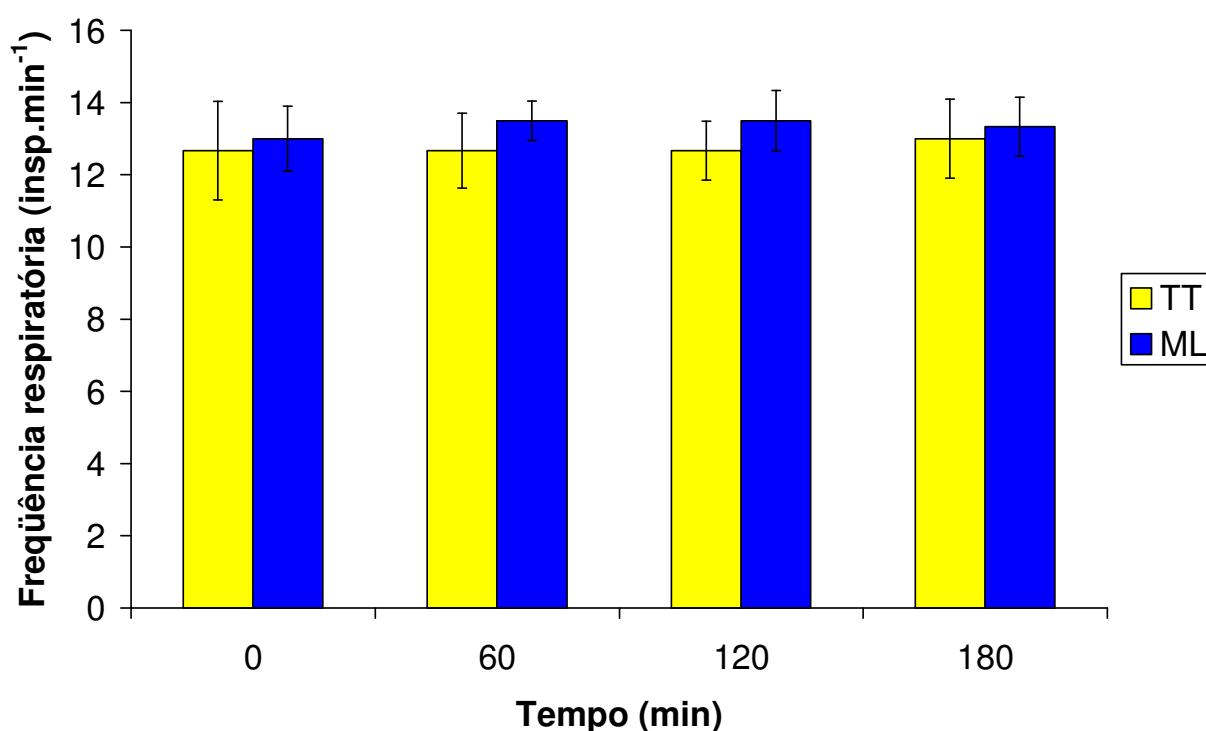


Figura 18. *Frequência respiratória (insp.min⁻¹).* Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).

Comentário geral: os valores da frequência respiratória não se alteraram significativamente entre os grupos e ao longo do tempo nos grupos estudados.

Resultados

4.7 Volume Corrente

Tabela 7. *Volume corrente ($ml.kg^{-1}$).* Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.

Tempo (min)	Grupo	
	TT	ML
0	20,3 $\pm$ 0,5	19,5 $\pm$ 0,6
60	19,5 $\pm$ 0,8	19,3 $\pm$ 1,1
120	19,9 $\pm$ 0,5	19,4 $\pm$ 1,1
180	19,7 $\pm$ 0,5	19,1 $\pm$ 1,0

(1) médias dos tempos dentro de cada grupo, não diferem estatisticamente ($p=0,64$).

(2) médias dos grupos dentro de cada tempo, não diferem estatisticamente ($p=0,64$).

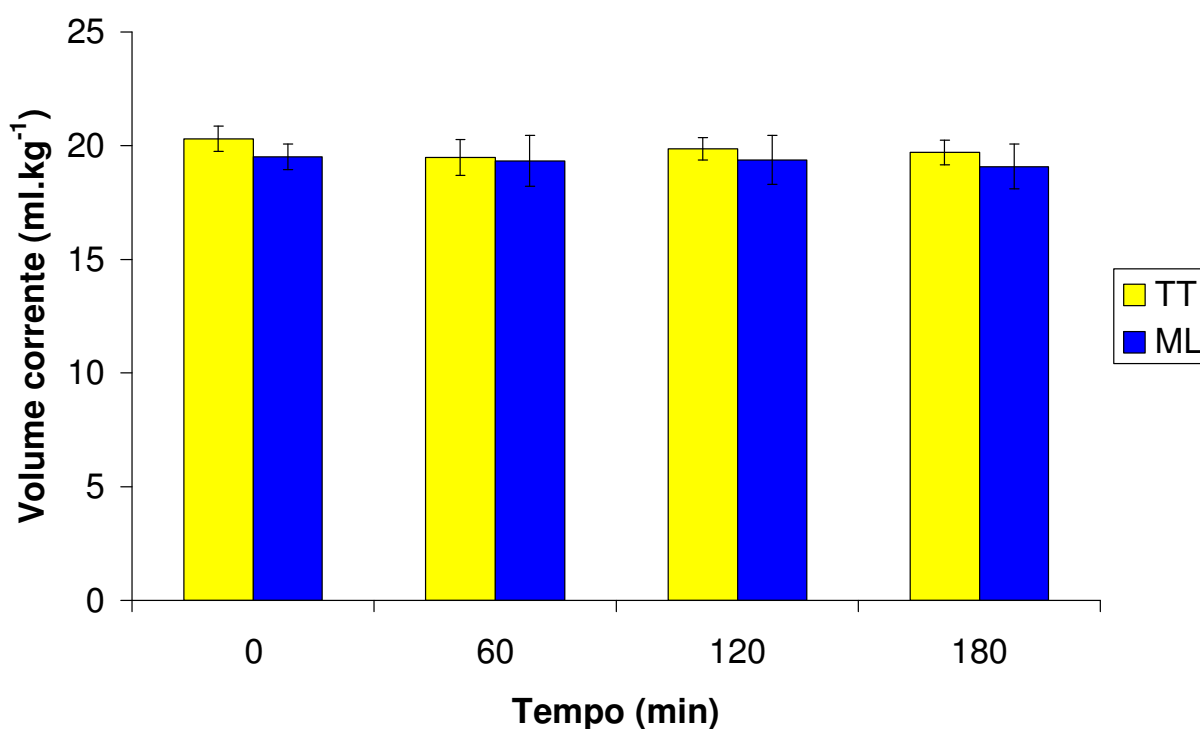


Figura 19. *Volume corrente ($ml.kg^{-1}$).* Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).

Comentário geral: os valores do volume corrente não se alteraram significativamente entre os grupos e ao longo do tempo nos grupos estudados.

Resultados

4.8 Saturação Periférica da Oxihemoglobina

Tabela 8. *Saturação periférica da oxihemoglobina (%).* Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.

Tempo (min)	Grupo	
	TT	ML
0	98,7 ± 0,5	99,0 ± 0,0
60	98,8 ± 0,8	98,8 ± 0,4
120	98,7 ± 0,5	98,5 ± 0,8
180	98,5 ± 0,8	98,7 ± 0,5

(1) médias dos tempos dentro de cada grupo, não diferem estatisticamente ($p=0,58$).

(2) médias dos grupos dentro de cada tempo, não diferem estatisticamente ($p=0,58$).

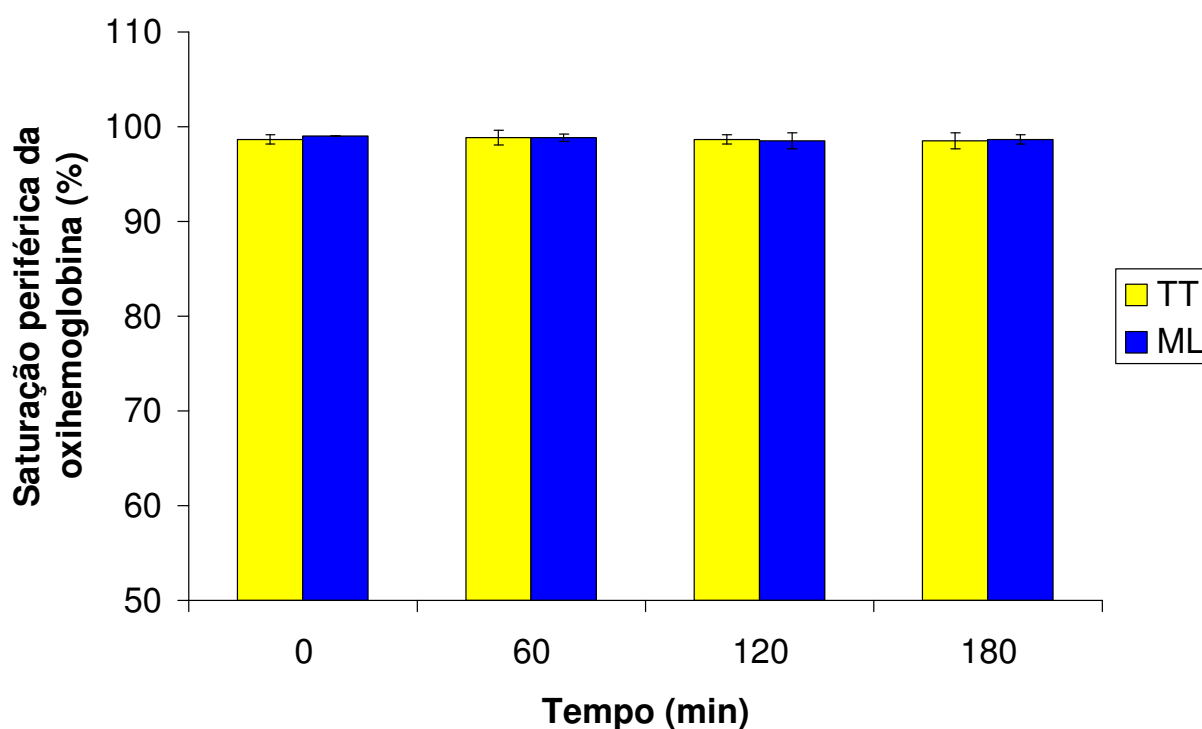


Figura 20. *Saturação periférica da oxihemoglobina (%).* Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).

Comentário geral: os valores da saturação periférica da oxihemoglobina não se alteraram significativamente entre os grupos e ao longo do tempo nos grupos estudados.

Resultados

4.9 Pressão Expiratória Final de CO₂

Tabela 9. Pressão expiratória final de CO₂ (mm Hg). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.

Tempo (min)	Grupo	
	TT	ML
0	33,8 ± 5,0	35,3 ± 5,5
60	33,0 ± 5,2	36,2 ± 5,9
120	33,7 ± 3,8	37,3 ± 5,9
180	34,2 ± 3,5	37,3 ± 6,1

(1) médias dos tempos dentro de cada grupo, não diferem estatisticamente ($p=0,58$).

(2) médias dos grupos dentro de cada tempo, não diferem estatisticamente ($p=0,58$).

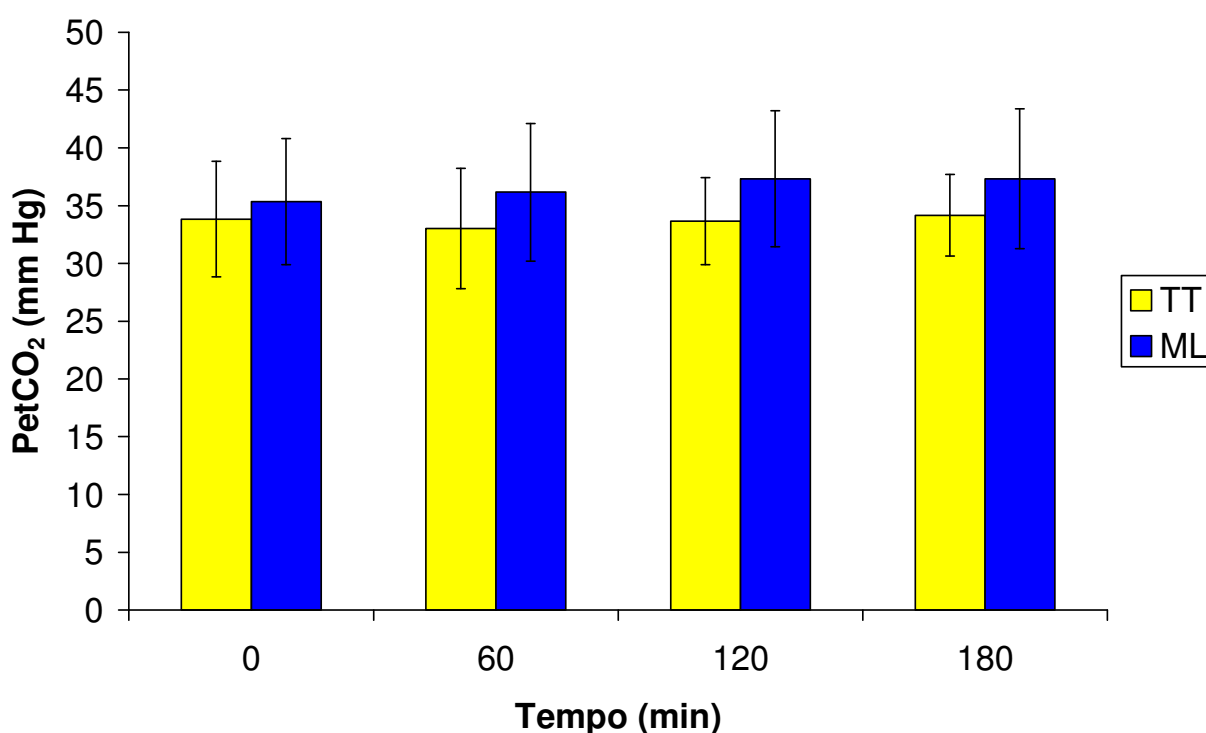


Figura 21. Pressão expiratória final de CO₂ (mm Hg). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).

Comentário geral: os valores da pressão expiratória final de CO₂ não se alteraram significativamente entre os grupos e ao longo do tempo nos grupos estudados.

Resultados

4.10 Pressão Inspiratória

Tabela 10. Pressão inspiratória (cm H₂O). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.

Tempo (min)	Grupo	
	TT	ML
0	10,2 ± 0,4 c ⁽¹⁾ B ⁽²⁾	11,2 ± 1,8 a
60	11,0 ± 0,9 bc A	11,8 ± 1,3 a A
120	11,7 ± 0,8 ab A	12,0 ± 1,5 a A
180	12,3 ± 0,8 a A	11,8 ± 1,7 a A

(1) médias dos tempos dentro de cada grupo, seguidas de diferentes letras minúsculas, diferem estatisticamente (p=0,002).

(2) médias dos grupos dentro de cada tempo, seguidas de diferentes letras maiúsculas, diferem estatisticamente (p=0,002).

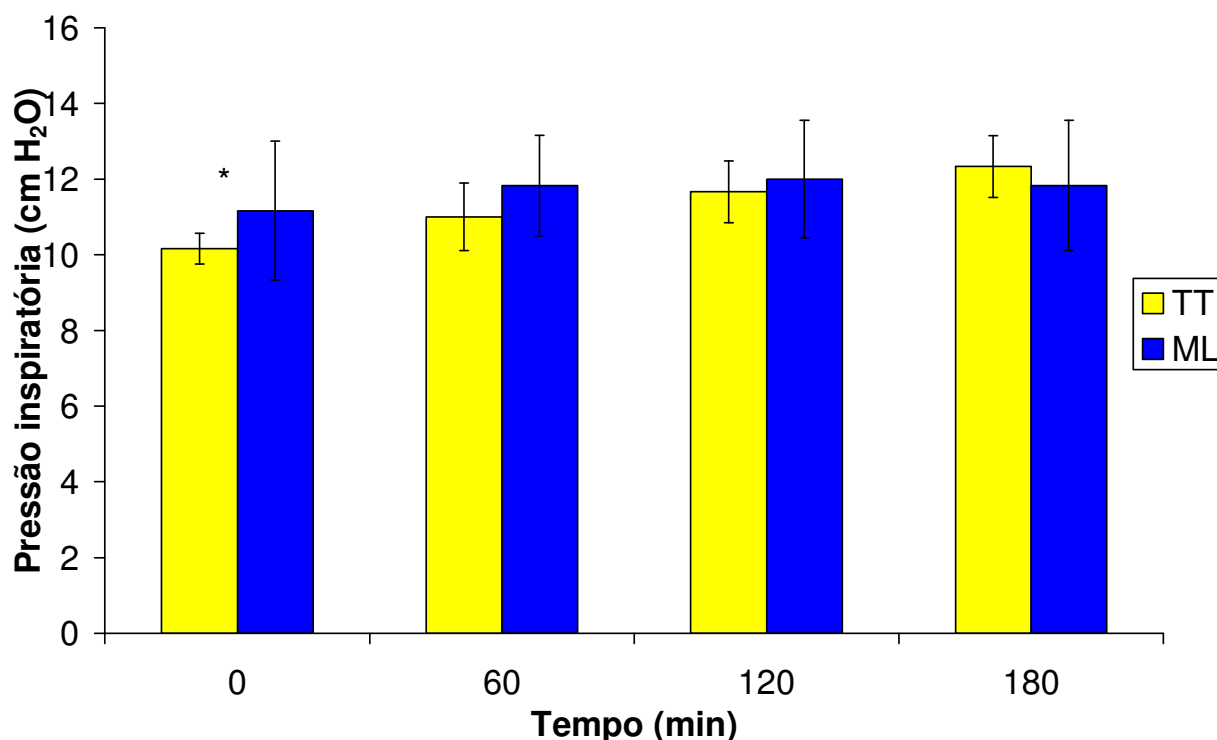


Figura 22. Pressão inspiratória (cm H₂O). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados (T₀ grupo TT < grupo ML, p<0,05; no grupo TT: T₀ < T₆₀ < T₁₂₀ < T₁₈₀, p<0,05).

Comentário geral: os valores da pressão inspiratória no grupo TT foram inferiores aos do grupo ML apenas no momento inicial, e aumentaram significativamente ao longo do tempo apenas no grupo TT.

Resultados

4.11 Temperatura Timpânica

Tabela 11. *Temperatura timpânica (°C).* Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.

Tempo (min)	Grupo	
	TT	ML
0	37,3 ± 0,7	37,7 ± 0,5
60	37,5 ± 1,0	38,0 ± 0,5
120	37,9 ± 1,1	38,4 ± 0,6
180	38,4 ± 1,2	38,6 ± 0,4

- (1) médias dos tempos dentro de cada grupo, não diferem estatisticamente ($p=0,69$).
 (2) médias dos grupos dentro de cada tempo, não diferem estatisticamente ($p=0,69$).

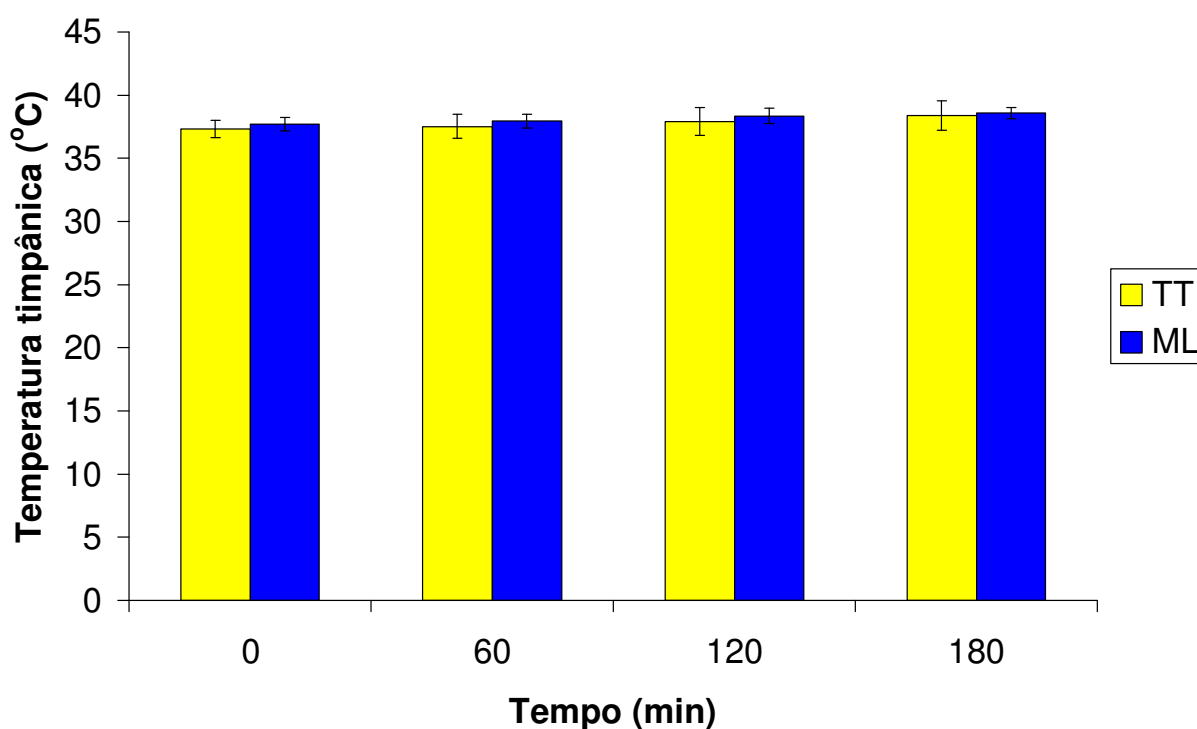


Figura 23. *Temperatura timpânica (°C).* Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).

Comentário geral: os valores da temperatura timpânica não se alteraram significativamente entre os grupos e ao longo do tempo nos grupos estudados.

Resultados

4.12 Temperatura Ambiente

Tabela 12. *Temperatura ambiente (°C).* Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.

Tempo (min)	Grupo	
	TT	ML
0	23,9 ± 2,1	24,1 ± 0,7
60	25,1 ± 2,0	24,6 ± 0,8
120	25,1 ± 2,1	24,9 ± 1,0
180	25,3 ± 2,5	25,3 ± 1,0

(1) médias dos tempos dentro de cada grupo, não diferem estatisticamente ($p=0,27$).

(2) médias dos grupos dentro de cada tempo, não diferem estatisticamente ($p=0,27$).

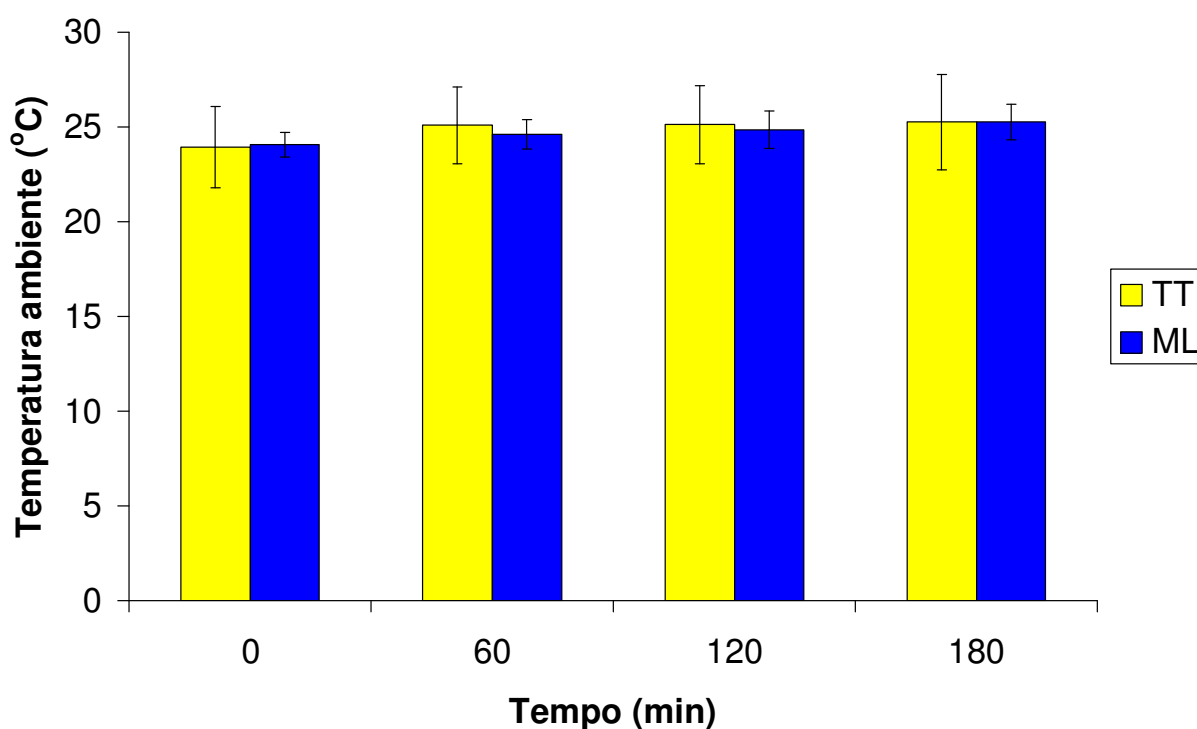


Figura 24. *Temperatura ambiente (°C).* Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).

Comentário geral: os valores da temperatura ambiente não se alteraram significativamente entre os grupos e ao longo do tempo nos grupos estudados.

Resultados

4.13 Umidade Relativa do Ar Ambiente

Tabela 13. *Umidade relativa do ar ambiente (%)*. Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.

Tempo (min)	Grupo	
	TT	ML
0	58,4 ± 10,8	63,2 ± 9,3
60	57,3 ± 12,0	61,9 ± 11,4
120	57,0 ± 10,2	63,5 ± 10,2
180	56,8 ± 13,1	63,2 ± 9,9

(1) médias dos tempos dentro de cada grupo, não diferem estatisticamente ($p=0,65$).

(2) médias dos grupos dentro de cada tempo, não diferem estatisticamente ($p=0,65$).

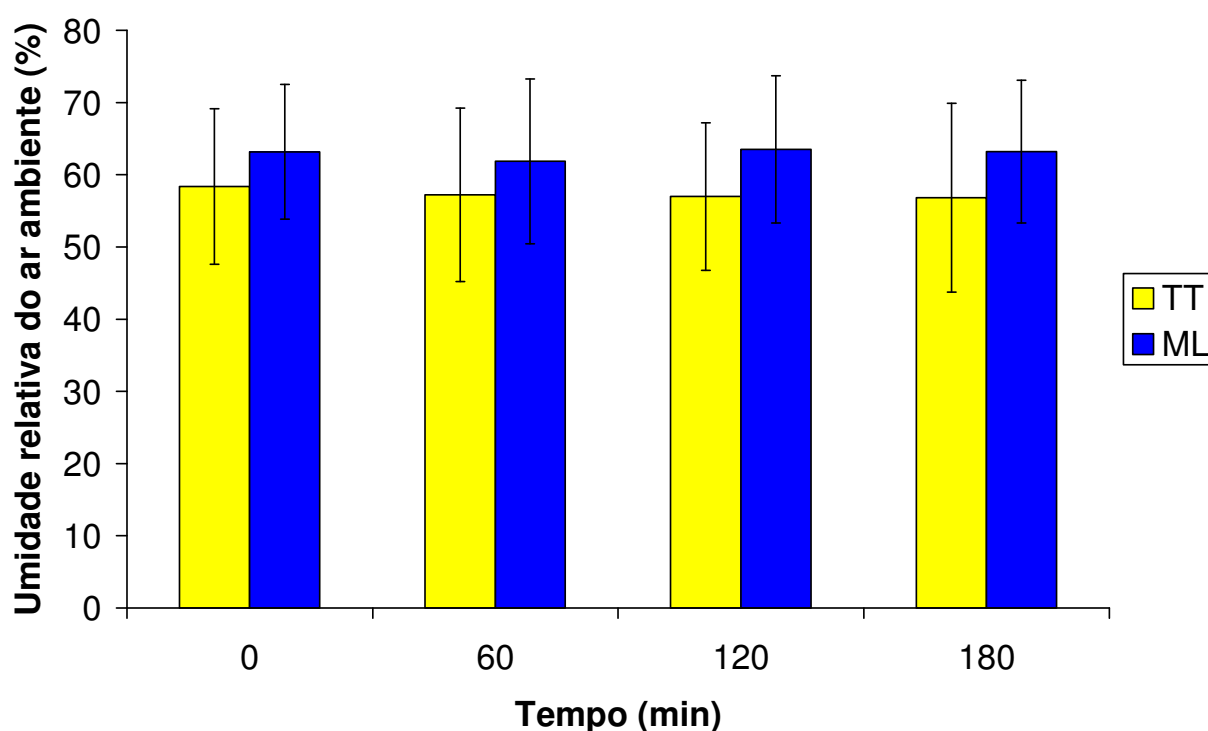


Figura 25. *Umidade relativa do ar ambiente (%)*. Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).

Comentário geral: os valores da umidade relativa do ar ambiente não se alteraram significativamente entre os grupos e ao longo do tempo nos grupos estudados.

Resultados

4.14 Umidade Absoluta do Ar Ambiente

Tabela 14. Umidade absoluta do ar ambiente ($\text{mg H}_2\text{O.l}^{-1}$). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.

Tempo (min)	Grupo	
	TT	ML
0	$12,6 \pm 2,5$	$13,8 \pm 2,1$
60	$13,2 \pm 2,5$	$14,1 \pm 2,6$
120	$13,1 \pm 2,1$	$14,6 \pm 2,0$
180	$13,1 \pm 2,6$	$14,7 \pm 2,0$

(1) médias dos tempos dentro de cada grupo, não diferem estatisticamente ($p=0,35$).

(2) médias dos grupos dentro de cada tempo, não diferem estatisticamente ($p=0,35$).

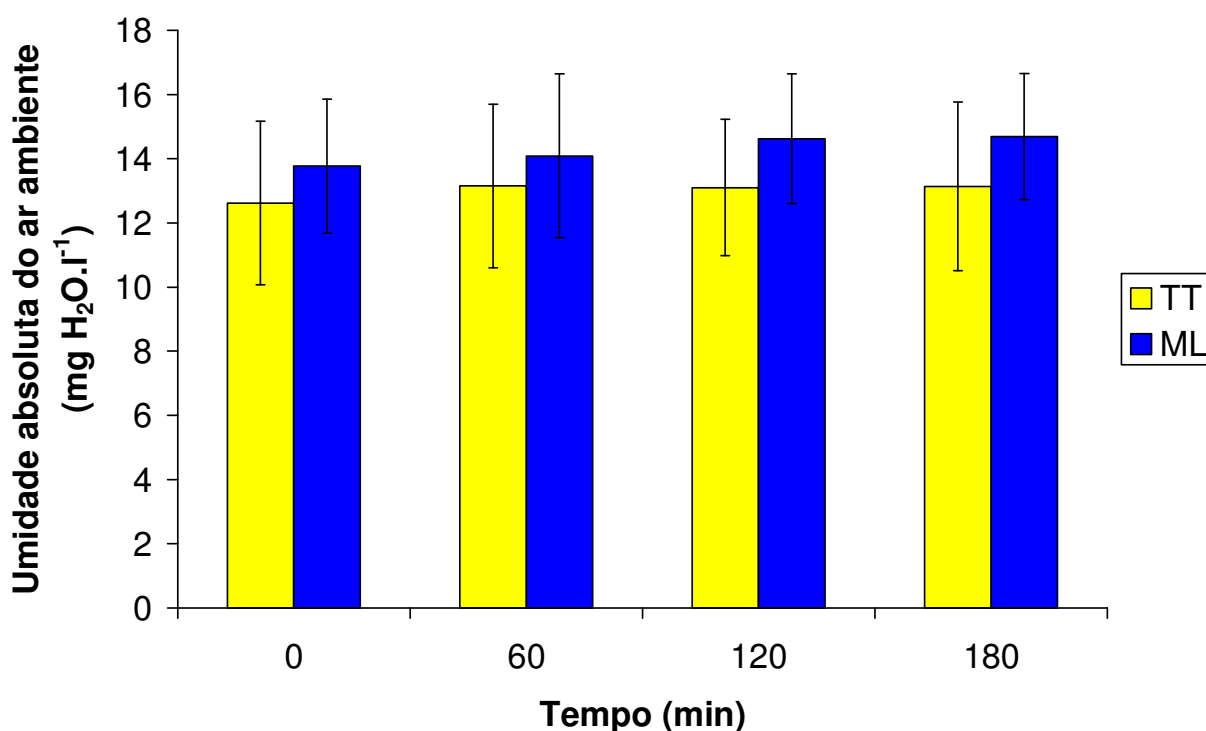


Figura 26. Umidade absoluta do ar ambiente ($\text{mg H}_2\text{O.l}^{-1}$). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).

Comentário geral: os valores da umidade absoluta do ar ambiente não se alteraram significativamente entre os grupos e ao longo do tempo nos grupos estudados.

Resultados

4.15 Temperatura dos Gases Inalados

Tabela 15. *Temperatura dos gases inalados (°C).* Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.

Tempo (min)	Grupo	
	TT	ML
0	23,6 ± 2,4	23,9 ± 0,7
60	24,4 ± 2,4	24,2 ± 1,1
120	24,6 ± 2,3	24,5 ± 1,0
180	24,9 ± 2,7	24,8 ± 1,2

(1) médias dos tempos dentro de cada grupo, não diferem estatisticamente ($p=0,46$).

(2) médias dos grupos dentro de cada tempo, não diferem estatisticamente ($p=0,46$).

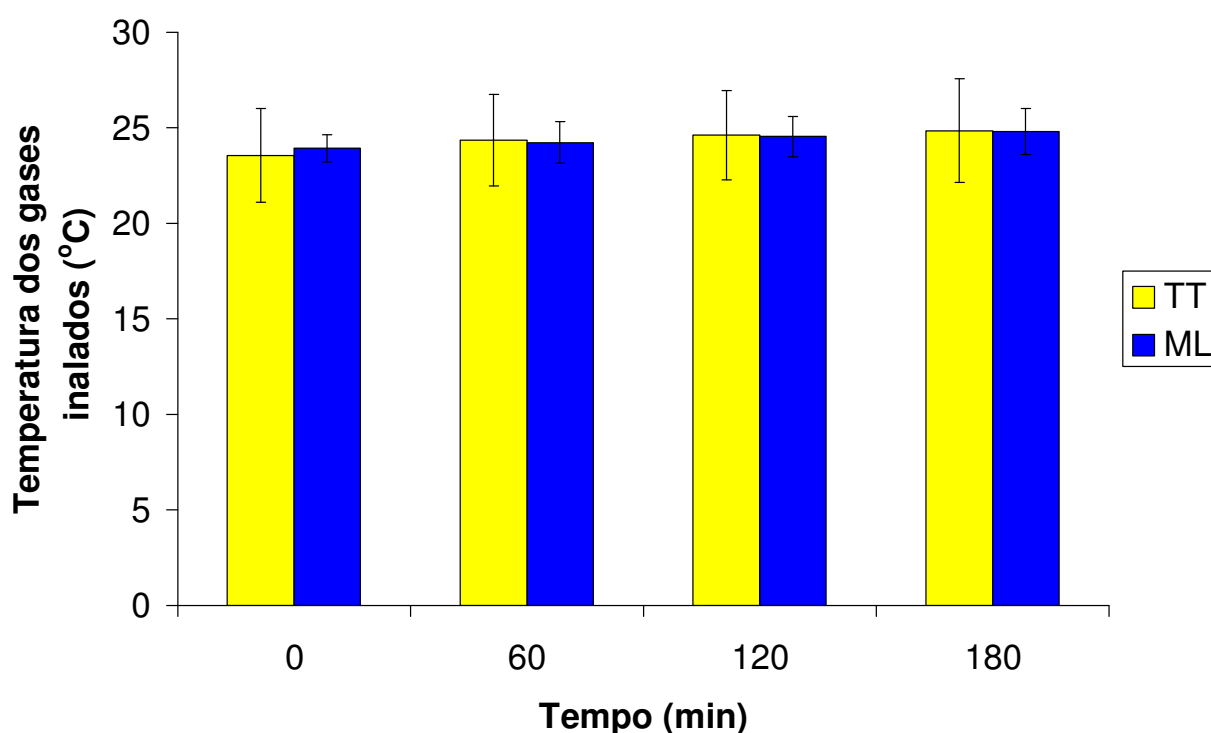


Figura 27. *Temperatura dos gases inalados (°C).* Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).

Comentário geral: os valores da temperatura dos gases inalados não se alteraram significativamente entre os grupos e ao longo do tempo nos grupos estudados.

Resultados

4.16 Umidade Relativa dos Gases Inalados

Tabela 16. *Umidade relativa dos gases inalados (%).* Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.

Tempo (min)	Grupo	
	TT	ML
0	11,9 ± 0,7	12,0 ± 1,2
60	10,5 ± 0,6	11,2 ± 1,2
120	10,7 ± 0,5	11,5 ± 1,3
180	10,6 ± 0,3	11,0 ± 1,0

(1) médias dos tempos dentro de cada grupo, não diferem estatisticamente ($p=0,22$).

(2) médias dos grupos dentro de cada tempo, não diferem estatisticamente ($p=0,22$).

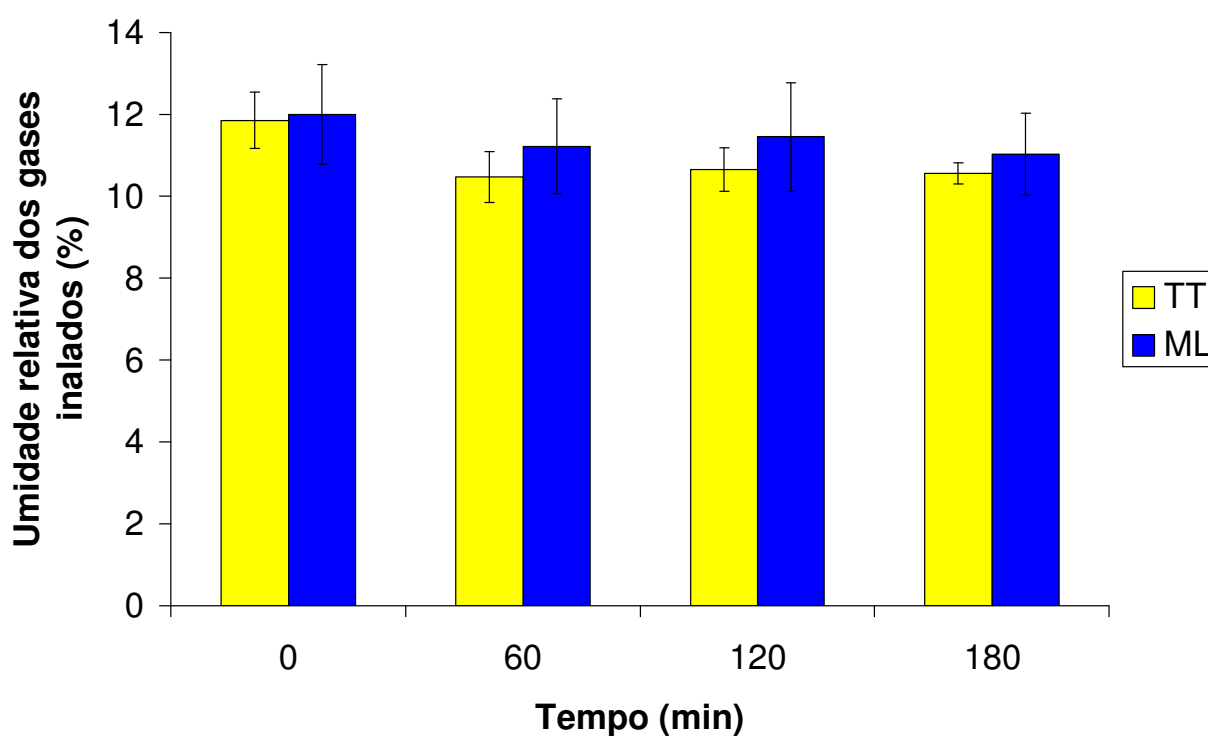


Figura 28. *Umidade relativa dos gases inalados (%).* Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).

Comentário geral: os valores da umidade relativa dos gases inalados não se alteraram significativamente entre os grupos e ao longo do tempo nos grupos estudados.

Resultados

4.17 Umidade Absoluta dos Gases Inalados

Tabela 17. *Umidade absoluta dos gases inalados ($\text{mg H}_2\text{O.l}^{-1}$). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados.*

Tempo (min)	Grupo	
	TT	ML
0	$2,5 \pm 0,3$	$2,6 \pm 0,2$
60	$2,3 \pm 0,4$	$2,5 \pm 0,2$
120	$2,4 \pm 0,4$	$2,6 \pm 0,2$
180	$2,4 \pm 0,4$	$2,5 \pm 0,2$

(1) médias dos tempos dentro de cada grupo, não diferem estatisticamente ($p=0,62$).

(2) médias dos grupos dentro de cada tempo, não diferem estatisticamente ($p=0,62$).

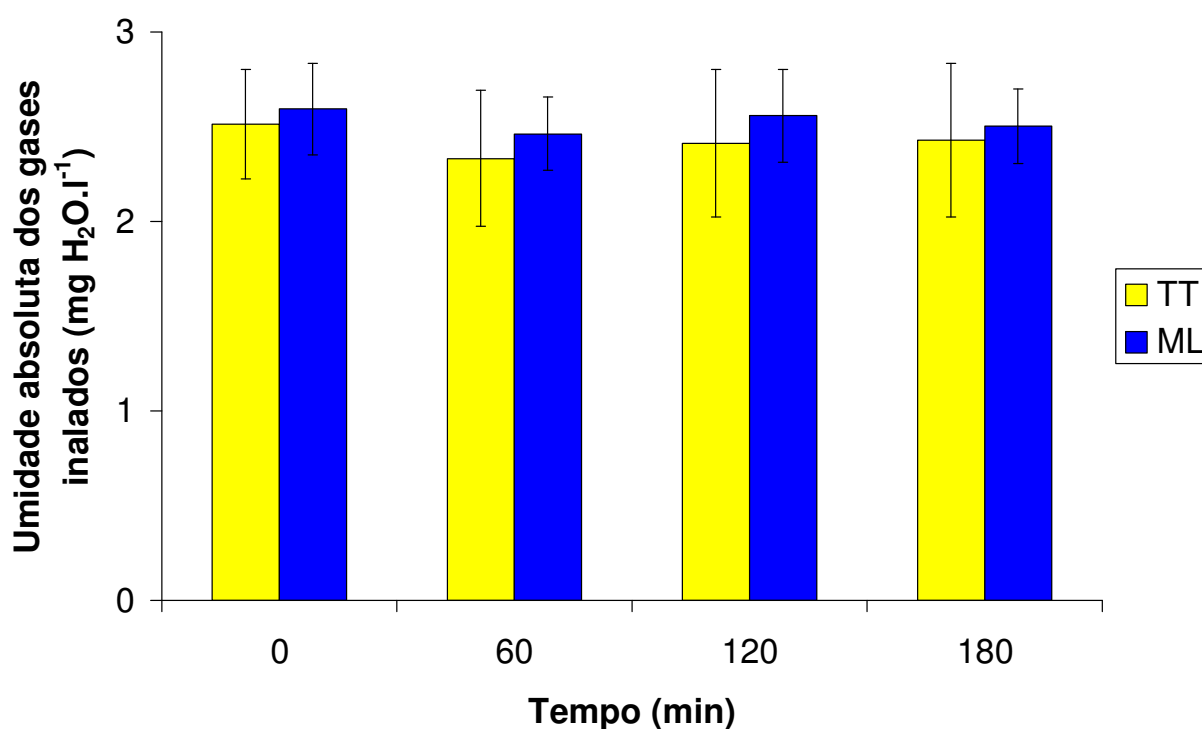


Figura 29. *Umidade absoluta dos gases inalados ($\text{mg H}_2\text{O.l}^{-1}$). Média e desvio padrão dos valores obtidos ao longo do tempo nos grupos estudados ($p>0,05$).*

Comentário geral: os valores da umidade absoluta dos gases inalados não se alteraram significativamente entre os grupos e ao longo do tempo nos grupos estudados.

4.18 Análise de Microscopia de Luz

O estudo de microscopia de luz foi realizado nas três áreas de biópsia da mucosa traqueal (TP – traquéia proximal, TM – traquéia média e TP – traquéia distal) em todos os animais incluídos neste estudo, totalizando dezoito fragmentos de cada grupo. Pela análise de microscopia de luz nota-se que, em ambos os grupos, muitas lâminas examinadas apresentavam aspecto normal, em todos os segmentos estudados, ou seja, epitélio traqueal do tipo pseudoestratificado cilíndrico ciliado, composto por células caliciformes justapostas entre células ciliadas; ambas repousando sobre uma membrana basal delicada e retilínea, ou discretamente sinuosa, em algumas áreas. Na lâmina própria, delicados feixes de fibras colágenas encontravam-se dispostos paralelamente à superfície, entre os quais haviam agrupamentos esparsos de glândulas seromucosas, alguns folículos linfóides e capilares (Figura 30). Pela coloração de hematoxilina-eosina (H&E), as fibras colágenas não se diferenciaram das fibras elásticas.

Em algumas lâminas, foram identificadas alterações histológicas em proporções discretamente distintas entre os grupos de estudo.

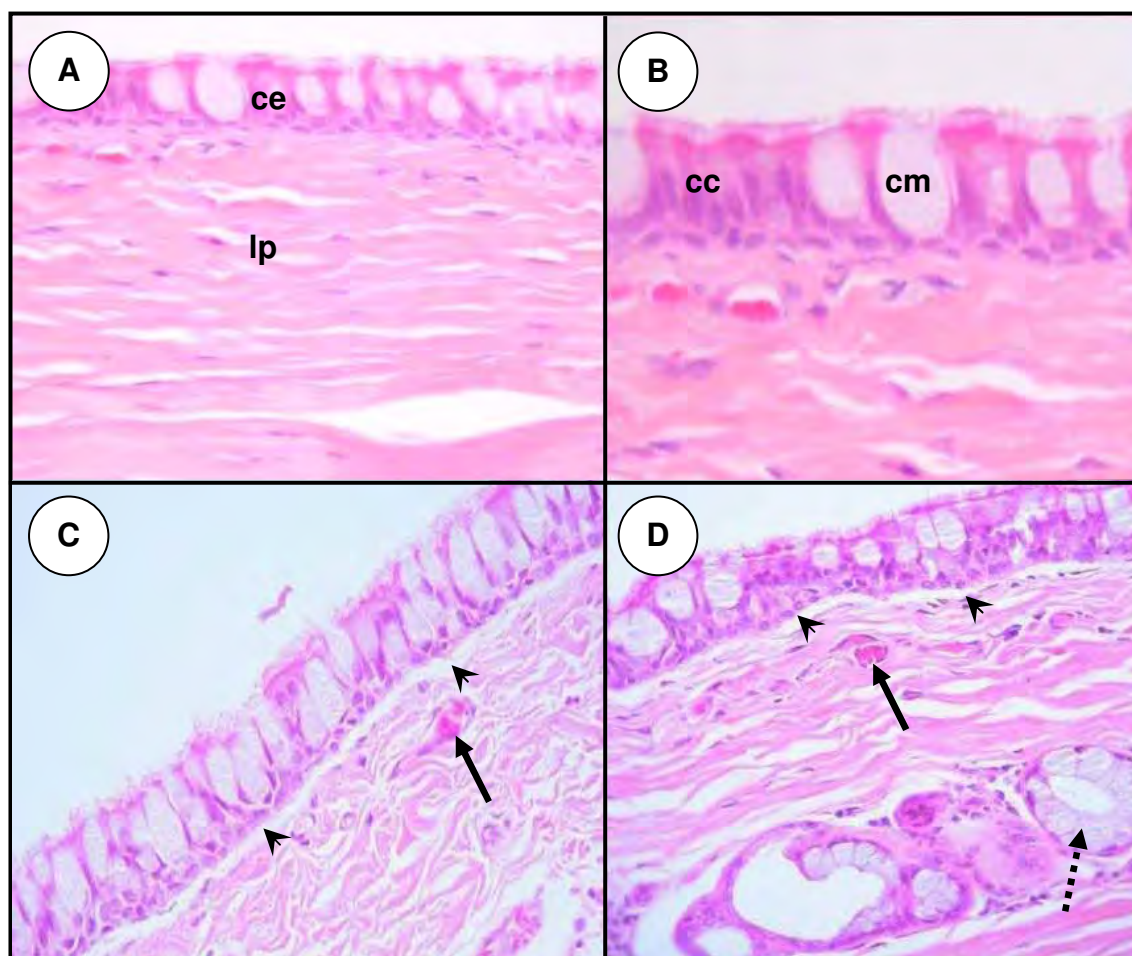


Figura 30. Microscopia de luz, epitélio traqueal normal pseudoestratificado cilíndrico ciliado (cão do grupo TT). Em A, detalhe da camada epitelial (ce) e da lâmina própria (lp) (H&E 40X); em B, detalhe das células ciliadas (cc) e das células mucosecretoras (cm) contendo secreção mucosa (H&E 60X); em C e D, detalhe da membrana basal bem delimitada (cabeças de setas), alguns capilares (setas contínuas) e glândulas seromucosas (seta descontinua) presentes na lâmina própria, assim como o tecido conjuntivo (H&E 40X).

Resultados

4.18.1 Infiltração de polimorfonucleares (PMN) no epitélio

No epitélio, algumas lâminas apresentavam infiltração variável de polimorfonucleares neutrófilos (PMN). Entretanto, a análise estatística não identificou diferença significativa desse parâmetro entre os grupos estudados (Tabela 18; Figura 31). Em nenhuma lâmina analisada foram constatadas erosões, mesmo que superficiais.

Tabela 18. *Escore histológico da infiltração de PMN no epitélio.* Valores da mediana, 1º e 3º quartis obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados.

Segmento traqueal	Grupo	
	TT	ML
TP	0,0 [0,0; 0,0]	0,0 [0,0; 0,0]
TM	0,0 [0,0; 1,0]	0,0 [0,0; 0,0]
TD	0,0 [0,0; 1,0]	0,0 [0,0; 0,0]

- (1) escores de cada segmento representados pelas medianas dentro dos grupos, não diferem estatisticamente ($p=1,00$).
- (2) escores dos grupos representados pelas medianas dentro de cada segmento, não diferem estatisticamente ($p=0,60$).

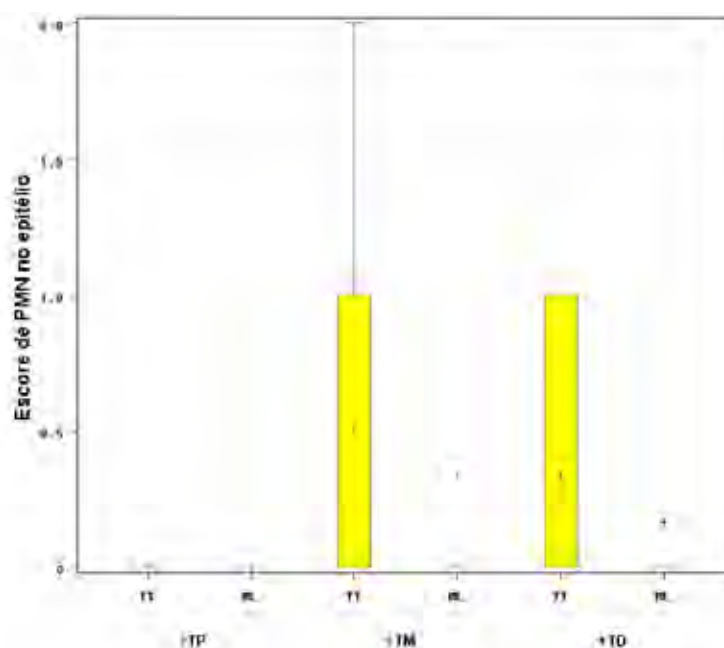


Figura 31. *Escore histológico da infiltração de PMN no epitélio.* Box plot dos valores obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados ($p>0,05$).

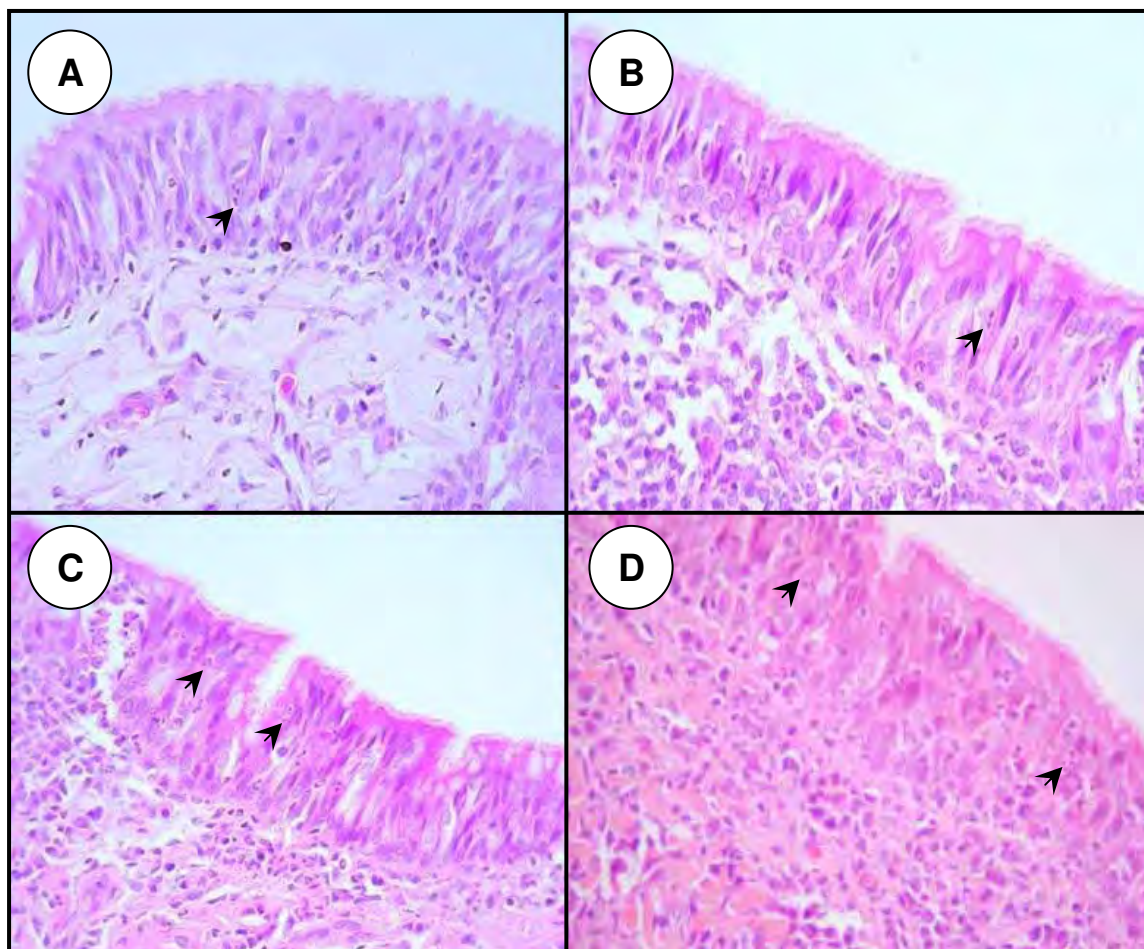


Figura 32. Microscopia de luz, infiltrado de PMN (cabecinhas de setas) no epitélio (A e B – discreto, cão do grupo ML; C e D – moderado, cão do grupo TT); H&E 40X.

Resultados

4.18.2 Infiltração de polimorfonucleares (PMN) no córion

No córion, foi observado infiltrado de polimorfonucleares neutrófilos (PMN) em várias lâminas de ambos os grupos. Entretanto, a análise estatística dos escores obtidos não identificou diferença significativa desse parâmetro entre os grupos estudados (Tabela 19; Figura 33).

Tabela 19. *Escore histológico da infiltração de PMN no córion.* Valores da mediana, 1º e 3º quartis obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados.

Segmento traqueal	Grupo	
	TT	ML
TP	0,0 [0,0; 1,0]	0,0 [0,0; 1,0]
TM	1,0 [1,0; 1,0]	0,5 [0,0; 1,0]
TD	0,5 [0,0; 1,0]	0,5 [0,0; 1,0]

- (1) escores de cada segmento representados pelas medianas dentro dos grupos, não diferem estatisticamente ($p=1,00$).
- (2) escores dos grupos representados pelas medianas dentro de cada segmento, não diferem estatisticamente ($p=0,45$).

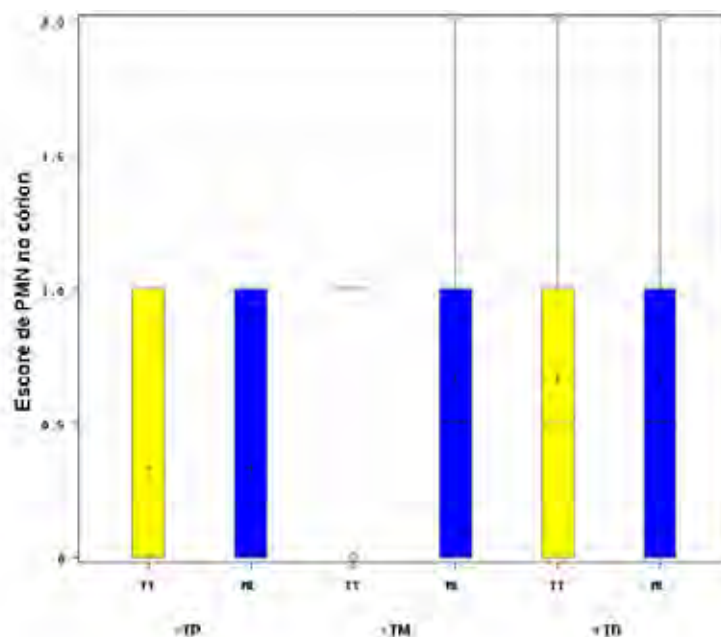


Figura 33. *Escore histológico da infiltração de PMN no córion.* Box plot dos valores obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados ($p>0,05$).

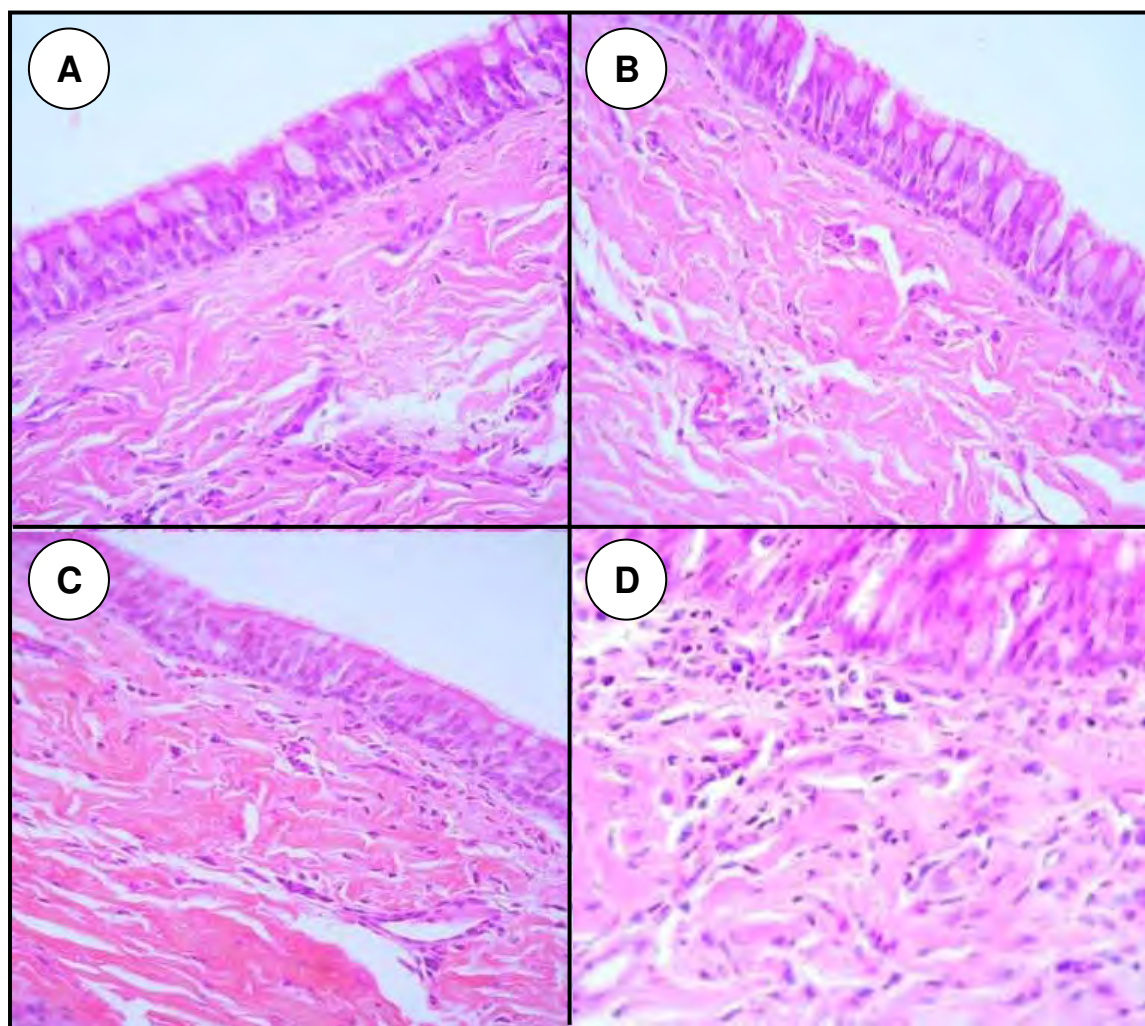


Figura 34. Microscopia de luz, infiltrado discreto de PMN na lâmina própria (A e B; H&E 40X, cão do grupo TT); e de moderada intensidade (C e D; H&E 40X e 60X, respectivamente, cão do grupo ML).

Resultados

4.18.3 Congestão

A congestão foi registrada em lâminas de ambos os grupos, com discreto predomínio no grupo TT, porém sem significância estatística (Tabela 20; Figura 35). Em nenhuma delas foi identificada hemorragia.

Tabela 20. *Escore histológico da congestão.* Valores da mediana, 1º e 3º quartis obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados.

Segmento traqueal	Grupo	
	TT	ML
TP	1,0 [1,0; 1,0]	1,0 [1,0; 1,0]
TM	2,0 [1,0; 2,0]	1,0 [1,0; 1,0]
TD	2,0 [1,0; 2,0]	2,0 [2,0; 2,0]

- (1) escores de cada segmento representados pelas medianas dentro dos grupos, não diferem estatisticamente ($p=0,69$).
- (2) escores dos grupos representados pelas medianas dentro de cada segmento, não diferem estatisticamente ($p=0,84$).

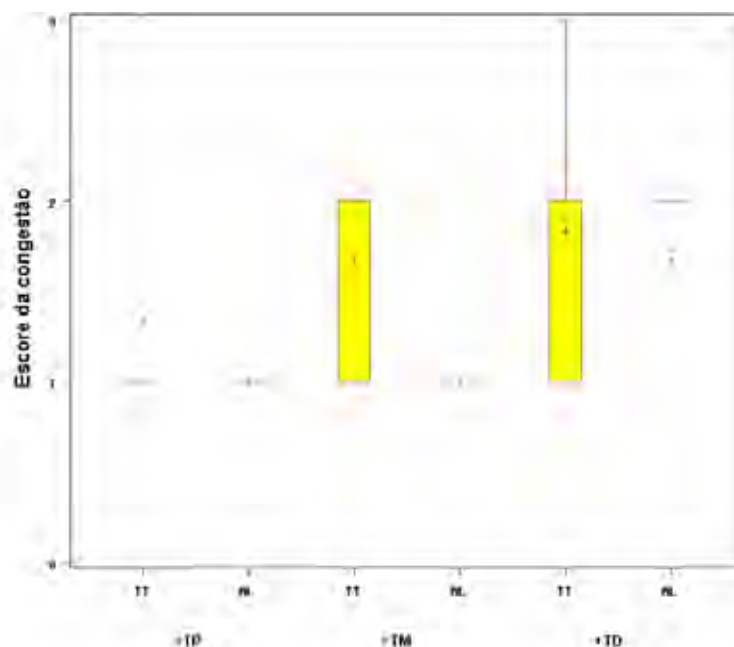


Figura 35. *Escore histológico da congestão.* Box plot dos valores obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados ($p>0,05$).

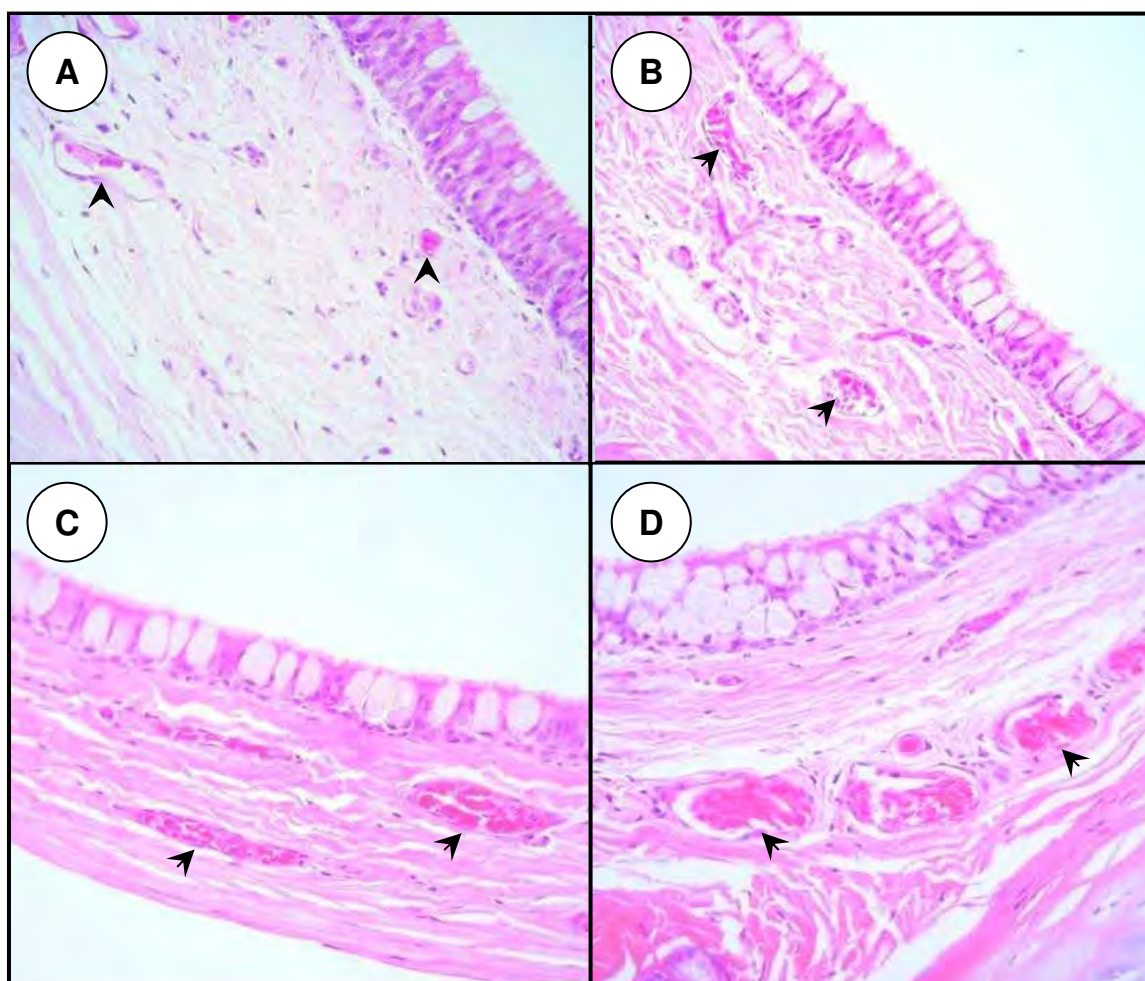


Figura 36. Epitélio traqueal: congestão (cabeças de setas) discreta em A (40X), cão do grupo ML; moderada intensidade em B (40X), cão do grupo ML; e intensa em C (40X) e D (60X), cão do grupo TT (Microscopia de luz, H&E).

4.19 Análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A mucosa traqueal, na maioria das peças examinadas, apresentou aspecto de normalidade, com cílios recobrando toda a extensão do fragmento. Os cílios apresentaram-se soltos, direcionados e com distribuição regular. Entre as células ciliadas, observaram-se algumas células caliciformes produtoras de muco (Figura 37).

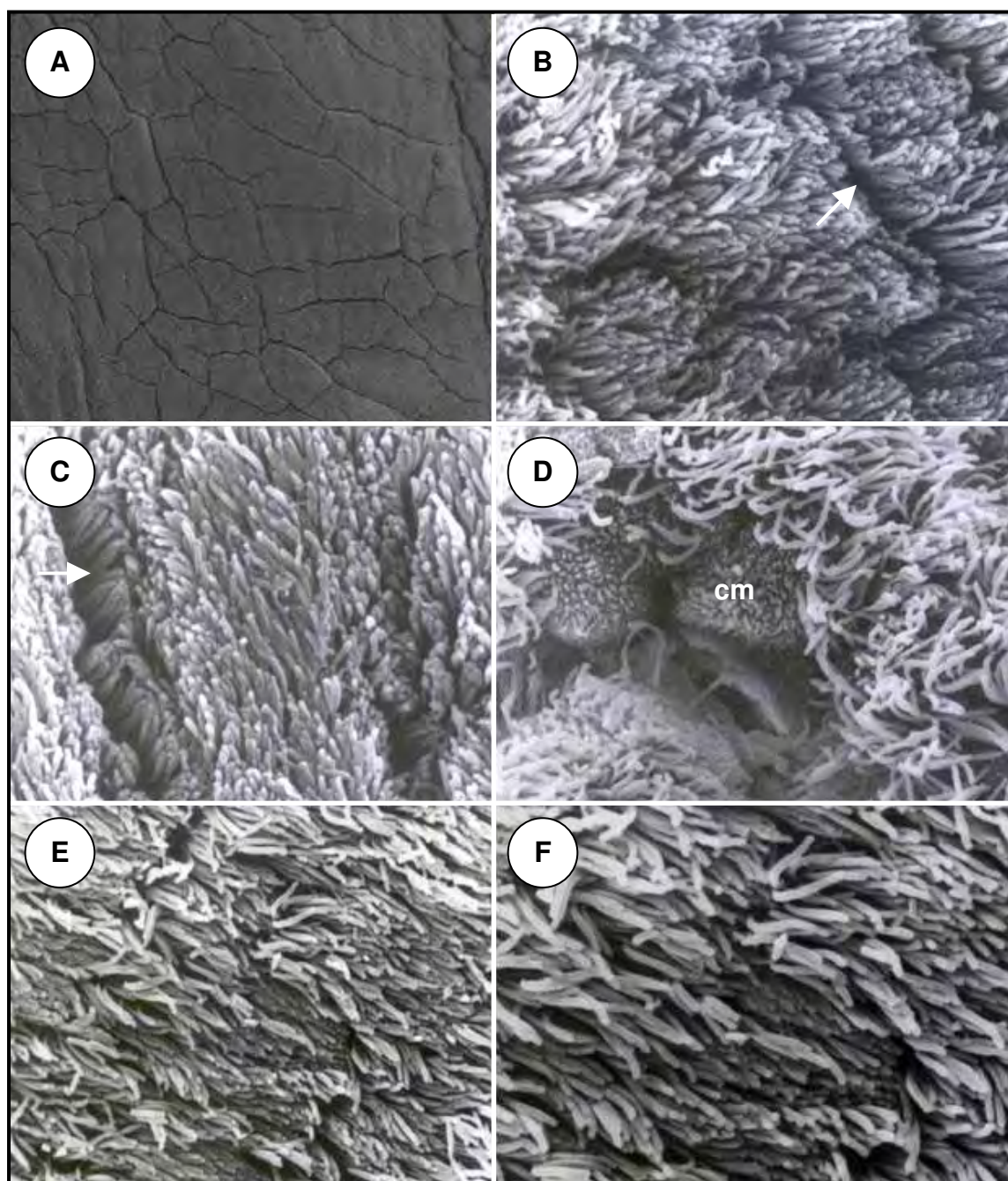


Figura 37. Epitélio traqueal normal, cão do grupo ML. A – visão do epitélio respiratório em menor aumento; B, C, D, E e F – grande quantidade de cílios soltos e orientados recobrendo totalmente a superfície mucosa; B e C – detalhe das reentrâncias normais presentes na superfície do epitélio (setas); D – detalhe de uma célula mucosecretora (cm) sem cílios, posicionada entre as células ciliadas, notar a diferença de tamanho entre os seus microvilos e os cílios das células ciliadas; E e F – detalhe da configuração normal dos cílios em maior aumento. MEV (A – 129X; B – 4.055X; C – 5.280X; D – 4.820X; E – 4.630X; F – 6.840X).

Resultados

4.19.1 Escore morfológico da microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Em alguns fragmentos, exclusivamente do grupo TT, foram identificadas pequenas alterações nos cílios, como desorganização e agrupamento ciliar. Entretanto, a análise estatística dos escores não identificou diferença significativa (Tabela 21; Figura 38). Lesões maiores, como áreas de devastação ciliar ou ulceração epitelial não foram observadas em nenhum dos fragmentos estudados.

Tabela 21. Escore morfológico da microscopia eletrônica de varredura. Valores da mediana, 1º e 3º quartis obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados.

Segmento traqueal	Grupo	
	TT	ML
TP	1,0 [0,0; 1,0]	0,0 [0,0; 0,0]
TM	1,0 [0,0; 1,0]	0,0 [0,0; 0,0]
TD	1,0 [0,0; 0,0]	0,0 [0,0; 0,0]

- (1) escores de cada segmento representados pelas medianas dentro dos grupos, não diferem estatisticamente ($p=0,83$).
- (2) escores dos grupos representados pelas medianas dentro de cada segmento, não diferem estatisticamente ($p=0,58$).

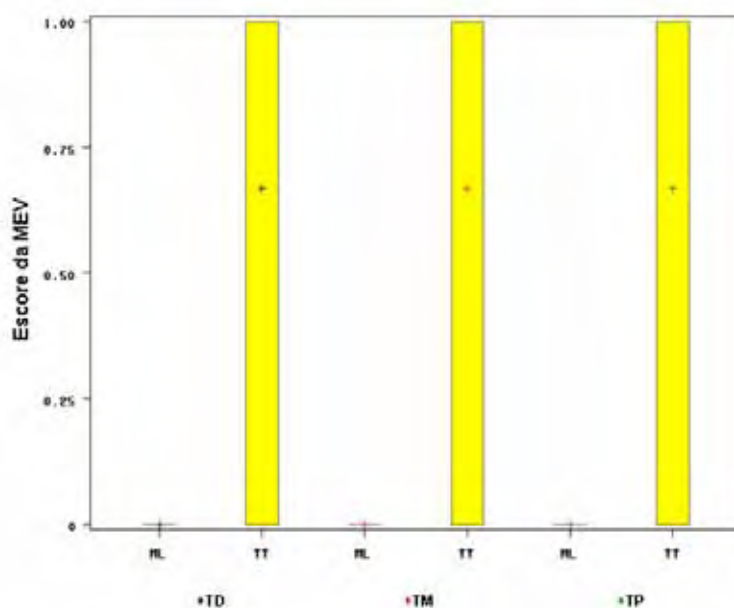


Figura 38. Escore morfológico da microscopia eletrônica de varredura. Box plot dos valores obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados ($p>0,05$).

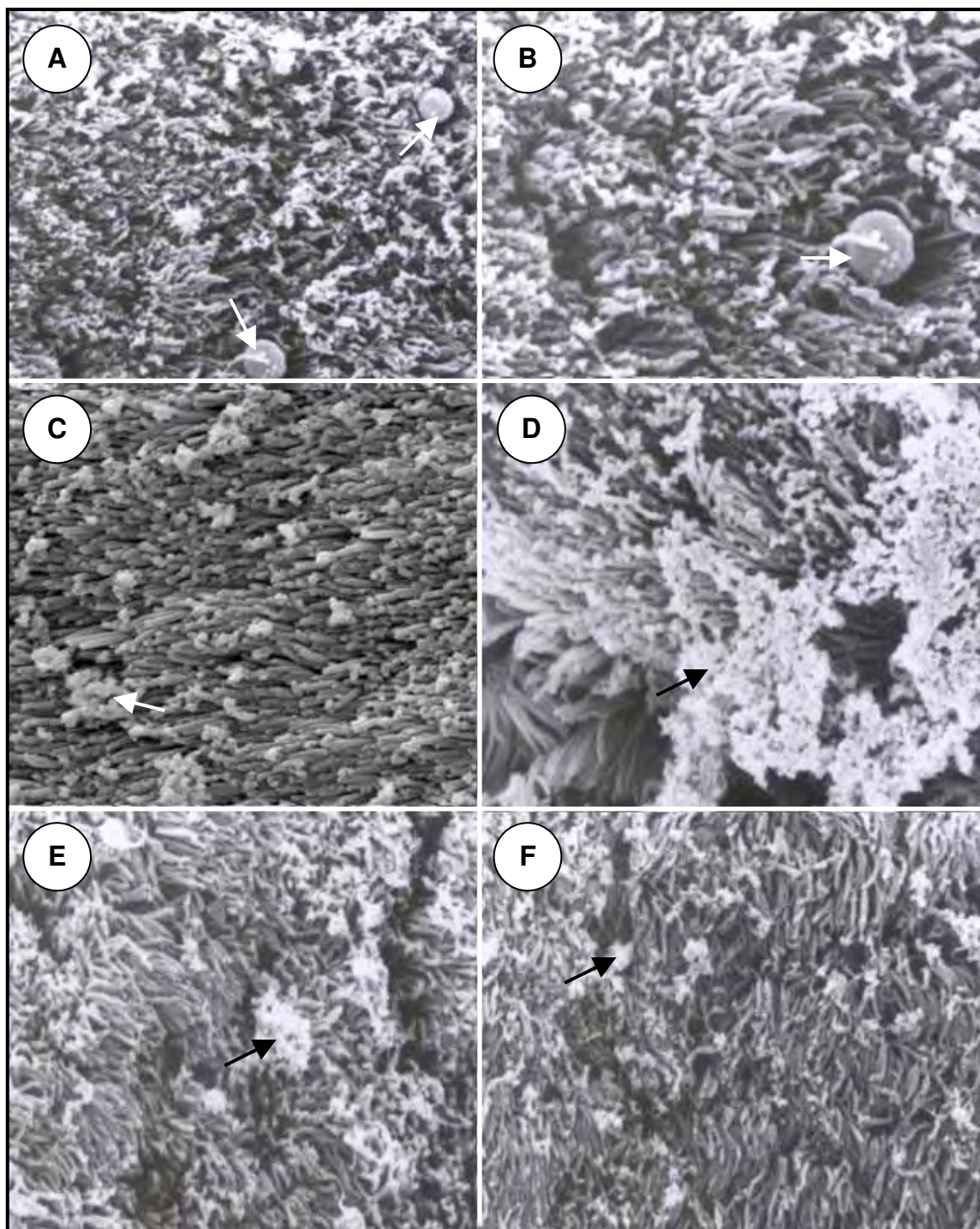


Figura 39. Epitélio traqueal, cão do grupo TT. A e B – detalhe da desorganização e desorientação dos cílios na superfície epitelial e de gota de muco (setas) com aspecto normal sendo expelida para a superfície epitelial; C e D – cílios aderidos formando pequenos agrupamentos (setas); E e F – detalhe da desorientação ciliar mais intensa, além da formação de agrupamentos (setas). MEV (A – 2.760X; B – 4.825X; C – 3.500X; D – 4.825X; E – 4.440X; F – 3.885X).

4.20 Análise de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

O estudo morfológico de microscopia eletrônica de transmissão foi realizado nas três áreas de biópsia da mucosa traqueal (TP – traquéia proximal, TM – traquéia média e TP – traquéia distal) em três animais de cada grupo do estudo, totalizando nove fragmentos do grupo TT e nove do grupo ML. A mucosa traqueal, na maioria das peças examinadas, apresentou aspecto de normalidade. Na camada epitelial, destacaram-se as células ciliadas, as células caliciformes ou mucosecretoras, as células basais e as células em escova ou *brush cells*. As células ciliadas continham cílios inseridos nos seus corpúsculos basais e distribuídos homogeneamente na superfície celular, citoplasma rico em mitocôndrias, as quais se encontravam dispostas, principalmente, na porção apical, junto aos corpúsculos basais, e demais organelas como retículo endoplasmático rugoso (RER), complexo de golgi e ribossomos. As células caliciformes, com seu formato em pêra, apresentavam numerosos grânulos secretórios na região da teca, permanecendo o núcleo e as outras organelas na região basal. Entre as células ciliadas e caliciformes na superfície do epitélio, observavam-se, em menor número células em escova ou *brush cells*, pequenas células com microvilos altos na membrana celular apical, mas sem cílios. As células basais indiferenciadas localizavam-se sobre a membrana basal em disposição perpendicular à mesma, não atingindo o lúmen, apresentavam dimensões menores, e seu núcleo volumoso continha cromatina descondensada. As células epiteliais mostravam-se justapostas, com junções intercelulares do tipo interdigitação e desmossomos. A membrana basal apresentava-se delgada e discretamente sinuosa. Na lâmina própria, identificavam-se feixes de fibras colágenas e fibras elásticas, as quais se coravam mais intensamente pelo ácido tânico, e alguns capilares (Figura 40).

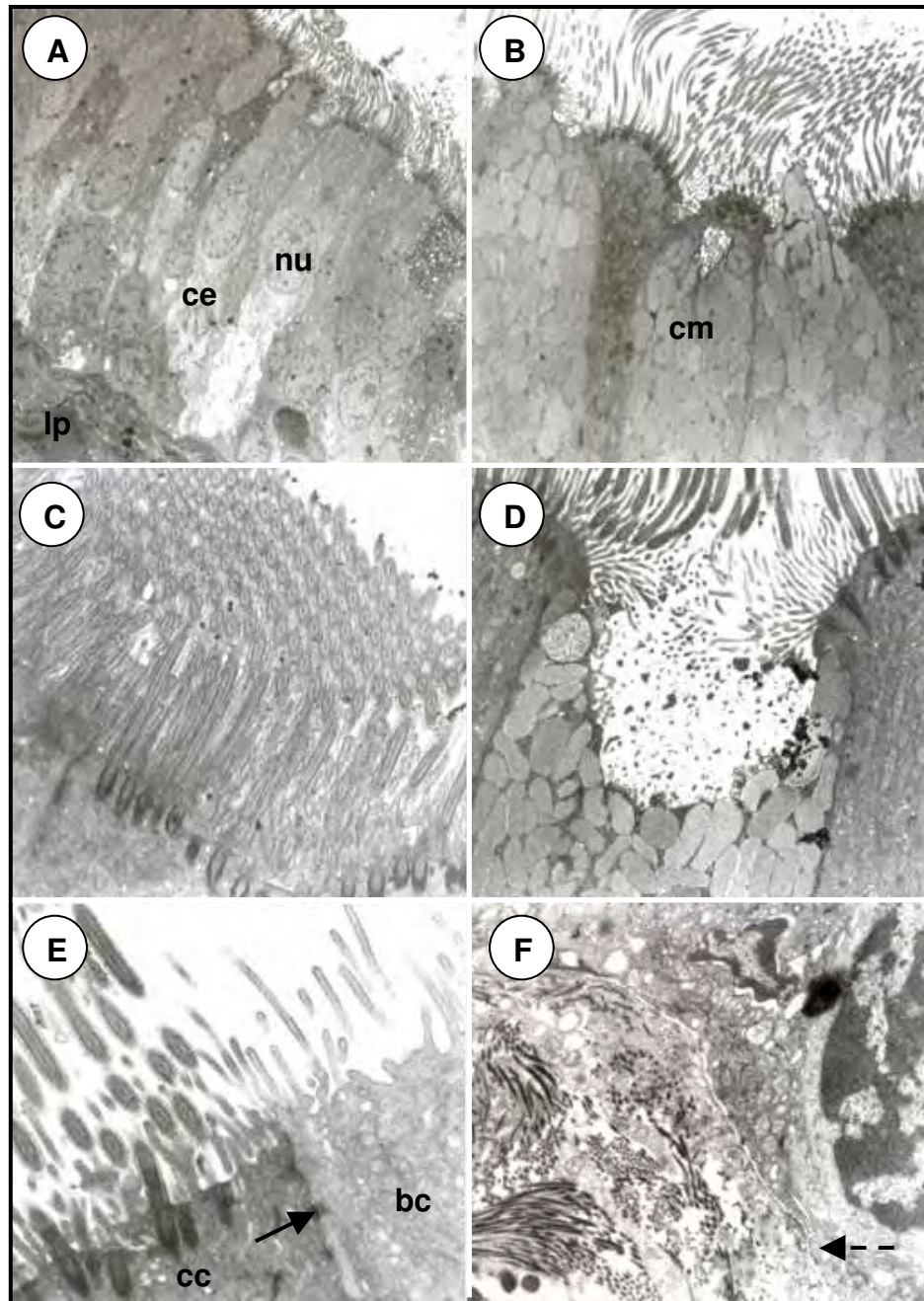


Figura 40. Epitélio traqueal normal, cão do grupo ML. A – detalhe da camada epitelial (ce), células com núcleos ovóides (nu), posicionados na região basal da mesma, e lâmina própria (lp); B – destaque para as células mucosecretoras (cm) contendo grânulos secretórios na região apical; C – inúmeros cílios soltos e orientados em cortes transversais e longitudinais, implantados nos corpúsculos basais; D – célula mucosecretora abrindo-se no lúmen; E – célula em escova ou *brush cells* (bc) com microvilos altos ao lado de uma célula ciliada (cc), detalhe da junção tipo desmossomo (seta contínua) entre as células; F – membrana basal delicada e contínua (seta descontinua), lâmina própria com fibras colágenas e elásticas. MET (A – 2.450X; B – 5.750X; C – 17.000X; D – 13.250X; E – 23.000X; F – 17.000X).

Resultados

4.20.1 Escore morfológico da microscopia eletrônica de transmissão (MET)

Em alguns fragmentos analisados, foram identificadas alterações ultraestruturais como desorganização ciliar, alargamento de junções celulares, infiltrado de células inflamatórias, e até mesmo vacuolização citoplasmática e alteração do padrão morfológico normal dos núcleos. Essas alterações foram mais relevantes no grupo TT, sendo identificada diferença estatística significativa entre os grupos (Tabela 22; Figura 41).

Tabela 22. Escore morfológico da microscopia eletrônica de transmissão. Valores da mediana, 1º e 3º quartis obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados.

Segmento traqueal	Grupo	
	TT	ML
TP	1,0 [0,2; 1,8] A ⁽²⁾	0,0 [0,0; 0,8] B
TM	2,0 [1,2; 2,0] A	0,0 [0,0; 0,0] B
TD	1,0 [0,2; 1,8] A	0,0 [0,0; 0,0] B

- (1) escores de cada segmento representados pelas medianas dentro dos grupos, não diferem estatisticamente ($p=0,40$).
- (2) escores dos grupos representados pela mediana dentro de cada segmento, seguidos de diferentes letras maiúsculas, diferem estatisticamente ($p=0,015$).

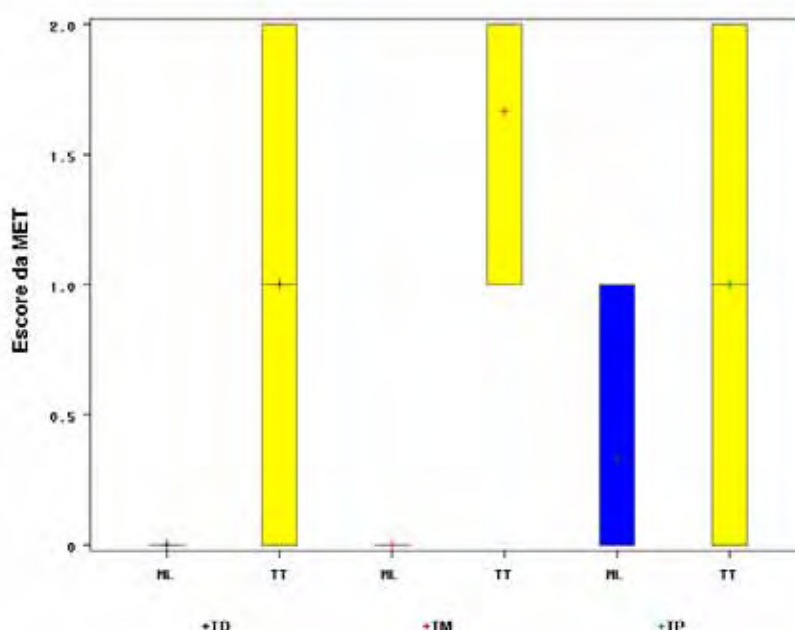


Figura 41. Escore morfológico da microscopia eletrônica de transmissão. Box plot dos valores obtidos ao longo dos segmentos traqueais nos grupos estudados (grupo TT > grupo ML, $p<0,05$).

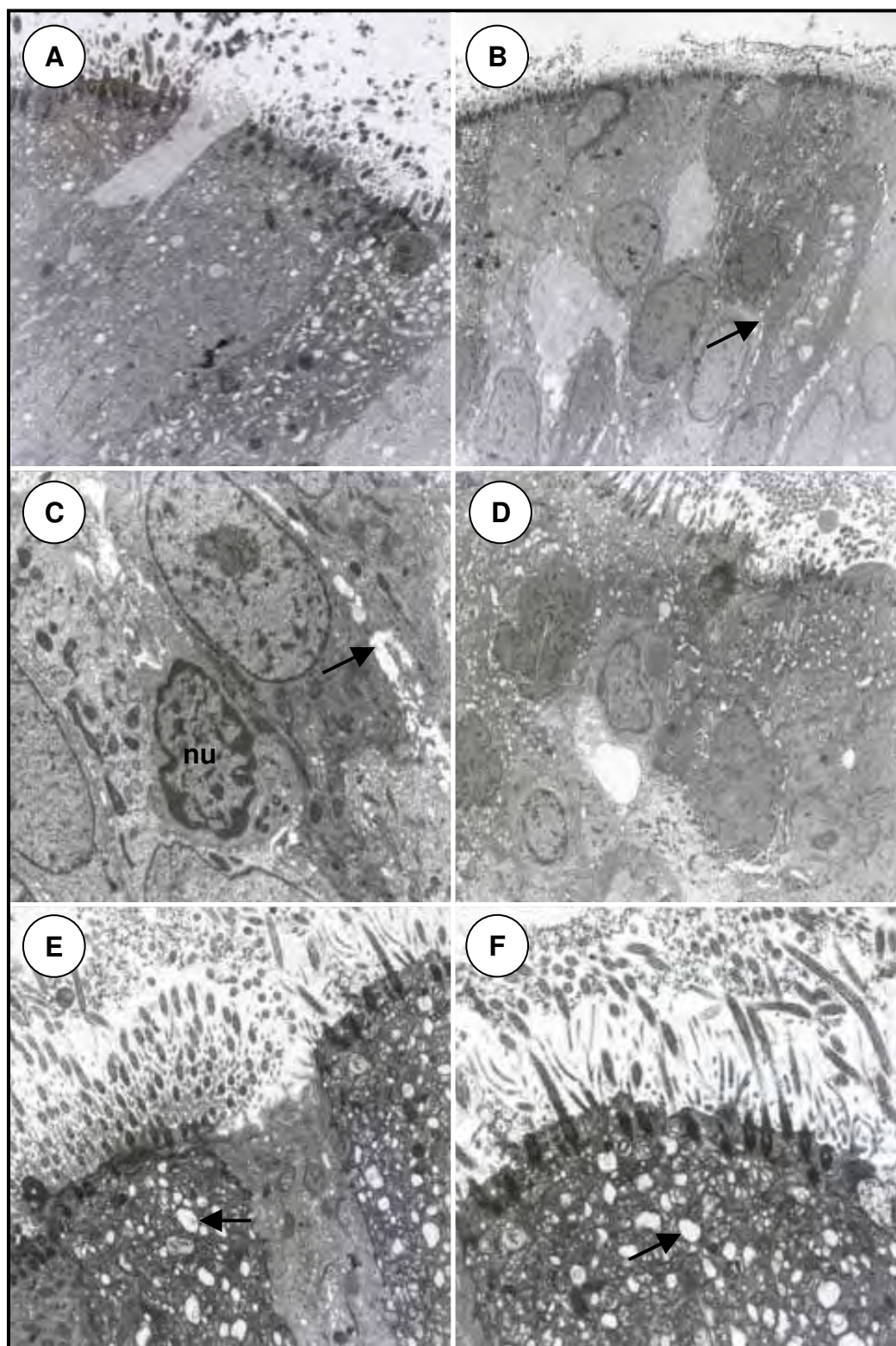


Figura 42. Epitélio traqueal, cão do grupo TT. A – desorientação e rarefação ciliar na superfície epitelial; B, C e D – alargamento de junções celulares (setas), núcleo picnótico com cromatina condensada (nu); E e F – detalhe para vacuolização citoplasmática (setas), rarefação e desorganização ciliar. MET (A – 7.750X; B – 3.250X; C – 5.750X; D – 7.750X; E – 9.750X; F – 13.250X).

5 DISCUSSÃO

5.1 Peso, Comprimento e Sexo dos Animais

Foram utilizados, no experimento, cães de ambos os sexos, com peso entre 15 e 27 kg, pois nestes as dimensões do segmento faringolaríngeo permitem boa adaptação da máscara laríngea número 4, de acordo com estudos anteriores (Braz *et al.*, 1999; Martins *et al.*, 2000). Não foram detectadas diferenças significativas entre os grupos com relação aos atributos peso, comprimento e sexo dos animais, confirmando a homogeneidade na constituição dos grupos de estudo.

5.2 Pressão Arterial Média e Frequência de Pulso

Foi observada estabilidade hemodinâmica em ambos os grupos, dados estes confirmados pelos valores adequados de pressão arterial média e frequência de pulso, os quais não se alteraram, significativamente, tanto ao longo do tempo como entre os grupos estudados.

Embora o tubo traqueal ainda seja considerado por muitos como o método “*gold standard*” para manutenção da permeabilidade das vias aéreas durante anestesia e em situações emergenciais, a utilização de sondas supraglóticas alternativas, como a máscara laríngea, vem aumentando, progressivamente, em virtude da não necessidade de laringoscopia para a sua inserção, causando menor estresse e repercussões hemodinâmicas ao organismo, fato este extremamente benéfico, particularmente nos pacientes com doenças cardiovasculares (Dahaba *et al.*, 2006). A inserção da máscara laríngea produz menor repercussão hemodinâmica, devido a menor liberação de catecolaminas, do que a intubação traqueal. Além disso, a estimulação de proprioceptores durante a realização da laringoscopia, para inserção do tubo traqueal, induz à hipertensão arterial, taquicardia e elevação nos níveis de

Discussão

catecolaminas, proporcional à intensidade do estímulo realizado na base da língua. As alterações hemodinâmicas e a liberação de catecolaminas podem ser duas vezes mais intensas durante a inserção do tubo traqueal quando comparadas à da máscara laríngea (Oczenski *et al.*, 1999).

Bennett *et al.* (2004) realizaram estudo prospectivo randomizado em 27 pacientes com doença coronariana durante a cirurgia de revascularização, comparando a inserção do tubo traqueal à da máscara laríngea, e demonstraram menor elevação nos níveis pressóricos, bem como da frequência cardíaca com a utilização da máscara laríngea, garantindo melhor estabilidade cardiovascular, sem necessidade de intervenção farmacológica.

Kihara *et al.* (2003), comparando os efeitos hemodinâmicos da laringoscopia e intubação aos da inserção da máscara laríngea em pacientes normotensos e hipertensos, concluíram que a resposta cardiovascular foi atenuada com a utilização da máscara laríngea apenas no grupo de indivíduos hipertensos.

No presente estudo, os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico, anestésico venoso do grupo dos oxibarbituratos. A escolha do pentobarbital sódico deveu-se à sua ampla utilização em anestesia de experimentação animal, permitindo plano anestésico seguro e adequado, principalmente quando utilizado sob infusão contínua, evitando assim efeitos hemodinâmicos indesejáveis (Nascimento *et al.*, 1995; Van der Linden *et al.*, 2000; Chiba & Tsuboi, 2001). Além disso, as determinações hemodinâmicas foram feitas em momentos distantes da inserção do tubo traqueal e da máscara laríngea, com a finalidade de verificar a estabilidade desses parâmetros ao longo do estudo e não para constatar possíveis alterações resultantes da inserção da cânula.

5.3 Frequência Respiratória, Volume Corrente, Saturação Periférica de Oxihemoglobina, Pressão Expiratória Final de CO₂ e Pressão Inspiratória

Uma das preocupações iniciais com a utilização da máscara laríngea foi a possibilidade de escape de ar sem a manutenção de selo adequado, com prejuízo dos parâmetros respiratórios, aliado ao risco de aspiração de secreções para traquéia e pulmões. Essa restrição à sua utilização foi, ao longo dos anos, sendo reconsiderada, tendo em vista as inúmeras publicações com o emprego desse tipo de sonda em diversos procedimentos cirúrgicos, como obstétricos e gastrointestinais, em adultos e crianças (Maltby *et al.*, 2002; 2003; Lim *et al.*, 2007; Sinha *et al.*, 2007), e ainda em cirurgias otorrinolaringológicas e de cabeça e pescoço, os quais, comumente, cursam com manipulação e sangramento nas vias aéreas (Brimacombe & Berry, 1995; Hatcher & Stack, 1999; Rehberg *et al.*, 2007; Cheong *et al.*, 2008; Martin-Castro & Montero, 2008). Esses autores têm registrado parâmetros respiratórios dentro da normalidade com a utilização da máscara laríngea, confirmando que a mesma garante selo adequado. Particularmente nas crianças, a única ressalva, segundo Flick *et al.* (2008), seria a utilização da máscara laríngea na vigência de infecções das vias aéreas ou infecção recente, predispondo maior incidência de laringoespasmo.

Os resultados dos parâmetros respiratórios no presente estudo confirmaram a eficácia da máscara laríngea na manutenção da permeabilidade das vias aéreas com selo adequado, podendo-se observar que, tanto nos animais que utilizaram sondas endotraqueais convencionais (Grupo TT) como nos animais ventilados com a máscara laríngea (Grupo ML), foram detectados valores muito próximos e satisfatórios de frequência respiratória, volume corrente, saturação periférica de oxihemoglobina e pressão expiratória final de CO₂, sem alterações significativas desses atributos ao longo dos momentos do experimento.

Com relação à pressão inspiratória, valores discretamente inferiores foram registrados nos animais do grupo TT logo no momento inicial do experimento, aumentando

significativamente ao longo do tempo neste grupo; entretanto, em nenhum momento, foram observadas reduções importantes nos níveis da saturação periférica de oxihemoglobina. A obtenção de valores adequados e estáveis da pressão inspiratória no grupo ML comprova que não houve comprometimento do selo nem aumento da resistência pulmonar nos animais ventilados com a máscara laríngea. Por outro lado, o aumento progressivo dos valores da pressão inspiratória apenas nos animais ventilados com tubo traqueal, ao longo do experimento, poderia ser atribuído à maior resistência pulmonar, secundária à exposição das vias aéreas inferiores a gases sob piores condições de aquecimento e umidificação, uma vez que esses resultados não foram observados nos animais ventilados com a máscara laríngea.

5.4 Temperatura Timpânica

A hipotermia durante anestesia pode predispor às alterações cardiovasculares, como arritmia e bradicardia, além de aumento no consumo de oxigênio e até mesmo hipóxia tecidual, com conseqüente acidose metabólica (Sessler, 1990). Torna-se, assim, importante o controle da temperatura corpórea durante os procedimentos anestésicos. Para esta finalidade, durante todo o experimento, os animais foram aquecidos com manta térmica descartável, também utilizada na rotina hospitalar, tanto nas salas cirúrgicas como na recuperação anestésica. A eficácia desse método na prevenção da hipotermia durante anestesia tem sido comprovada (Vanni *et al.*, 2003).

Durante procedimentos cirúrgicos, o paciente é vulnerável a hipotermia facilitada por vários fatores, como a ação depressiva central dos agentes anestésicos sobre os centros hipotalâmicos termorreguladores, a exposição ao ar condicionado na sala cirúrgica, a infusão de fluidos não aquecidos, a exposição de vísceras a baixas temperaturas do ar ambiente, a utilização de aparelhos de ventilação mecânica sem sistema de aquecimento dos gases inalados, e o uso de substâncias voláteis na assepsia, dentre outros fatores. Na tentativa de se

evitar a hipotermia, além do uso das mantas térmicas conectadas a aquecedores de ar, medidas adicionais têm sido preconizadas como aquecimento dos fluidos a serem infundidos e uso de umidificadores aquecidos e de permutadores de calor e de umidade acoplados ao sistema de ventilação (Bisinotto *et al.*, 1999; Vanni *et al.*, 2003). A manta térmica foi utilizada no presente experimento, pois embora não fosse possível enriquecer os gases inalados com calor e umidade, era preciso evitar a hipotermia.

De acordo com Sessler (1990), a temperatura timpânica e a temperatura esofágica inferior são bons indicadores da temperatura central. Sendo assim, nesta pesquisa, optou-se pelo registro da temperatura timpânica por ser método prático, confiável e não invasivo, além de evitar a presença do termômetro próximo ao segmento avaliado da via aérea, no caso de obtenção da temperatura esofágica inferior.

Os valores da temperatura timpânica dos animais obtidos ao longo do experimento mostraram-se estáveis e próximos da normalidade (38 – 39°C) em ambos os grupos, não apresentando diferença estatística significativa.

5.5 Temperatura, Umidade Relativa e Umidade Absoluta do Ar Ambiente

Perdas calóricas durante a anestesia podem ocorrer por condução, evaporação, convecção e radiação, sendo estas duas últimas responsáveis por 70 a 80% da perda total de calor. Neste contexto, é de interesse assinalar que parece haver correlação linear entre os valores da temperatura ambiente e os da temperatura do paciente sob procedimento anestésico (Tollofsrud *et al.*, 1984). Estes dados mostram a importância de se fazer o registro e o controle da temperatura ambiente.

No presente estudo, todos os experimentos foram realizados numa mesma época do ano. Assim, os animais foram expostos a condições climáticas ambientais muito semelhantes e satisfatórias, ou seja, temperatura ambiente ao redor de 25°C, umidade relativa próxima aos

60% e umidade absoluta entre 12 e 14 mg H₂O.l⁻¹, condições estas imprescindíveis para o estudo da real influência da diferença no condicionamento dos gases inalados sobre a mucosa traqueal. Não houve diferença estatística significativa entre os dois grupos nestes parâmetros.

5.6 Temperatura, Umidade Relativa e Umidade Absoluta dos Gases Inalados

Os valores da temperatura dos gases inalados permaneceram, durante todo o experimento, ao redor de 24 °C, sem diferença estatística significativa entre os grupos, valores esses muito próximos aos obtidos para a temperatura ambiente. Segundo Torres (1995), parece haver boa correlação entre a temperatura ambiente e a temperatura dos gases inalados, devido ao baixo isolamento térmico dos tubos e conexões que conduzem o ar inspirado até o paciente.

Em relação à umidade dos gases inalados, há que se considerar não ter sido utilizado, intencionalmente, suporte adicional de umidificação nem sistema de reinalação; em consequência, os valores deste atributo mantiveram-se baixos, sendo registrados níveis de umidade relativa entre 10% e 12% e de umidade absoluta em torno de 2,5 mg H₂O.l⁻¹. Em experimento prévio, apesar de valores discretamente mais elevados de umidade dos gases inalados, tanto relativa (20%) como absoluta (6 mg H₂O.l⁻¹), foi demonstrado, quantitativamente, a real participação segmentar da laringe e traquéia proximal no processo de condicionamento dos gases, com valores, significativamente, mais elevados de umidade absoluta dos gases na traquéia dos animais ventilados com máscara laríngea (23 mg H₂O.l⁻¹), quando comparados aos ventilados com tubo traqueal (14 mg H₂O.l⁻¹) (Dias *et al.*, 2005).

O fato de a umidade dos gases inalados ter sido inferior à do ar ambiente pode ser atribuído tanto ao alto fluxo de gases frescos utilizado na ventilação dos animais (5 L.min⁻¹), como também ao sistema de ventilação sem reinalação dos gases (Gorayb *et al.*, 2004). Em estudo prévio realizado com pacientes anestesiados, Henriksson *et al.* (1997) analisaram as

diferenças na temperatura e na umidade dos gases inalados utilizando diferentes fluxos de gases (menores que 1, 2 e 5 L.min⁻¹). Esses autores observaram valores mais baixos de temperatura e de umidade dos gases inalados no grupo de indivíduos ventilados com alto fluxo de gases (5 L.min⁻¹), indicando que este fluxo ventilatório propicia resfriamento e ressecamento dos gases inalados.

5.7 Resultados Morfológicos

Um dos benefícios da utilização da máscara laríngea, até pouco tempo desconhecido, é o de facilitar as trocas de calor e de umidade entre os gases inalados e a mucosa do segmento laringotraqueal, a qual permanece livre do contato com a cânula, uma vez que este dispositivo fica posicionado na região supraglótica. Essa vantagem foi, previamente, demonstrada por meio da determinação quantitativa de valores mais elevados de umidade e temperatura do ar traqueal em cães ventilados com a máscara laríngea, quando comparados aos ventilados com tubo traqueal (Dias *et al.*, 2005). Entretanto, ao término desse experimento, não ficou claro se esses valores de calor e de umidade, acrescidos aos gases inalados, eram suficientes para proteger o epitélio respiratório de eventuais danos provocados pela inalação de gases pouco condicionados.

Essa dúvida poderia ser esclarecida por meio de análises morfológicas complementares do epitélio respiratório exposto a essas condições. No entanto, nesse primeiro trabalho, esse tipo de estudo não foi possível, dada a necessidade constante de manipulação das vias aéreas, incluindo a realização de traqueotomia, através da qual foram realizadas as coletas das amostras do ar traqueal e aferições das medidas de temperatura e de umidade. O orifício da traqueotomia era mantido ocluído durante todo o experimento, utilizando-se uma esponja de látex obliteradora. Esta, no entanto, era removida e substituída por cânula de traqueotomia inserida em sentido retrógrado, com sua extremidade distal voltada para a região

Discussão

cefálica do animal, sendo insuflado o seu balonete de forma a garantir coleta exclusiva do ar inalado, sem contaminação da amostra pelo ar expirado.

No estudo atual, a análise morfológica da via aérea foi o principal objetivo e, sendo assim, o segmento traqueal não foi manipulado até o término do experimento, permitindo as avaliações microscópicas das áreas de biópsia.

O estudo morfológico abrangeu fragmentos de biópsia da traquéia proximal, média e distal, correspondendo aos locais expostos aos gases inalados, abaixo da extremidade distal das cânulas. De acordo com Hare (1986), a traquéia do cão possui em torno de 40 anéis cartilagosos, grande parte deles dispostos na região cervical, facilitando assim o acesso e a realização das biópsias. A traquéia proximal corresponde aos primeiros anéis (5º ou 6º anéis), a traquéia média ao redor do vigésimo anel traqueal e a traquéia distal entre os 38º e o 39º anéis traqueais.

Diversas pesquisas experimentais têm registrado danos ao epitélio respiratório pela inalação de gases pouco condicionados. Entretanto, em muitas situações, são relatadas extensas lesões do trato respiratório pela exposição dos animais à inalação de gases sob condições críticas de calor e de umidade por longos períodos, situações estas pouco observadas na prática clínica diária (Williams *et al.*, 1996; Bisinotto *et al.*, 1999).

5.7.1 Microscopia de luz

O experimento teve duração de três horas, sendo assim, os parâmetros histológicos analisados foram relacionados ao possível desenvolvimento de processo inflamatório agudo, como a migração de polimorfonucleares neutrófilos (PMN) para o epitélio e córion, congestão e hemorragia.

A inflamação é uma reação complexa, que consiste de respostas vasculares, migração e ativação de leucócitos. A principal característica do processo é a vasodilatação, que leva ao

Discussão

acúmulo de fluido e migração de leucócitos para os tecidos extravasculares. A resposta inflamatória é fundamentalmente um mecanismo de defesa, cujo objetivo final é a eliminação da causa inicial da lesão celular e das conseqüências de tal lesão (processo de reparo tecidual). Diversos tecidos e células estão envolvidos nessas reações, incluindo o fluido e as proteínas do plasma, neutrófilos, monócitos, linfócitos, eosinófilos, basófilos e plaquetas (Montenegro & Fecchio, 1999).

A inflamação aguda inicia-se rapidamente, em alguns segundos ou minutos, e tem duração relativamente curta de minutos, horas ou dias. Apresenta como principais características a exsudação de fluidos e proteínas plasmáticas, e a migração de leucócitos, predominantemente neutrófilos. Possui três estágios principais, sendo eles: alterações no calibre dos vasos, com aumento do fluxo sangüíneo; alterações estruturais na microcirculação (com conseqüente extravasamento de proteínas plasmáticas); e migração e acúmulo de leucócitos da microcirculação no foco da lesão. O edema intercelular, característica do processo inflamatório agudo, corresponde ao excesso de fluido no interstício ou nas cavidades serosas, sendo composto tanto por exsudato (fluido inflamatório extravascular com alta concentração de proteínas e fragmentos celulares) como por transudato (fluido com pequeno teor protéico).

Normalmente, as proteínas plasmáticas e as células circulantes estão represadas no interior dos vasos e se movem na direção do fluxo sangüíneo. Na inflamação, os vasos sofrem várias alterações que visam facilitar o movimento de proteínas plasmáticas e células sangüíneas da circulação para o local da agressão. Essas alterações obedecem à seguinte seqüência de eventos: inicialmente ocorre vasodilatação, especialmente das arteríolas (uma das primeiras manifestações da inflamação aguda), seguida da abertura de novos leitos capilares (induzida pela ação na musculatura lisa vascular de vários mediadores, especialmente a histamina, as prostaglandinas e o óxido nítrico), e aumento substancial na

Discussão

permeabilidade vascular, extravasamento de fluido rico em proteínas para o tecido extravascular, aumento na concentração de hemácias no interior dos vasos de menor calibre e conseqüente aumento da viscosidade do sangue. Esse evento pode ser registrado ao microscópio de luz, por meio do qual constata-se pequenos vasos dilatados e repletos de hemácias em seu interior, além de aglomerado de células inflamatórias, em especial neutrófilos. Estes se acumulam ao longo do endotélio vascular, aderem-se ao mesmo por meio de moléculas de adesão e migram por diapedese através da parede vascular para o interstício sob a influência de agentes quimiotáticos (Kumar *et al.*, 2005).

Analisando as alterações histológicas registradas na presente pesquisa, observa-se que houve predomínio de processo inflamatório agudo, com infiltrado de PMN no epitélio e congestão na lâmina própria, em ambos os grupos, discretamente mais relevantes nos animais do grupo TT, ou seja, ventilados com tubo traqueal, embora as diferenças não tenham sido significantes. Já o infiltrado de PMN no córion foi detectado igualmente nos dois grupos do estudo, de forma discreta, na maioria das vezes. O fato do processo inflamatório de grau leve ter sido constatado em fragmentos de biópsias de ambos os grupos de estudo, embora, discretamente mais intenso no grupo TT, não permite afirmar que tais alterações decorreram das condições desfavoráveis de calor e de umidade dos gases inalados nesse grupo de estudo, uma vez que não houve diferença estatisticamente significativa. Provavelmente, a duração do experimento contribuiu para tais resultados, os quais poderiam ter sido mais relevantes caso a exposição da mucosa respiratória às condições precárias de condicionamento dos gases tivesse sido mais prolongada.

Hemorragia e erosão epitelial não foram constatadas em nenhum animal de ambos os grupos. A ausência de erosão epitelial já era esperada, uma vez que esse tipo de lesão é registrada em situações de maior agressão ao epitélio, como nas áreas de contato dos balonetes das cânulas de ventilação, regiões estas não incluídas nas análises deste estudo.

Discussão

Alguns autores estudaram, exaustivamente, os danos epiteliais causados pelos balonetes das cânulas orotraqueais e da máscara laríngea, mesmo com a utilização de baixas pressões *intracuff* (Martins *et al.*, 2000; Castilho *et al.*, 2003; Martins *et al.*, 2004; Abud *et al.*, 2005). Nesses estudos, a erosão superficial do epitélio respiratório pôde ser identificada com detalhes, havendo, em alguns casos, extensas áreas de devastação ciliar na cobertura mucosa. Castilho *et al.* (2003), em estudo experimental com cães, realizaram análise de microscopia eletrônica de varredura da mucosa traqueal no local de contato com o balonete da cânula, utilizando, em um grupo de animais, pressão no balonete de 25 cm H₂O, e no outro grupo, pressão de “selo” de 13 cm H₂O (pressão mínima que permitia a ventilação artificial). Os autores observaram, em ambos os grupos, lesões epiteliais como áreas de desorganização e devastação ciliar, demonstrando que, mesmo com níveis muito baixos de pressão no interior do balonete, o contato com a mucosa traqueal propicia o desenvolvimento de alterações morfológicas no epitélio respiratório, mesmo que superficiais.

As análises morfológicas nas áreas de contato do balonete da máscara laríngea com a mucosa da faringolaringe mostram lesões menos intensas quando comparadas às do epitélio respiratório. A explicação reside no fato de que o epitélio pavimentoso estratificado que recobre a região da hipofaringe e partes da região supraglótica parece ser mais resistente que o epitélio traqueal aos processos isquêmicos, sendo que o pregueamento da mucosa torna-o também mais distensível e adaptado a receber o bolo alimentar (Abud *et al.*, 2001; Martins *et al.*, 2000, 2001). Mesmo com a utilização de elevadas pressões no interior do balonete da máscara laríngea, ao redor de 235 mm Hg, Martins *et al.* (2000) registraram lesões discretas na mucosa do segmento faringolaríngeo de cães.

5.7.2 Microscopia eletrônica

O estudo complementar de microscopia eletrônica foi realizado visando detectar e analisar possíveis detalhes morfológicos no epitélio respiratório, dificilmente identificados apenas à microscopia de luz. Sendo assim, foi incluído o exame de microscopia eletrônica de varredura, para análise da superfície epitelial, e de transmissão, para análise ultraestrutural do epitélio traqueal.

5.7.2.1 Microscopia eletrônica de varredura

O epitélio respiratório traqueal normal, examinado ao microscópio eletrônico de varredura, apresenta-se recoberto por grande número de cílios em toda sua extensão, assemelhando-se à vista panorâmica de um gramado. Aos maiores aumentos, é possível identificar detalhes do formato desses cílios, como projeções lineares digitiformes, uniformes, soltas, bem orientadas, acompanhando as discretas reentrâncias da superfície do epitélio. Entre as células ciliadas, encontram-se dispostas algumas células sem cílios, contendo microvilos curtos na região apical, correspondendo às células mucosecretoras, produtoras de muco, o qual liberado na superfície do epitélio, reveste toda a mucosa respiratória, sendo fundamental não só no processo de transporte mucociliar, mas também no condicionamento dos gases durante sua passagem pelas vias aéreas. Em determinados locais, pode-se identificar a presença de pequenos acúmulos de secreção mucóide sobre as regiões apicais dos cílios, visualizados como filamentos de muco.

O aspecto normativo descrito acima foi identificado em extensas áreas de ambos os grupos deste estudo. Entre as principais alterações observadas pelo exame de microscopia eletrônica de varredura, ganharam destaque o agrupamento ciliar e a desorganização na disposição dos cílios da superfície epitelial. Tais alterações, atribuídas às baixas condições de umidade dos gases inalados, podem ser observadas em situações em que o muco encontra-se

Discussão

mais espesso e desidratado, facilitando a aderência entre os cílios, como já havia sido descrito por outros autores (Bisinotto *et al.*, 1999). No presente estudo, a prevalência dessas alterações no grupo TT poderia ser atribuída às condições menos favoráveis de condicionamento dos gases inalados nesse grupo de estudo. Entretanto, a análise dos escores semiquantitativos não demonstrou diferença estatística significativa entre os animais ventilados com tubo traqueal e os ventilados com a máscara laríngea, não permitindo estabelecer relação causal entre as variáveis.

À semelhança dos resultados da microscopia de luz, acredita-se que o período, relativamente curto, no qual os cães permaneceram sob ventilação mecânica, não permitiu a ocorrência de alterações mais relevantes que resultassem em diferença estatística dos escores. Danos epiteliais maiores, como devastação ciliar extensa ou ulceração do epitélio, não foram registrados em nenhum dos grupos.

Em algumas situações clínicas em que os gases inalados atingem diretamente a traquéia, sem antes passar pela cavidade nasal, considerada o grande aquecedor, como no paciente sob intubação traqueal, traqueotomizado ou laringectomizado, o trato respiratório perde grande quantidade de água e calor, o que pode predispor a danos ao epitélio respiratório, como destruição dos cílios, alteração na composição do muco, diminuição do surfactante e discinesia ciliar, prejudicando o transporte mucociliar (Chalon *et al.*, 1972; Tsuda *et al.*, 1977; Chalon *et al.*, 1979; Shelly *et al.*, 1988; Williams *et al.*, 1996). Nos pacientes sob ventilação mecânica, medidas preventivas têm sido preconizadas como a interposição de permutadores de calor e umidade (HME) no sistema ventilatório. Nesse sentido, Bisinotto *et al.* (1999) realizaram estudo experimental em cães com análise conjunta de microscopia eletrônica de varredura do epitélio traqueobrônquico, para determinar o efeito da utilização do permutador de calor e umidade (HME) em sistemas de ventilação com e sem reabsorção de CO₂, utilizando baixo e alto fluxo de gases frescos. Os autores registraram, nos

animais ventilados em circuito sem reinalação de CO₂, sem HME e com alto fluxo de gases, importantes alterações na superfície traqueal como modificação na arquitetura das gotas de muco, incluindo variações no formato, no tamanho e ruptura das mesmas. Alterações ciliares também foram constatadas pelos autores, como aderência, formando pequenos agrupamentos, decorrentes das alterações osmóticas do muco, as quais podem ocorrer precocemente, antes mesmo do desenvolvimento de lesões histológicas no epitélio respiratório, secundárias à inalação de gases mal condicionados. Achados semelhantes foram observados no presente estudo, especialmente relacionados às alterações ciliares.

5.7.2.2 Microscopia eletrônica de transmissão

O estudo de microscopia eletrônica de transmissão (MET) foi acrescido a esta pesquisa, visando desvendar detalhes ultraestruturais do epitélio respiratório, imperceptíveis ao microscópio de luz e ao microscópio eletrônico de varredura (Zagalo *et al.*, 2001). Assim, pela MET pode-se observar que, no epitélio respiratório normal, as células ciliadas apresentam inúmeros cílios, cada um dos quais implantados nos seus respectivos corpúsculos basais. Aos cortes transversais, percebe-se junto à sua base, que cada cílio é composto por nove pares de microtúbulos periféricos e um par central, dispostos paralelamente uns aos outros, como visualizado nos cortes longitudinais. Entre as células ciliadas, estão presentes as células mucosecretoras, cujo citoplasma é rico em grânulos de muco dispostos, principalmente, na porção apical, prontos para serem expulsos para o lúmen. Além das células ciliadas e caliciformes, em número bem menor, identificam-se pequenas células colunares e estreitas com microvilos altos, porém sem cílios, correspondendo às células em escova ou *brush cells*. As células epiteliais mantêm contato íntimo entre si por meio de junções celulares do tipo interdigitação e desmossomos, responsáveis pela adesão intercelular. Todas estas células têm origem a partir das células basais, de aspecto mais indiferenciado, com núcleos

Discussão

grandes e formato ovóide, cromatina descondensada e citoplasma rico em organelas, sinais estes indicativos de intensa atividade celular. As células basais estão dispostas sobre uma delicada membrana basal que separa o epitélio da lâmina própria, apresentando-se contínua e discretamente sinuosa. Na lâmina própria, podem-se visualizar pequenos vasos e agrupamentos glandulares, feixes de fibras elásticas e colágenas.

Em ambos os grupos, o aspecto normal do epitélio respiratório pelo exame de MET esteve presente em diversas áreas; no entanto, foram registradas importantes alterações ultraestruturais mais marcantes nos animais ventilados com tubo traqueal. Dentre essas, destacaram-se desorganização na disposição dos cílios, alargamento de junções celulares, infiltrado de células inflamatórias no epitélio, vacuolização citoplasmática e alteração do padrão morfológico normal dos núcleos, mostrando-se picnóticos, com contorno irregular e condensação da cromatina. As alterações registradas foram mais relevantes nos animais ventilados com o tubo traqueal, resultado este comprovado pela análise estatística dos escores. Em nenhum animal de ambos os grupos, foram observadas alterações na membrana basal.

Algumas das alterações ultraestruturais foram observadas exclusivamente no grupo TT, como vacuolização citoplasmática e alterações no formato dos núcleos. Esses sinais morfológicos de sofrimento e morte celular, somente foram passíveis de serem identificados a partir do estudo de microscopia eletrônica de transmissão, ressaltando a importância da inclusão dessa análise na presente pesquisa. Quanto à morte celular, é possível diferenciar dois tipos: a apoptose ou morte celular programada tipo I, caracterizada pela condensação da cromatina nuclear e preservação das organelas citoplasmática, e a morte celular autofágica ou morte celular programada tipo II, que exhibe extensa degradação autofágica do citoplasma, tornando-o vacuolizado, o que precede a destruição nuclear. Estes dois tipos de morte celular podem ocorrer no mesmo tecido. Durante a apoptose, além da condensação da cromatina, ocorre redução do volume nuclear, tornando-se picnótico, havendo, por fim, a fragmentação

Discussão

do núcleo (cariorexe) (Bursch *et al.*, 2000; Kroemer *et al.*, 2005; Levine & Yuan, 2005; Tardito *et al.*, 2006).

Analisando, conjuntamente, as alterações morfológicas deste trabalho, pode-se constatar que o estudo de microscopia de luz foi importante na identificação do processo inflamatório, tanto no epitélio como na lâmina própria, detectando infiltrado de células inflamatórias e congestão vascular em diferentes graus; todavia, foi insuficiente para detectar alterações intracelulares e detalhes da superfície do epitélio respiratório. Em contra partida, o estudo de MEV detectou peculiaridades da configuração ciliar, como desorganização e agrupamento. Da mesma forma, o estudo de MET possibilitou a detecção de importantes alterações não identificadas pelas técnicas anteriores, como edema intercelular, representado pelo alargamento das junções celulares e modificação na estrutura dos desmossomos, perdendo sua propriedade de adesão intercelular, alterações citoplasmáticas e nucleares, além de detalhes da membrana basal. Ressalta-se, assim, a importância da utilização conjunta de várias técnicas morfológicas para o estudo de danos epiteliais.

É importante salientar que as alterações acima descritas, registradas nesse trabalho, foram focais e superficiais, sendo assim, provavelmente, não implicariam em repercussões clínicas aos animais, levando em consideração o elevado poder de regeneração do epitélio respiratório e o curto período de exposição.

Dentre as limitações desse estudo deve-se ressaltar, primeiramente, o elevado fluxo de gases frescos utilizado, propositalmente, na ventilação dos animais (5 L.min^{-1}), para obtenção de condições insatisfatórias de umidificação dos gases, condição esta pouco utilizada na prática clínica, dando-se preferência ao médio (2 L.min^{-1}) e baixo fluxo (1 L.min^{-1}), os quais propiciam maior umidade absoluta dos gases ao atingirem os pulmões. Outro ponto a ser considerado, é a localização da extremidade do tubo na traquéia proximal, visando reproduzir o experimento prévio, uma vez que, na rotina da intubação endotraqueal, esta é posicionada

Discussão

mais inferiormente, limitando ainda mais o segmento traqueal do contato com os gases, fato este que poderia predispor a maiores lesões no epitélio respiratório.

6 CONCLUSÃO

Nos animais ventilados com elevado fluxo de gases frescos e sob baixa umidade absoluta, com a máscara laríngea foram constatadas menores alterações morfológicas, quando comparados aos animais ventilados com o tubo traqueal, fato este atribuído ao possível papel protetor do segmento laringotraqueal à inalação de gases pouco condicionados.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- Abud TM, Braz JR, Martins RH, Gregorio EA, Saldanha JC. High laryngeal mask airway pressures resulting from nitrous oxide do not increase pharyngeal mucosal injury in dogs. *Can J Anaesth*. 2001; 48: 800–6.
- Abud TM, Braz JR, Martins RH, Gregorio EA, Saldanha JC, Raiza AC. The Lanz endotracheal tube decreases tracheal injury in dogs. *Can J Anaesth*. 2005; 52: 878–82.
- Ackerstaff AH, Fuller D, Irvin M, Maccracken E, Gaziano J, Stachowiak L. Multicenter study assessing effects of heat and moisture exchanger use on respiratory symptoms and voice quality in laryngectomized individuals. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003; 129: 705–12.
- Andrews JJ. Anesthesia systems. In: Barash PG, Cullen BF, Stoelting RK, editors. *Clinical anesthesia*. Philadelphia: JB Lippincott; 1989. p. 505–40.
- Bisinotto FMB, Braz JRC, Martins RHG, Gregório EA, Abud TMV. Tracheobronchial consequences of the use of heat and moisture exchanges in dogs. *Can J Anaesth*. 1999; 46: 897–903.
- Bennett SR, Grace D, Griffin SC. Cardiovascular changes with the laryngeal mask airway in cardiac anaesthesia. *Br J Anaesth*. 2004; 92: 885–7.
- Brain AIJ. The laryngeal mask - a new concept in airway management. *Br J Anaesth*. 1983; 55: 801–5.
- Branson RD, Campbell RS, Chatburn RL, Covington J. Humidification during mechanical ventilation. *Respir Care* 1992; 37: 887–90.
- Branson RD. Humidification of respired gases during mechanical ventilation: mechanical considerations. *Respir Care Clin N Am*. 2006; 12: 253–61.

* Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas. Requisitos uniformes para originais submetidos a revistas biomédicas. *J Pediatr* 1997; 73: 213-24. National Library of Medicine. List of journals indexed in Index Medicus. Washington, 2001. 248p.

Referências Bibliográficas

- Braz JR, Martins RH, Mori AR, Luna SP. Investigation into the use of the laryngeal mask airway in pentobarbital anesthetized dogs. *Vet Surg.* 1999; 28: 502–5.
- Brimacombe J, Berry A. LMA for failed intubation. *Can J Anaesth.* 1993; 40: 802–3.
- Brimacombe J. The advantages of the LMA over the tracheal tube or facemask: a meta analysis. *Can J Anaesth.* 1995; 42: 1017–23.
- Brimacombe JR, Berry AM. Use of the laryngeal mask airway in otolaryngology. *J Otolaryngol* 1995; 24: 125–33.
- Bursch W, Hochegger K, Török L, Marian B, Ellinger A, Hermann RS. Autophagic and apoptotic types of programmed cell death exhibit different fates of cytoskeletal filaments. *J Cell Sci.* 2000; 113: 1189–98.
- Castilho EC, Braz JR, Catâneo AJM, Martins RHG, Gregorio EA, Monteiro ER. Efeitos da pressão limite (25 cmH₂O) e mínima de “selo” do balonete de tubos traqueais sobre a mucosa traqueal do cão. *Rev Bras Anesthesiol.* 2003; 53: 743–55.
- Chalon J, Loew DAY, Malebranche J. Effects of dry anesthetic gases on tracheobronchial ciliated epithelium. *Anesthesiology* 1972; 37: 338–43.
- Chalon J, Patel C, Ali M, Ramanathan S, Capan L, Tang CK, *et al.* Humidity and the anesthetized patient. *Anesthesiology* 1979; 50: 195–8.
- Cheong SP, Fahy CJ, Craigie MJ. Anaesthesia for excision of an intraoral mass in a neonate: use of a laryngeal mask during removal of congenital epulis. *Anaesth Intensive Care* 2008; 36:116–8.
- Chiba S, Tsuboi M. Dominant anti-vagal effect of pentobarbital on cardiac responses to intracardiac autonomic nerve stimulation in the dog. *Jpn J Pharmacol.* 2001; 86: 248–50.
- Dahaba AA, Prax N, Gaube W, Gries M, Rehak PH, Metzler H. Haemodynamic and catecholamine stress responses to the laryngeal tube-suction airway and the Proseal laryngeal mask airway. *Anaesthesia* 2006; 61: 330–4.

Referências Bibliográficas

- Dhillon AR. Use of laryngeal mask airway in cervical manipulation. *Anaesthesia* 1996; 51: 408.
- Dias NH, Martins RHG, Braz JRC, Carvalho LR. Larynx and cervical trachea in humidification and heating inhaled gases. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2005; 114: 411–5.
- Eckerbom B, Lindholm CE, Mannting F. Mucociliary transport with and without the use of a heat and moisture exchanger. An animal study. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1991; 35: 297–301.
- Fisher LD, Belle GV. Biostatistics. A methodology for the health sciences. New York: Wiley-Interscience, 1993.
- Flick RP, Wilder RT, Pieper SF, Van Koeverden K, Ellison KM, Marienau MES, *et al*. Risk factors for laryngospasm in children during general anesthesia. *Paediatr Anaesth*. 2008; 18: 289–96.
- Gartner LP, Hiatt JL. Atlas colorido de histologia 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
- Gorayb SBS, Braz JRC, Martins RHG, Módolo NSP, Nakamura G. Umidificação e aquecimento do gás inalado durante ventilação artificial com baixo fluxo e fluxo mínimo de gases frescos. *Rev Bras Anesthesiol*. 2004; 54: 20–36.
- Hare WCD. Sistema respiratório do carnívoro. In: Getty R, editor. *Anatomia dos animais domésticos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1986. p. 1465–80.
- Hatcher IS, Stack CG. Postal survey of the anaesthetic techniques used for paediatric tonsillectomy surgery. *Paediatr Anaesth*. 1999; 9: 311–5.
- Henriksson BA, Sundling J, Hellman A. The effect of a heat and moisture exchanger on humidity in a low-flow anaesthesia system. *Anaesthesia* 1997; 52: 144–9.

Referências Bibliográficas

- Hollande J, Riou B, Guerrero M, Landault C, Viars P. Comparaison des effets hémodynamiques du masque laryngé et du tube orotrachéal. *Ann Fr Anesth Reanim.* 1993; 12: 372–5.
- Jaber S, Pigeot J, Fodil R, Maggiore S, Harf A, Isabey D, *et al.* Long-term effects of different humidification systems on endotracheal tube patency: evaluation by the acoustic reflection method. *Anesthesiology* 2004; 100: 782–8.
- Joshi GP, Morrison SG, Gajraj NM. Hemodynamic changes during emergence from anesthesia: use of the laryngeal mask airway VS endotracheal tube. *Anesth Analg.* 1994; 78: S185.
- Junqueira LCU, Carneiro J. *Histologia básica*. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- Keck T, Dürr J, Leiacker R, Rettinger G, Rozsasi A. Tracheal climate in laryngectomees after use of a heat and moisture exchanger. *Laryngoscope* 2005; 115: 534–7.
- Kihara S, Brimacombe J, Yaguchi Y, Watanabe S, Taguchi N, Komatsuzaki T. Hemodynamic responses among three tracheal intubation devices in normotensive and hypertensive patients. *Anesth Analg.* 2003; 96: 890–5.
- Kroemer G, El-Deiry WS, Golstein P, Peter ME, Vaux D, Vandenabeele P, *et al.* Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death. *Cell Death Differ.* 2005; 12: 1463–7.
- Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Inflamação aguda e crônica. In: *Patologia – Bases patológicas das doenças* (Robbins & Cotran). Chicago: Editora Elsevier; 2005. p. 49–89.
- Levine B, Yuan J. Autophagy in cell death: an innocent convict? *J Clin Invest.* 2005; 115: 2679–88.

Referências Bibliográficas

- Lim Y, Goel S, Brimacombe JR. The ProSeal laryngeal mask airway is an effective alternative to laryngoscope-guided tracheal intubation for gynaecological laparoscopy. *Anaesth Intensive Care* 2007; 35: 52–6.
- MacFadden, ER Jr. Heat and water exchange in human airways. *Am Rev Respir Dis.* 1992; 146: 8–10.
- Maltby JR, Beriault MT, Watson NC, Liepert D, Fick GH. The LMA-ProSeal is an effective alternative to tracheal intubation for laparoscopic cholecystectomy. *Can J Anaesth.* 2002; 49: 857–62.
- Maltby JR, Beriault MT, Watson NC, Liepert D, Fick GH. LMA-Classic™ and LMA-ProSeal™ are effective alternatives to endotracheal intubation for gynecologic laparoscopy. *Can J Anaesth.* 2003; 50: 71–7.
- Marfatia S, Donahoe PK, Hendren WH. Effect of dry and humidified gases on the respiratory epithelium in rabbits. *J Pediatr Surg.* 1975; 10: 583–92.
- Martin-Castro C, Montero A. Flexible laryngeal mask as an alternative to reinforced tracheal tube for upper chest, head and neck oncoplastic surgery. *Eur J Anaesthesiol.* 2008; 25: 261–6.
- Martins RHG, Braz JRC, Defaveri J, Curi PR. Estudo da umidificação e do aquecimento dos gases inspirados durante a ventilação mecânica no cão. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 1996; 62: 206–18.
- Martins RHG, Braz JRC, Defaveri J, Gregório EA, Abud TMV. Effect of high laryngeal mask airway intracuff pressure on the laryngopharyngeal mucosa of dogs. *Laryngoscope* 2000; 110: 645–50.
- Martins RHG, Braz JRC, Moura JMP, Costa GA, Araújo G, Carvalho LR. Efeitos de baixas pressões no balonete da máscara laríngea na mucosa faringolaríngea do cão. *Rev Bras Anesthesiol.* 2001; 51: 518–27.

Referências Bibliográficas

- Martins RHG, Braz JR, Dias NH, Castilho EC. Complicações das vias aéreas relacionadas à intubação endotraqueal. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2004; 70: 671–7.
- Montenegro MR, Fecchio D. Inflamações: conceitos gerais e inflamação aguda. In: Montenegro MR, Franco M, editores. *Patologia processos gerais.* São Paulo: Atheneu; 1999. p. 109–28.
- Nakagawa NK, Macchione M, Petrolino HM, Guimarães ET, King M, Saldiva PH, *et al.* Effects of a heat and moisture exchanger and a heated humidifier on respiratory mucus in patients undergoing mechanical ventilation. *Crit Care Med.* 2000; 28: 312–7.
- Nascimento C, Braz JRC, Curi PR, Vane LA, Castiglia YMM. Effects of continuous infusion of propofol on renal function in the dog. A comparative study with pentobarbital sodium. *Braz J Anesthesiol Int Issue* 1995; 6: 10–5.
- Oczenski W, Krenn H, Dahaba AA, Binder M, El-Schahawi-Kienzl I, Jellinek H, *et al.* Hemodynamic and catecholamine stress responses to insertion of the combitube, laryngeal mask airway or tracheal intubation. *Anesth Analg.* 1999; 88: 1389–94.
- Rehberg S, Wienstroth SS, Huppe M, Sommer K, Gehring H, Meier T. The use of the flexible laryngeal mask in children with adenoidectomy – a retrospective comparison with endotracheal intubation. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 2007; 42: 36–9.
- Reinhart DJ. Comparison of effects of placement of the laryngeal mask airway (LMA) vs endotracheal tube (ETT) on the cardiovascular response. *Anesthesiology* 1993; 79: 1052.
- Rieger A, Brunne B, Striebel HW. Intracuff pressures do not predict laryngopharyngeal discomfort after use of the laryngeal mask airway. *Anesthesiology* 1997; 87: 63–7.

Referências Bibliográficas

- Schiffmann H, Rathgeber J, Singer D, Harms K, Bolli A, Zuchner K. Airway humidification in mechanically ventilated neonates and infants: a comparative study of a heat and moisture exchanger vs. a heated humidifier using a new fast-response capacitive humidity sensor. *Crit Care Med.* 1997; 25: 1755–60.
- Schulze A. Respiratory gas conditioning and humidification. *Clin Perinatol.* 2007; 34: 19–33.
- Sessler D.I. Temperature monitoring. In: Miller RD, editor. *Anesthesia*. New York: Churchill Livingstone; 1990. p. 1227–42.
- Sinha A, Sharma B, Sood J. ProSeal as an alternative to endotracheal intubation in pediatric laparoscopy. *Paediatr Anaesth.* 2007; 17:327–32.
- Shelly MP, Lloyd GM, Park GR. A review of the mechanisms and methods of humidification of inspired gases. *Intensive Care Med.* 1988; 14: 1–9.
- Sottiaux TM. Consequences of under- and over-humidification. *Respir Care Clin N Am.* 2006; 12: 233–52.
- Tardito S, Bussolati O, Gaccioli F, Gatti R, Guizzardi S, Uggeri J, *et al.* Non-apoptotic programmed cell death induced by a copper(II) complex in human fibrosarcoma cells. *Histochem Cell Biol.* 2006; 126: 473–82.
- Todd DA, Boyd J, Lloyd J, John E. Inspired gas humidity during mechanical ventilation: effects of humidification chamber, airway temperature probe position and environmental conditions. *J Paediatr Child Health* 2001a; 37: 489–94.
- Todd DA, Boyd J, Lloyd J, John E. Inspired gas temperature during mechanical ventilation: effects of environmental temperature and airway temperature probe position. *J Paediatr Child Health* 2001b; 37: 495–500.
- Tollofsrud SG, Gundersen Y, Andersen R. Peroperative hypothermia. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1984; 28: 511–5.

Referências Bibliográficas

- Torres MLA. Sistemas respiratórios valvulares com absorção de CO₂: capacidade de aquecimento e umidificação dos gases inalados em 3 tipos de montagens utilizadas em aparelhos de anestesia no Brasil. [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1995.
- Tsuda T, Noguchi H, Takumi Y, Aochi O. Optimum humidification of air administered to a tracheostomy in dogs. *Br J Anaesth*. 1977; 49: 965–77.
- Tubelis A, Nascimento FJL. Umidade do ar. In: *Meteorologia descritiva: fundamentos e aplicações brasileiras*. São Paulo: Editora Distribuidora Brasil; 1980. p. 94–127.
- Turner BS, Loan LA. Tracheobronchial trauma associated with airway management in neonates. *AACN Clin Issues* 2000; 11: 283–99.
- Van der Linden P, Schmartz D, Gilbert E, Engelman E, Vincent JL. Effects of propofol, etomidate, and pentobarbital on critical oxygen delivery. *Crit Care Med*. 2000; 28: 2492–9.
- Vanni SM, Braz JR, Modolo NS, Amorim RB, Rodrigues GR Jr. Preoperative combined with intraoperative skin-surface warming avoids hypothermia caused by general anesthesia and surgery. *J Clin Anesth*. 2003; 15: 119–25.
- Widdicombe J. Microvascular anatomy of the nose. *Allergy* 1997; 52: 7–11.
- Williams R, Rankin N, Smith T, Galler D, Seakins P. Relationship between the humidity and temperature of inspired gas and the function of the airway mucosa. *Crit Care Med*. 1996; 24: 1920–9.
- Zagalo C, Grande NR, Santos JM, Monteiro E, Brito J, Aguas AP. Tracheal transplantation: cytological changes studied by scanning and transmission electron microscopy in the rabbit. *Laryngoscope* 2001; 111: 657–62.

Tabela 23. Peso, comprimento e sexo dos animais nos grupos TT e ML.

Grupo						
TT				ML		
Cão	Peso (kg)	Comp. (cm)	Sexo (M/F)	Peso (kg)	Comp. (cm)	Sexo (M/F)
1	15	102	F	21	105	M
2	23	108	M	22	106	M
3	27	124	M	15	92	M
4	15	93	M	15	90	F
5	20	100	F	15	88	F
6	18	102	F	17	101	M

M = Macho, F= Fêmea

Tabela 24. Valores da pressão arterial média (PAM) e da frequência de pulso (FP) obtidos ao longo do tempo nos animais dos grupos TT e ML.

Cão	Tempo (min)	Grupo			
		TT		ML	
		PAM (mm Hg)	FP (bat.min ⁻¹)	PAM (mm Hg)	FP (bat.min ⁻¹)
1	0	101	153	90	181
	60	109	162	133	176
	120	105	176	126	179
	180	114	162	112	176
2	0	84	151	96	151
	60	96	142	110	150
	120	110	136	111	135
	180	121	123	107	152
3	0	121	176	104	157
	60	128	176	115	176
	120	122	166	121	162
	180	107	155	133	157
4	0	109	176	102	140
	60	109	166	128	146
	120	104	155	133	147
	180	104	144	132	139
5	0	104	114	111	99
	60	113	151	129	107
	120	115	166	124	133
	180	127	169	126	131
6	0	115	146	100	171
	60	124	174	101	157
	120	121	176	117	157
	180	112	181	115	167

Tabela 25. Valores da frequência respiratória (FR), do volume corrente (VC) e da saturação periférica da oxihemoglobina (SpO₂) obtidos ao longo do tempo nos animais dos grupos TT e ML.

Cão	Tempo (min)	Grupo					
		TT			ML		
		FR (insp.min ⁻¹)	VC (ml.kg ⁻¹)	SpO ₂ (%)	FR (insp.min ⁻¹)	VC (ml.kg ⁻¹)	SpO ₂ (%)
1	0	15	20,0	99	13	20,0	99
	60	13	19,3	98	14	20,0	99
	120	13	19,3	98	14	20,0	98
	180	13	19,3	98	14	20,0	98
2	0	12	20,0	98	13	19,1	99
	60	12	19,6	99	13	18,6	99
	120	12	20,0	99	13	18,2	99
	180	13	19,6	98	13	17,7	99
3	0	11	20,0	99	12	18,7	99
	60	11	20,0	99	14	20,0	98
	120	12	19,6	98	14	20,7	97
	180	11	20,4	98	14	20,0	98
4	0	12	21,3	99	14	20,0	99
	60	13	18,0	100	13	20,0	99
	120	12	20,7	99	14	20,0	99
	180	14	20,0	100	13	19,3	99
5	0	13	20,5	99	12	19,3	99
	60	13	20,0	99	13	17,3	99
	120	13	19,5	99	12	18,0	99
	180	13	20,0	99	12	18,0	99
6	0	13	20,0	98	14	20,0	99
	60	14	20,0	98	14	20,0	99
	120	14	20,0	99	14	19,4	99
	180	14	18,9	98	14	19,4	99

Tabela 26. Valores da pressão expiratória final de CO₂ (P_{ET}CO₂) e da pressão inspiratória (PI) obtidos ao longo do tempo nos animais dos grupos TT e ML.

Cão	Tempo (min)	Grupo			
		TT		ML	
		P _{ET} CO ₂ (mm Hg)	PI (cm H ₂ O)	P _{ET} CO ₂ (mm Hg)	PI (cm H ₂ O)
1	0	27	10	40	9
	60	29	10	41	11
	120	31	10	42	11
	180	32	11	40	10
2	0	37	10	41	11
	60	39	11	40	11
	120	38	12	42	11
	180	41	12	44	11
3	0	38	10	37	13
	60	37	10	40	13
	120	36	12	40	14
	180	34	12	36	14
4	0	39	11	33	12
	60	37	12	32	13
	120	37	12	32	13
	180	34	13	32	13
5	0	29	10	26	13
	60	29	12	26	13
	120	31	12	28	13
	180	33	13	29	13
6	0	33	10	35	9
	60	27	11	38	10
	120	29	12	40	10
	180	31	13	43	10

Tabela 27. Valores da temperatura timpânica e da temperatura ambiente obtidos ao longo do tempo nos animais dos grupos TT e ML.

Grupo					
TT				ML	
Cão	Tempo (min)	T. Timpânica (°C)	T. Ambiente (°C)	T. Timpânica (°C)	T. Ambiente (°C)
1	0	37,5	23,8	37,0	23,3
	60	37,6	23,9	37,8	23,4
	120	37,9	24,2	38,4	23,5
	180	38,4	23,6	38,5	24,3
2	0	36,0	22,0	38,1	24,1
	60	35,8	23,1	38,3	24,1
	120	36,0	23,2	38,8	24,1
	180	36,6	23,3	39,1	24,3
3	0	37,7	25,2	38,2	25,2
	60	38,2	26,7	38,2	25,5
	120	38,5	26,6	38,2	25,9
	180	38,8	26,9	38,2	26,5
4	0	37,4	21,9	37,8	23,6
	60	37,4	23,9	37,9	25,0
	120	37,5	23,3	38,1	25,5
	180	37,5	23,0	38,6	25,9
5	0	37,3	23,2	37,0	24,0
	60	37,5	24,5	37,0	24,5
	120	38,3	24,9	37,4	24,4
	180	39,2	25,3	38,0	24,7
6	0	38,0	27,5	38,0	24,2
	60	38,6	28,4	38,5	25,2
	120	39,2	28,5	39,2	25,7
	180	39,8	29,4	39,0	25,9

*Apêndices***Tabela 28.** Valores da umidade relativa (UR) e da umidade absoluta (UA) do ar ambiente obtidos ao longo do tempo nos animais dos grupos TT e ML.

Grupo					
		TT		ML	
Cão	Tempo (min)	UR Ambiente (%)	UA Ambiente (mg H ₂ O.l ⁻¹)	UR Ambiente (%)	UA Ambiente (mg H ₂ O.l ⁻¹)
1	0	70,0	15,0	57,6	12,0
	60	74,0	15,9	57,9	12,1
	120	72,7	15,9	58,0	12,2
	180	76,6	16,2	56,9	12,5
2	0	56,8	11,0	67,4	14,7
	60	55,3	11,4	67,6	14,7
	120	56,0	11,6	70,6	15,4
	180	52,7	10,9	72,7	16,0
3	0	40,1	9,3	62,0	14,4
	60	39,0	9,8	60,2	15,4
	120	43,0	10,8	60,0	14,4
	180	39,5	10,0	61,6	15,3
4	0	67,8	13,0	64,1	13,6
	60	66,0	14,2	58,6	13,4
	120	63,4	13,2	57,5	14,7
	180	66,8	13,6	56,7	13,6
5	0	54,8	11,3	77,8	16,8
	60	52,2	11,6	80,6	17,9
	120	51,2	11,6	80,9	17,9
	180	50,5	11,7	78,0	17,5
6	0	60,7	15,9	50,1	11,0
	60	57,0	15,8	46,4	10,7
	120	55,7	15,3	54,2	12,9
	180	54,8	16,0	53,4	12,9

Tabela 29. Valores da temperatura dos gases inalados obtidos ao longo do tempo nos animais dos grupos TT e ML.

		Grupo	
		TT	ML
Cão	Tempo (min)	T. Gás Inalado (°C)	T. Gás Inalado (°C)
1	0	23,4	23,1
	60	23,9	23,2
	120	23,3	23,4
	180	22,8	23,2
2	0	21,0	24,3
	60	22,3	24,2
	120	23,0	24,2
	180	23,2	24,6
3	0	25,1	25,1
	60	25,8	25,6
	120	26,3	25,8
	180	26,7	26,3
4	0	21,3	23,5
	60	21,7	24,5
	120	22,2	24,8
	180	22,1	25,0
5	0	23,0	23,5
	60	24,1	22,8
	120	24,5	23,4
	180	25,1	23,8
6	0	27,5	24,1
	60	28,3	25,1
	120	28,4	25,6
	180	29,2	25,9

Tabela 30. Valores da umidade relativa (UR) e da umidade absoluta (UA) dos gases inalados obtidos ao longo do tempo nos animais dos grupos TT e ML.

Cão	Tempo (min)	Grupo			
		TT		ML	
		UR Gás Inalado (%)	UA Gás Inal (mg H ₂ O.l ⁻¹)	UR Gás Inalado (%)	UA Gás Inal (mg H ₂ O.l ⁻¹)
1	0	11,0	2,31	11,2	2,31
	60	10,0	2,16	10,8	2,24
	120	10,8	2,25	11,3	2,37
	180	10,6	2,15	10,8	2,24
2	0	12,2	2,23	10,8	2,38
	60	9,8	1,93	10,2	2,24
	120	10,2	2,09	10,4	2,28
	180	10,5	2,18	10,5	2,36
3	0	11,3	2,61	11,5	2,66
	60	10,2	2,45	10,8	2,57
	120	11,1	2,74	11,5	2,76
	180	10,4	2,62	10,7	2,64
4	0	12,8	2,38	12,3	2,59
	60	11,5	2,19	11,2	2,50
	120	11,0	2,15	11,0	2,50
	180	10,8	2,10	11,0	2,53
5	0	12,3	2,52	14,2	2,99
	60	10,5	2,29	13,5	2,74
	120	9,8	2,19	14,0	2,94
	180	10,2	2,36	13,0	2,79
6	0	11,5	3,03	12,0	2,62
	60	10,8	2,98	10,8	2,49
	120	11,0	3,05	10,5	2,49
	180	10,9	3,16	10,2	2,46

Tabela 31. Valores dos escores obtidos com relação à erosão e infiltrado de PMN no epitélio pela microscopia de luz nos animais dos grupos TT e ML.

Cão	Área	Grupo			
		TT		ML	
		Erosão	Infiltrado de PMN	Erosão	Infiltrado de PMN
1	TP	0	0	0	0
	TM	0	2	0	0
	TD	0	1	0	0
2	TP	0	0	0	0
	TM	0	0	0	0
	TD	0	0	0	1
3	TP	0	0	0	0
	TM	0	0	0	0
	TD	0	0	0	0
4	TP	0	0	0	0
	TM	0	1	0	0
	TD	0	1	0	0
5	TP	0	0	0	0
	TM	0	0	0	0
	TD	0	0	0	0
6	TP	0	0	0	0
	TM	0	0	0	2
	TD	0	0	0	0

Tabela 32. Valores dos escores obtidos com relação à congestão, hemorragia e infiltrado de PMN na lâmina própria pela microscopia de luz nos animais dos grupos TT e ML.

		Grupo					
		TT			ML		
Cão	Área	Congestão	Hemorragia	PMN	Congestão	Hemorragia	PMN
1	TP	1	0	1	1	0	0
	TM	2	0	2	1	0	0
	TD	2	0	2	2	0	0
2	TP	1	0	0	1	0	1
	TM	1	0	1	1	0	1
	TD	1	0	0	2	0	2
3	TP	1	0	0	1	0	0
	TM	1	0	1	1	0	1
	TD	1	0	0	2	0	1
4	TP	1	0	0	2	0	1
	TM	2	0	1	1	0	0
	TD	2	0	1	2	0	1
5	TP	1	0	0	1	0	0
	TM	2	0	1	1	0	0
	TD	3	0	0	2	0	0
6	TP	3	0	1	0	0	0
	TM	2	0	0	1	0	2
	TD	2	0	1	0	0	0

Apêndices**Tabela 33.** Valores dos escores obtidos pela microscopia eletrônica de varredura nos três animais de cada grupo.

Grupo			
Cão	Área	TT	ML
		Escore	Escore
1	TP	1	0
	TM	1	0
	TD	1	0
2	TP	1	0
	TM	1	0
	TD	1	0
3	TP	0	0
	TM	0	0
	TD	0	0

Tabela 34. Valores dos escores obtidos pela microscopia eletrônica de transmissão nos três animais de cada grupo.

Grupo			
Cão	Área	TT	ML
		Escore	Escore
1	TP	1	0
	TM	2	0
	TD	2	0
2	TP	0	0
	TM	2	0
	TD	1	0
3	TP	2	1
	TM	1	0
	TD	0	0