AMANDA NUNES BARROS

ESTUDO DE MODELOS LINEARES E NÃO LINEARES COM ÊNFASE EM SISTEMA RESPIRATÓRIO MURINO

Trabalho de Conclusão de Curso de Matemática Aplicada com habilitação em Sistemas e Controle

Orientador:

Prof. Dr. Henrique Takachi Moriya

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me capacitou, me deu forças e me sustentou para chegar até aqui. Agradeço também à minha família que me apoiou incondicionalmente em todos os momentos da minha graduação, especialmente aos meus pais, Regina e Antônio, que me ajudaram a trilhar esse caminho, mesmo longe de seu amor constante; aos meus irmãos, Mateus e Pedro, que são o melhor presente que meus pais poderiam ter me dado. E agradeço aos meus tios, Fátima e Luis, que foram praticamente meus pais em São Paulo, e estiveram presentes sempre que eu precisei, fazendo com que esta cidade se tornasse aos poucos minha segunda casa.

Agradeço ao meu namorado, Guilherme, que não me deixou desistir, ouviu todas as minhas reclamações e comemorou, ao meu lado, todas as vitórias fazendo com que eu me sentisse amada mesmo fisicamente distante, seu apoio constante me ajudou a chegar tão longe. Agradeço também ao meu orientador, Henrique Takachi Moriya, que me ajudou a finalizar essa conquista e me ajudou também a amadurecer como pessoa e como pesquisadora.

Por fim agradeço aos meus amigos que, de uma forma ou de outra, sempre se fizeram presentes e tornaram todo este processo um pouco mais fácil! Obrigada aos amigos que fiz nesta cidade imensa, ter conhecido vocês fez com que essa trajetória se tornasse menos solitária e muito mais divertida. E obrigada aos meus amigos incríveis e muito queridos de Bauru que sempre conseguem arrumar um tempo, até mesmo durante os feriados, para se fazerem presentes na minha vida. Sei que mesmo fisicamente distante, vocês sempre estarão presentes na minha vida e no meu coração.

E a todas as pessoas citadas acima, bem como as que eu não citei mas que mudaram minha vida de algum modo, agradeço por todo amor, carinho, preocupação e paciência que sempre tiveram comigo!

RESUMO

A avaliação da mecânica do sistema respiratório é realizada geralmente através de modelos matemáticos. O modelo mais simples e mais conhecido é o Modelo Linear de Compartimento Unico (Linear Single-Compartment Model - LSCM), que pode ser descrito por uma equação diferencial ordinária. A principal característica dessa equação é a linearidade. Contudo, o sistema respiratório não tem um comportamento linear sob diversas circunstâncias, então o objetivo deste trabalho é comparar o LSCM com 2 modelos não lineares. A fim de realizar essas comparações, foram estudados 6 ratos Wistar durante broncoconstrição. Usando um ventilador mecânico comercial (flexiVent FX2, SCIREQ, Canadá), o LSCM e duas variações não lineares deste modelo foram aplicados durante a ventilação mecânica na fase basal e durante duas doses de Metacolina (MCh), um broncoconstritor. Os dois modelos não lineares são: 1) modelo dependente do volume de compartimento único, que tem o termo não linear relacionado à elastância; 2) modelo dependente do fluxo de compartimento único, que tem o termo não linear relacionado à resistência. Este estudo avaliou o ajuste dos modelos ao valor de pressão medido do sistema respiratório e a avaliação dos modelos foi realizada usando o teste F-ratio, que é baseado na comparação de variâncias, e o critério de Akaike, que mede a diferença entre os valores do modelo e da amostra. Através do valor da média dos resíduos ao quadrado, os resultados indicaram melhora na aproximação quando adicionamos termos não lineares em relação ao modelo linear, na maioria dos casos, principalmente o modelo dependente do volume de compartimento único. Outro resultado é que o critério de Akaike apresentou uma comparação mais efetiva durante a avaliação do que o teste F-ratio.

Palavras-Chave: mecânica respiratória, modelos matemáticos, não linearidade.

ABSTRACT

The assessment of respiratory mechanics is usually made by mathematical models. The simplest and one of the most known model is the Linear Single-Compartment Model (LSCM), which can be described by an ordinary linear equation. The main prerogative of this equation is linearity. However, the respiratory system does not have a linear behavior under several circumstances, then the objective of this work is to compare the LSCM with 2 nonlinear models. In order to fulfill these comparisons, 6 male Wistar rats were studied during bronchoconstriction. Using a commercial mechanical ventilator (flexiVent FX2, SCIREQ, Canada), the LSCM and two nonlinear variations of this model were applied during mechanical ventilation in basal phase and during two doses of methacholine (MCh) a bronchoconstrictor. The two nonlinear models were: 1) a volume-dependent single compartment model, which has a nonlinear term related to elastance; 2) a flowdependent single compartment model, which has a nonlinear term related to resistance. This study evaluated the adjustment of models to the measured pressure value of the respiratory system and the evaluation of these models was conducted using the F-ratio test, which is based in comparison of variances, and the Akaike criterion, that measures the difference between the model and the sample values. Through of the value of mean squared residual, the results indicate improvement at the approximation when we add the nonlinear terms in relation to the linear model, in most cases, mainly the volume-dependent single compartment model. Another result is that the Akaike criterion presented a more effective comparison during the evaluation than the F-ratio test.

Keywords: respiratory mechanics, mathematical models, nonlinearity.

LISTA DE FIGURAS

1	Exemplo de uma via aérea normal e uma via aérea broncoconstrita Fonte: modificado de medlineplus.gov	9
2	Descrição do funcionamento do ventilador mecânico. Fonte: Valenga $\left(2017\right)$	17
3	Exemplo de entradas de volume no ventilador mecânico. Fonte: Valenga (2017)	17
4	Descrição do protocolo experimental, incluindo a forma da perturbação do ventilador mecânico. Fonte: Valenga (2017)	19
5	Diagrama de blocos referente à aplicação dos métodos de comparação das aproximações através dos gráficos	20
6	Diagrama de blocos referente à implementação dos métodos de comparação estudados	21
7	Exemplo de pressão mensurada e modelada em um animal na fase basal do protocolo experimental	22
8	Valores absolutos do erro no cálculo de pressão em um animal na fase basal do protocolo experimental	23
9	Exemplo de pressão mensurada e modelada em um animal no pico de resposta de 0,3 mg/kg de MCh do protocolo experimental	23
10	Valores absolutos do erro no cálculo de pressão em um animal no pico de resposta de 0,3 mg/kg de MCh do protocolo experimental	24
11	Exemplo de pressão mensurada e modelada em um animal na fase em que a MCh já foi metabolizada	24
12	Valores absolutos do erro no cálculo de pressão em um animal na fase em que a MCh já foi metabolizada	25
13	Boxplot com valores de MSRs dos modelos matemáticos na fase basal do protocolo experimental	25
14	Boxplot com valores de MSRs dos modelos matemáticos na fase salina do protocolo experimental	26

15	Boxplot com valores de MSRs dos modelos matemáticos no pico de resposta		
	de 0,03 mg/kg de MCh	26	
16	Boxplot com valores de MSRs dos modelos matemáticos no pico de resposta		
	de 0,3 mg/kg de MCh \ldots	27	
17	Boxplot com valores de MSRs dos modelos matemáticos na fase em que a		
	MCh já foi metabolizada	27	
18	Quantidade de vezes em que cada modelo foi escolhido como melhor, de		
	acordo com o critério de Akaike, em cada uma das fases do experimento.	28	

SUMÁRIO

1	Introdução 8							
	1.1	1.1 Objetivo geral						
	1.2	Objetivos específicos	10					
	1.3	Justificativa	10					
2	Revisão Bibliográfica Fundamental							
	2.1	Métodos matemáticos	12					
	2.2	Formas de comparação	14					
3	Materiais e métodos							
	3.1	Ventilador mecânico	16					
	3.2	Protocolo experimental	17					
	3.3	Diagrama de blocos para aplicação dos métodos	20					
	3.4	Diagrama de blocos para comparação dos métodos	20					
4	Resultados							
5	Discussão 2							
6	Conclusão							
Re	Referências							
A	Apêndice A – Artigo publicado 3							

1 INTRODUÇÃO

A matemática já provou ser uma ferramenta amplamente utilizadas em várias áreas [1], incluindo a saúde. Tal ciência já se mostrou útil para realizar vários feitos importantes, como por exemplo, ajudar no entendimento do funcionamento de vários sistemas [2], para predizer a possível presença de uma doença [3] e até para entender o comportamento de uma doença [4]. Um dos sistemas que podemos estudar através da matemática é o sistema respiratório, que pode ter seu comportamento descrito por uma equação diferencial ordinária.

Existem diversos modelos matemáticos que simulam o funcionamento do sistema respiratório, e estes modelos tem complexidade e características diferentes entre si. Uma das principais características que diferenciam os modelos é a linearidade, já que existem equações diferencias ordinárias lineares e não lineares [5]. Outra característica importante é o número de parâmetros modelados. Tal característica é muito relevante pois, quando se estuda a mecânica respiratória, os parâmetros modelados precisam ter um significado fisiológico [6]. Um modelo que se aproxima muito bem dos dados experimentais porém não tem um significado fisiológico, por exemplo, não tem utilidade para um estudo de cunho biomédico.

Nos últimos anos, a avaliação da mecânica respiratória usando ventiladores mecânicos para pequenos animais contribuiu para um melhor entendimento de doenças fisiológicas que afetam o sistema respiratório [7], como por exemplo a bronquite e a asma; sendo que esta última foi a causa de aproximadamente 5 mortes/dia no Brasil em 2013 [8]. Para se avaliar a mecânica respiratória, utiliza-se uma série de parâmetros e variáveis presentes neste sistema, como por exemplo, a pressão do sistema respiratório e a elastância desse mesmo sistema. Tais valores ajudam a definir o funcionamento do sistema, fazendo parte também no processo de avaliar se um modelo representa bem o comportamento do sistema respiratório ou não.

Para encontrar as variáveis do sistema respiratório que foram utilizadas neste estudo, utilizamos um ventilador mecânico (flexiVent FX2, SCIREQ, Canadá). Estes ventiladores são amplamente utilizados em estudo de mecânica do sistema respiratório, e o ventilador utilizado neste trabalho consiste em um aparelho que insere um volume de ar no sistema respiratório do animal, seguindo uma distribuição específica, como uma onda quasi-senoidal, e realizam a obtenção dos valores de pressão e volume do sistema respiratório. A partir dessas variáveis experimentais mensuradas são encontrados os valores dos parâmetros do sistema, que o descrevem, de acordo com o modelo utilizado para estudá-lo. O funcionamento deste ventilador será descrito com mais detalhes posteriormente.

Outra propriedade importante, presente em estudos de mecânica respiratória com o intuito de avaliar os diferentes cenários de resposta, é desafiar o sistema. Geralmente, algum desafio é imposto ao sistema com o objetivo de realçar uma diferença; um método comum de se fazer isso é realizando a broncoconstrição, que é o estreitamento das vias aéreas dos pulmões a partir da musculatura lisa [9], e que pode ser induzida através do uso de drogas broncoconstritoras, como a Metacolina (MCh). A Metacolina é um fármaco comumente utilizado para desafiar o sistema respiratório, essa droga é um agonista muscarínico, que gera a contração da musculatura lisa, fazendo com o espaço disponível para passagem de ar nas vias aéreas, seja fortemente reduzido, dificultando o processo de respiração do animal. Na figura 1 abaixo é possível encontrar um exemplo de uma via aérea normal e de uma via aérea broncoconstrita.



Figura 1: Exemplo de uma via aérea normal e uma via aérea broncoconstrita Fonte: modificado de medlineplus.gov

A avaliação da mecânica respiratória pode ser feita de diversas formas, como por exemplo, através do estudo das respostas do sistema respiratório, como a pressão respiratória, a partir da decomposição desta resposta em função das frequências presentes no sinal; ou em função do tempo, através do uso de equações diferenciais ordinárias. Sabe-se que até modelos muito simples, isto é, no domínio do tempo, como os modelos estudados neste trabalho, podem apresentar termos não lineares. Além disso, sabe-se também que o pulmão tem um comportamento mecânico não linear sob diversas circunstâncias [6], como observado em numerosas doenças, como a asma e a bronquinte, ou em broncoconstrição causada por MCh, por exemplo [10]. Logo, é esperado que a adição de termos não lineares a modelos lineares possa melhorar o ajuste do modelo aos dados estudados.

1.1 Objetivo geral

Estudar e comparar três modelos matemáticos que descrevem o sistema respiratório, sendo um linear e dois não lineares no domínio do tempo.

1.2 Objetivos específicos

Aplicar três modelos matemáticos diferentes, sendo um modelo linear e dois não lineares, aos dados experimentais de mecânica respiratória de um grupo de ratos *Wistar* com o objetivo de estudar qual dos modelos se aproxima melhor dos dados estudados nos diferentes cenários experimentais do estudo.

Em seguida, utilizar duas formas diferentes de avaliar a adequação destes modelos a fim de buscar a melhor forma de comparar as respostas obtidas, com o propósito de escolher qual dos modelos pode ser considerado melhor de acordo com os cenários presentes no protocolo experimental.

1.3 Justificativa

O sistema respiratório é muito importante, uma vez que os pulmões são um órgão vital. Dentre as diversas funções do sistema respiratório temos: a realização da troca gasosa, a transferência de oxigênio para o sangue e dióxido de carbono para o ar que é exalado, a filtragem, aquecimento e umedecimento do ar que entra nos pulmões, a regulagem do pH do sangue. Desta forma, é possível notar que estudar este sistema é uma tarefa muito importante, já que este processo nos ajuda a entender detalhadamente o comportamento do sistema, tanto em condições normais quanto sob o efeito de alguma droga, por exemplo. Uma das formas de se estudar este sistema é através de modelos matemáticos [6]; embora existam vários estudos sobre modelos aplicados na mecânica do sistema respiratório [7,11], ainda não existam muitos estudos sobre como comparar estes modelos matemáticos e qual pode ser a melhor forma de realizar isso.

Portanto este projeto tem como objetivo estudar, por meio de dados experimentais, obtidos através do uso de ventiladores mecânicos, qual modelo matemático pode ser considerado melhor para as situações abordadas no protocolo experimental, como, por exemplo, quando o sistema sofre broncoconstrição; e também justificar os possíveis motivos que fazem com que um destes modelos seja considerado melhor.

A ideia é que encontremos um modelo que representa melhor o sistema respiratório nos diferentes cenários, de forma que possamos entender melhor o comportamento do sistema através do estudo da equação que apresenta a melhor aproximação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA FUNDAMENTAL

2.1 Métodos matemáticos

Após o estudo de diferentes métodos de modelar o funcionamento do sistema respiratório, selecionamos alguns modelos para serem desenvolvidos em um software matemático (Matlab, The MathWorks, EUA) e, posteriormente, aplicados aos dados experimentais. Os modelos escolhidos foram baseados nas referências [6, 11, 12].

O primeiro modelo selecionado é o Modelo Linear de Compartimento Único (*Linear Single Compartment Model – LSCM*), que é um dos modelos mais simples e conhecidos para estudar o funcionamento do sistema respiratório. O modelo é calculado através de regressão linear com os valores obtidos experimentalmente de pressão (P) e volume (V) através de um ventilador mecânico; e é regido pela equação 2.1, que se encontra abaixo.

$$P = EV + RV + P_0 \tag{2.1}$$

Na qual E é a elastância, R é a resistência, \dot{V} é o fluxo do sistema respiratório e P_0 é uma constante que absorve qualquer erro na estimação funcional da capacidade residual pulmonar. Esta mesma equação pode ser escrita como uma equação diferencial ordinária (EDO), como pode ser observado a seguir:

$$\frac{\partial V}{\partial t} = \frac{P}{R} - \frac{EV}{R} - \frac{P_0}{R}$$
(2.2)

As variáveis e os parâmetros presentes nas equações acima descrevem o sistema respiratório. Para entender melhor o funcionamento do sistema como um todo, vamos descrever a seguir o que cada um desses parâmetros e cada uma dessas variáveis representa. Inicialmente, é importante frisar que os parâmetros presentes na equação $(E, R \ e \ P_0)$ são fixos e são calculados em relação a cada um dos diferentes cenários presentes no experimento, e as variáveis contidas nas equações $(P, V e \dot{V})$ são escritas em função do tempo.

Descrevendo as variáveis e parâmetros na ordem em que estão presentes na fórmula temos que, P é a pressão do sistema respiratório - pressão presente no ar que sai e que entra do sistema respiratório, e que é medido pelo ventilador mecânico. E é a elastância do sistema respiratório, representa a facilidade em que o pulmão se expande para receber o ar que entra no sistema através do processo de inspiração. Em seguida, temos V que representa o volume do sistema respiratório, ou seja, o volume de ar que entra no sistema respiratório, variável que é medida também através do ventilador mecânico. Posteriormente, temos o parâmetro R que representa a resistência à passagem do ar que o sistema respiratório possui, ou seja, quão difícil é a passagem de ar pelo sistema. Multiplicada por este parâmetro, temos a variável \dot{V} , que é a derivada do volume do sistema respiratório, e representa a velocidade com que o ar entra no sistema respiratório. E por fim, temos o parâmetro P_0 que é um parâmetro que absorve os erros de estimação do valor de Pressão Positiva Expiratória Final (do inglês *Positive end-expiratory pressure - PEEP*).

O segundo modelo utilizado neste estudo é uma variação do *LSCM*, e é conhecido como modelo dependente do volume de compartimento único, tendo sua equação apresentada na fórmula 2.3.

$$P = E_1 V + E_2 V^2 + R \dot{V} + P_0 \tag{2.3}$$

Na qual, além de V^2 que é o volume do sistema respiratório ao quadrado, temos as variáveis já definidas na apresentação do primeiro modelo e contidas na equação [2.1].

O terceiro modelo adotado é o modelo dependente do fluxo de compartimento único, também uma variação do *LSCM*, porém com não linearidade em relação ao fluxo pulmonar. Tal modelo é descrito pela equação 2.4.

$$P = EV + R_1 \dot{V} + R_2 \dot{V} |\dot{V}| + P_0 \tag{2.4}$$

Onde há, além das variáveis já apresentadas, $|\dot{V}|$ que é o módulo do valor do fluxo do sistema respiratório.

2.2 Formas de comparação

Depois de aplicar os diferentes modelos, é necessário estudar as formas de comparar estes modelos, a fim de selecionar qual modelo se adequa melhor aos dados. Então, para comparar os modelos selecionados usaremos duas formas diferentes: o teste *F-ratio* e o Critério de Akaike. Uma das principais referências utilizada nesta sessão do estudo foi [6].

O teste *F*-ratio consiste no teste estatístico que usa a distribuição F de *Fisher-Snedecor* para comparar a igualdade entre duas variâncias [13]. Para realizar este teste, calculamos o valor da Média dos Resíduos ao Quadrado (*Mean Squared Residual - MSR*), que mede a variância dos resíduos entre os dados experimentais e as aproximações encontradas pelos modelos. A equação do cálculo do MSR se encontra na equação 2.5, abaixo:

$$MSR = \frac{\sum_{i=1}^{n} (P_i - \hat{P}_i)^2}{n - m}$$
(2.5)

Na qual, n é o tamanho da amostra, no caso de trabalho é igual a 6, P_i é o valor de pressão medido, obtido pelo ventilador mecânico. \hat{P}_i é o valor de pressão estimado pelo modelo na amostra i, esse valor é calculado através do uso dos valores dos parâmetros que são obtidos através de regressão linear, em seguida, definidos os parâmetros do modelo e com os valores de volume (V) e fluxo(\dot{V}) obtidos através do ventilador mecânico, é calculado o valor aproximado de pressão, que é obtido para cada um dos três modelos estudados. Além disso, na fórmula há também o valor m, que é o número de parâmetros usados em cada modelo. Portanto, observando a fórmula, é possível notar que para cada modelo estudado, e para cada uma das fases presentes no protocolo experimental, é calculado um valor de MSR.

Para realizar efetivamente o teste F-ratio, temos que checar se a razão entre os MSRs de dois diferentes modelos (sendo o numerador com o maior valor) está na área entre 2,5% e 97,5% da distribuição F com n-1 e n-1 graus de liberdade [14]; se isso ocorrer não temos indícios para acreditar que as variâncias dos modelos têm valores que possam ser considerados diferentes.

A outra forma de comparação, que é o Critério de Akaike, é realizada através do cálculo de uma constante chamada AIC_c (Akaike Information Criterion corrected), que foi desenvolvida para testes com amostras pequenas. Essa constante é calculada utilizando o valor do MSR, e este cálculo é realizado de acordo com a equação 2.6.

$$AIC_c = 2m + n[ln(2\pi MSR) + 1] + \frac{2m(m+1)}{n - m - 1}$$
(2.6)

Todas as variáveis presentes nesta equação foram descritas anteriormente. Pela definição do valor da constante AIC_c , é possível perceber que ela pode ser calculada para todos os modelos, e em todas as fases do protocolo experimental, a fim de comparar, simultaneamente, os modelos selecionados. De acordo com o critério de Akaike, o melhor modelo é o que tem o menor valor de AIC_c [15].

3 MATERIAIS E MÉTODOS

As rotinas computacionais usadas nesta pesquisa foram desenvolvidas em um software de programação matemática (Matlab, The MathWorks, EUA), os gráficos utilizados para demonstrar os resultados também foram gerados pelo mesmo programa.

3.1 Ventilador mecânico

Uma das ferramentas utilizadas neste estudo foi o ventilador mecânico para pequenos animais (flexiVent FX2, SCIREQ, Canadá). Dado as variáveis e parâmetros encontradas nos modelos utilizados neste estudo, o ventilador mecânico tem como função gerar o volume e adquirir a pressão, consequentemente o fluxo é obtido através da entrada, que é o volume, e os valores dos parâmetros dos modelos são calculados posteriormente baseados nos valores destas variáveis. Então, em seguida, realizamos a comparação dos modelos.

Para calcular as variáveis, o ventilador mecânico utilizado neste estudo insere um volume de ar como entrada no sistema respiratório do animal e calcula o valor do fluxo, que é a derivada do volume, e também realiza a medição do valor de pressão na saída do sistema respiratório do animal. Seu funcionamento se encontra descrito na figura 2.



Figura 2: Descrição do funcionamento do ventilador mecânico. Fonte: Valenga (2017)

Neste estudo, o ventilador mecânico realizou dois formatos de entradas diferentes, o quasi-senoidal, que tem um formato que se assemelha a uma senóide, e o de múltiplas frequências, que consiste na soma de vários sinais senoidais com diferentes frequências. Na figura 3 encontra-se uma figura com os formatos destas entradas.



Figura 3: Exemplo de entradas de volume no ventilador mecânico. Fonte: Valenga (2017)

3.2 Protocolo experimental

Para aplicar as rotinas computacionais que foram implementadas, utilizamos dados já coletados de seis ratos machos da linhagem Wistar não SPF (do inglês Specific Pathogen Free) com massa de 314 ± 17 g (média \pm desvio padrão) e dez semanas de vida. Os animais provenientes do Biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), receberam ração e água de acordo com as suas necessidades e foram mantidos num ambiente com ciclos de iluminação de 12 h com luz artificial e 12 h sem luz. Todos os animais receberam cuidados de acordo com as normas estabelecidas no Guide for the Care and Use of Laboratory Animal (Institute of Laboratory Animal Resources – National

18

Academy of Sciences, Washington, D.C., 1996) e segundo os Princípios Éticos na Experimentação Animal da Legislação Brasileira e do Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA). O experimento com animais foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CEUA – 0057/12) da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da FMUSP.

Os animais foram anestesiados via intraperitoneal com Xilazina 1 mg/100g (cloridato de xilazina 20 mg/mL, Rompun, Bayer) e Cetamina 7,5 mg/100g (hidrocloreto de dectrocetamina, 75 mg/mL, Cristália). O animal foi colocado na posição supina para intubação endotraqueal, onde uma cânula de polietileno (ID = 3 mm, L = 85 mm) foi introduzida. Uma segunda cânula foi inserida na veia jugular direita para injeções da solução de salina tamponada com fosfato (PBS) e as doses de MCh. Após esta preparação, os animais foram mantidos com ventilação mecânica através do ventilador para pequenos animais, utilizando um volume corrente de 10 mL/kg, frequência respiratória de 90 bpm e pressão expiratória final positiva (PEEP) de 3 cmH_2O , utilizando uma coluna de água.

Antes de iniciar os experimentos, foi realizada a calibração do ventilador (flexiVent FX2, SCIREQ, Canadá) para pequenos animais (Small Animal Ventilator - SAV). E, em seguida, com o animal sendo ventilado, foi iniciado o protocolo experimental, que consiste na aplicação de perturbações volumétricas no sistema respiratório do animal para a aquisição dos sinais respiratórios de pressão (P) e volume (V) na traqueia em cinco diferentes cenários das vias aéreas: basal, solução salina (cloreto de sódio 0,9%), 30 μ g/kg de MCh, 300 μ g/kg de MCh e metabolizado.

Ao iniciar o protocolo, foram realizadas manobras de insuflação em rampa até um platô de 27 $cmH_2O + 3cmH_2O$ da PEEP para homogeneizar as regiões dos pulmões. Quatro perturbações quasi-senoidais com volume de 5 mL/kg e com frequência de 90 bpm foram aplicadas a cada 30s para obter os dados afim de calcular os parâmetros de elastância e resistência do sistema respiratório. Em seguida, foi iniciado o processo do protocolo experimental em que são realizados os diferentes cenários. Na figura 4, temos uma imagem que descreve os processos presentes no protocolo experimental, incluindo a forma de perturbação realizada pelo ventilador mecânico e o momento em que essas perturbações foram feitas.



Figura 4: Descrição do protocolo experimental, incluindo a forma da perturbação do ventilador mecânico. Fonte: Valenga (2017)

No cenário basal foram aplicadas perturbações ventilatórias que tem os formatos contidos na figura 3, variando entre pertubações quasi-senoidais e de múltiplas frequências, para obtenção dos sinais respiratórios sem injeção de solução no acesso venoso. Essas pertubações ventilatórias são as variações presentes no volume que é inserido no sistema respiratório, através do ventilador mecânico. No segundo cenário foi aplicada uma dose da solução PBS (do inglês *Phosphate Buffered Saline*) no acesso da veia jugular, seguido das quatro perturbações para as medições; essa solução é a substância onde as doses de MCh serão diluídas futuramente. Nos dois cenários seguintes foram realizadas medições logo após as aplicações de MCh nas doses de 30 e 300 μ g/kg. A primeira perturbação foi realizada 5s após a injeção intravenosa de MCh [16]. A aplicação da segunda dose de MCh ocorreu 5min após a primeira dose. Por fim, foi realizada uma última aquisição dos sinais respiratórios que representa o cenário onde a droga já teria sido metabolizada [17].

3.3 Diagrama de blocos para aplicação dos métodos

Para realizar a comparação dos modelos estudados, além de utilizar os métodos de comparação citados anteriormente, realizamos também alguns gráficos para comparar a adequação dos modelos aos dados. O diagrama de blocos (Fig. 5) abaixo, descreve a aplicação dos modelos, assim como a geração dos gráficos referentes à aproximação realizada por cada modelo. Os dados utilizados no estudo foram obtidos a uma frequência de amostragem de 256 Hz.



Figura 5: Diagrama de blocos referente à aplicação dos métodos de comparação das aproximações através dos gráficos

3.4 Diagrama de blocos para comparação dos métodos

Para comparar os modelos matemáticos, implementamos os métodos de comparação citados anteriormente, tal implementação foi realizada de acordo com o seguinte diagrama de blocos (Fig. 6):



Figura 6: Diagrama de blocos referente à implementação dos métodos de comparação estudados

4 RESULTADOS

Geramos alguns gráficos afim de exibir visualmente a diferença de adaptação entre os modelos. As figuras 7-12 mostram gráficos com os modelos selecionados aplicados aos dados, e seus respectivos gráficos com os valores absolutos dos erros na aproximação do valor de pressão. O valor de pressão modelada presente nos gráfico é calculado através de regressão linear, utilizado os valores de pressão medidos; cada gráfico é baseado em um animal diferente da amostra e exibe uma fase diferente do experimento.



Figura 7: Exemplo de pressão mensurada e modelada em um animal na fase basal do protocolo experimental



Figura 8: Valores absolutos do erro no cálculo de pressão em um animal na fase basal do protocolo experimental



Figura 9: Exemplo de pressão mensurada e modelada em um animal no pico de resposta de 0,3 mg/kg de MCh do protocolo experimental



Figura 10: Valores absolutos do erro no cálculo de pressão em um animal no pico de resposta de 0,3 mg/kg de MCh do protocolo experimental



Figura 11: Exemplo de pressão mensurada e modelada em um animal na fase em que a MCh já foi metabolizada



Figura 12: Valores absolutos do erro no cálculo de pressão em um animal na fase em que a MCh já foi metabolizada

As figuras 13-17 a seguir mostram boxplots gerados com os valores de MSRs encontrados nas diferentes fases do experimento relacionadas a cada modelo estudado.



Figura 13: Boxplot com valores de MSRs dos modelos matemáticos na fase basal do protocolo experimental



Figura 14: Boxplot com valores de MSRs dos modelos matemáticos na fase salina do protocolo experimental



Figura 15: Boxplot com valores de MSRs dos modelos matemáticos no pico de resposta de $0,03~{\rm mg/kg}$ de MCh



Figura 16: Boxplot com valores de MSRs dos modelos matemáticos no pico de resposta de $0.3~{\rm mg/kg}$ de MCh



Figura 17: Boxplot com valores de MSRs dos modelos matemáticos na fase em que a MCh já foi metabolizada

O gráfico abaixo, na figura 18, contém os dados sobre a quantidade de vezes em que cada modelo foi escolhido como melhor, de acordo com o critério de Akaike, relacionado às fases do experimento.



Figura 18: Quantidade de vezes em que cada modelo foi escolhido como melhor, de acordo com o critério de Akaike, em cada uma das fases do experimento.

Além dos resultados já exibidos, outro resultado deste estudo foi a publicação e apresentação de um trabalho completo no Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica de 2018, que se encontra no apêndice A.

5 DISCUSSÃO

Há diversas formas de avaliar a adequação dos modelos selecionados aos dados medidos. Visualmente, na figura 7 presente nos resultados, por exemplo, os modelos matemáticos se encontram muito próximos entre si e próximos também dos dados calculados de pressão através da regressão linear, isto pode ser percebido observando também a figura 8, com os valores absolutos do erro de aproximação. No entanto, na figura 9, na maior dose de Metacolina, temos um exemplo onde os modelos escolhidos não se aproximam muito bem dos dados medidos; pode-se notar que na figura 10, os valores dos erros tem diferenças notáveis entre os modelos. Ao observar a figura 11, é possível notar que o modelo 2 é o que mais se aproxima dos dados, neste caso, e isto se confirma através do gráfico com o valor absoluto do erro, onde o modelo 2 é o que mais se aproxima do valor nulo na maior parte do tempo.

As figuras 13-17 mostram que, em praticamente todos os casos, os valores do MSR do modelo 3, com dependência do fluxo, e o LSCM apresentaram resultados semelhantes. Em contraste, o modelo 2 apresentou valores menores de MSR, quando comparado com os outros dois modelos; especialmente na figura 17, isto é, na fase metabolizada.

Além disso, observando o gráfico presente na figura 18 é possível ver que apenas na fase salina todos os modelos tiveram resultados semelhantes, como podemos notar também na figura 11. Também é possível notar que na fase onde o animal está com a MCh metabolizada, o melhor modelo, de forma unânime, segundo o critério de Akaike, foi o modelo 2, que contém a não linearidade relacionada ao volume. Também, de acordo com o gráfico, em todas as fases, com exceção da salina, os modelos não lineares foram os que se aproximaram melhor dos dados medidos.

Sobre o teste F-ratio, os resultados indicam que nenhum modelo pode ser considerado superior, em relação à aproximação, a outro modelo estudado. Em todos os casos, o teste F-ratio mostrou que não haviam evidências para negar a hipótese nula, ou seja, não havia uma diferença significativa entre as aproximações realizadas pelos modelos para afirmar que as variâncias poderiam ser consideradas diferentes. Então, analisando as formas de comparação dos modelos utilizadas no estudo, é possível perceber que o teste F-ratio não foi capaz de selecionar um modelo matemático que possa ser considerado melhor que os outros modelos em nenhum dos casos testados; diferentemente do critério de Akaike, que selecionou um modelo que poderia ser considerado melhor em todos os casos. Foi possível perceber então que o critério de Akaike pode ter uma sensibilidade maior que o teste F-ratio para diferenciar resultados de adaptação de diferentes modelos aos mesmo dados. É importante salientar que o critério de Akaike é uma estimação do que é esperado, a distância relativa entre a aproximação feita pelo modelo e os dados estudados [15], por isso este critério sempre encontra um modelo que possa ser considerado melhor, mesmo se o modelo selecionado não tiver um significado fisiológico ou se a diferença entre os modelos for pequena. Assim sendo, é importante escolher cuidadosamente os modelos para usar o critério de Akaike.

É sabido que o teste F-ratio é baseado em uma forte suposição que a distribuição dos dados de onde obtivemos a amostra segue uma distribuição Normal [13]. Isto pode ser uma das razões para justificar o fato do teste F-ratio não ter sido capaz de diferenciar a adequação dos modelos selecionados. Até porque, neste estudo, não conseguimos garantir que a suposição dita acima tenha sido respeitada. Por outro lado, o critério de Akaike requer nada além dos valores do MSR dos modelos para comparar os mesmos; portanto, é muito mais fácil de ser aplicado.

É possível ainda notar que a mecânica respiratória dos ratos nas fases em que eles sofrem o efeito da broncoconstrição é descrita significativamente melhor pelo modelo que inclui a dependência do volume, o modelo 2, do que pelo LSCM e o modelo 3, com dependência do fluxo, como descrito pela literatura [11,12]. O termo "EV" no modelo 1 assume que a relação dinâmica pressão-volume é linear, e a adição do termo " E_2V^2 " dá ao modelo uma aproximação melhor para descrever o comportamento não linear da relação pressão-volume. Este termo da relação entre o volume ao quadrado e a elastância representa um progressivo enrijecimento do pulmão à medida que se aumenta o volume pulmonar, iniciando na capacidade residual pulmonar até a capacidade pulmonar total [6]. A melhoria devido à adição do termo não linear dependente de volume E_2 neste caso pode ter alguns motivos, como, por exemplo, a mudança de propriedades pulmonares, como a alteração do parênquima, que é encontrada em fibrose pulmonar, ou o parênquima pulmonar pode ter se enrijecido durante a broncoconstrição.

No entanto, a adição do termo $R_2 \dot{V} |\dot{V}|$, na maioria dos casos, não resultou em uma melhora significativa, e fisiologicamente falando, o modelo 3 é melhor quando o fluxo é turbulento [6], o que provavelmente não ocorreu com muita frequência neste estudo.

6 CONCLUSÃO

Sabe-se que o sistema respiratório é importantíssimo para a vida, consequentemente, entender o funcionamento deste mesmo sistema, neste caso através do estudo do modelo que se adequa melhor aos cenários presentes no protocolo experimental, é uma tarefa muito importante. Neste trabalho, tivemos como resultado que os modelos não lineares obtiveram resultados superiores, principalmente o modelo com dependência do volume, modelo 2, em relação ao modelo linear, na maioria dos casos estudados, conforme suposto inicialmente.

No caso das formas de comparação dos modelos, o teste F-ratio não pode discriminar o modelo com a melhor aproximação em nenhum dos casos estudados. No entanto, o critério de Akaike foi capaz de selecionar, em cada um dos casos, o melhor modelo dentre os três escolhidos.

Uma vez que este trabalho teve como objetivo comparar o modelo linear com duas variações não lineares do mesmo, a ideia é futuramente, comparar também a aproximação dos modelos com um modelo linear multicompartimental.

REFERÊNCIAS

- [1] BELTRAMI, E. <u>Mathematical Models for Society and Biology</u>. Elsevier Science, 2013. 1–8 p. ISBN 9780124046931. Disponível em: https://books.google.com.br/books?id=k0pk2K2a3rwC.
- [2] AOKI, F. G. Modelos matemáticos aplicados na avaliação da mecânica respiratória em camundongos com desafios de agonista da musculatura lisa. Tese (Doutorado) — Universidade de São Paulo.
- [3] SILVEIRA, G. P.; VENDITE, L. L.; BARROS, L. C. Software desenvolvido a partir de um modelo matemático fuzzy para predizer o estágio patológico do câncer de próstata. Biomatemática, v. 18, p. 27–36, 2008.
- [4] FINKELMAN, B. S. et al. Global patterns in seasonal activity of influenza a/h3n2, a/h1n1, and b from 1997 to 2005: viral coexistence and latitudinal gradients. <u>PloS one</u>, Public Library of Science, v. 2, n. 12, p. e1296, 2007.
- [5] BOCCARA, N. Modeling Complex Systems. Springer New York, 2010. 1–9, 51–56 p. (Graduate Texts in Physics). ISBN 9781441965622. Disponível em: https://books.google.com.br/books?id=boUorPmcbKMC>.
- [6] BATES, J. Lung Mechanics: An Inverse Modeling Approach. Cambridge University Press. 2009.ISBN 9780521509602. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=CNgQ0B7_Fo0C>.
- [7] BATES, J. H. T.; RINCON, M.; IRVIN, C. G. Animal models of asthma. <u>American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology</u>, v. 297, n. 3, p. L401–L410, 2009. Disponível em: https://doi.org/10.1152/ajplung.00027.2009>.
- [8] CARDOSO, T. A. et al. The impact of asthma in brazil: a longitudinal analysis of data from a brazilian national database system. <u>J Bras Pneumol</u>, n. 43(3), p. 163–168, apr 2017. ISSN 0006-3444 (Print).
- [9] DORLAND. Dorland's Illustrated Medical Dictionary E-Book. Elsevier Health Sciences, 2011. (Dorland's Medical Dictionary). ISBN 9781455709854. Disponível em: https://books.google.com.br/books?id=mNACisYwbZoC>.
- [10] PETAK, F. et al. Methacholine-induced bronchoconstriction in rats: effects of intravenous vs. aerosol delivery. <u>J Appl Physiol</u>, n. 82(5), p. 1479–1487, may 1997. ISSN 8750-7587 (Print).
- [11] KANO, S. et al. Influence of nonlinearities on estimates of respiratory mechanics using multilinear regression analysis. <u>Journal of Applied</u> <u>Physiology</u>, v. 77, n. 3, p. 1185–1197, 1994. PMID: 7836121. Disponível em: https://doi.org/10.1152/jappl.1994.77.3.1185>.

- [12] WAGERS, S. et al. Nonlinearity of respiratory mechanics during bronchoconstriction in mice with airway inflammation. Journal of Applied Physiology, v. 92, n. 5, p. 1802– 1807, 2002. Disponível em: https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00883.2001>.
- [13] HARTLEY, H. O. The maximum F-ratio as a short-cut test for heterogeneity of variance. Biometrika, v. 37, n. 3-4, p. 308–312, dec 1950. ISSN 0006-3444 (Print).
- [14] MORETTIN, P. A.; BUSSAB, W. O. <u>Estatística Básica</u>. [S.l.: s.n.], 2010. ISBN 9788502081772.
- [15] BURNHAM, K.; ANDERSON, D. Selection Model and Multimodel Inference: А Practical Information-Theoretic Approach. Sprin-York, New 2007. ISBN 9780387224565. Disponível ger em: <https://books.google.com.br/books?id=IWUKBwAAQBAJ>.
- [16] BATES, J. H. T. et al. Temporal dynamics of acute isovolume bronchoconstriction in the rat. <u>Journal of Applied Physiology</u>, v. 82, n. 1, p. 55–62, 1997. PMID: 9029198. Disponível em: https://doi.org/10.1152/jappl.1997.82.1.55>.
- [17] RODRIGUEZ, E. et al. The orl rat is more responsive to methacholine challenge than wild type. <u>Pulm Pharmacol Ther</u>, n. 29(2), p. 199–208, dec 2014. ISSN 8750-7587 (Print).

APÊNDICE A – ARTIGO PUBLICADO

Cópia do artigo publicado no Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica: "Comparison of three different mathematical models applied to respiratory mechanics during bronchoconstriction".

Comparison of three different mathematical models applied to respiratory mechanics during bronchoconstriction

Amanda N. Barros^{1,2}, Renato de L. Vitorasso², Marcelo H. Valenga², Fabio Gava Aoki², Thiago Guimarães Rodrigues², Paulo F. G. Cardoso³, Rogério Pazetti³, and Henrique T. Moriya²

¹ Institute of Mathematics and Statistics, São Paulo, Brazil

² Laboratory of Biomedical Engineering – Escola Politécnica of the University of São Paulo, São Paulo, Brazil

³Instituto do Coração, Thoracic Surgery Research Laboratory (LIM 61), São Paulo, Brazil manda.n.barros@gmail.com

Abstract. The assessment of respiratory mechanics is usually made by mathematical models. The simplest and one of the most known models is the Linear Single-Compartment Model (LSCM). The main prerogative of LSCM is linearity. However, the respiratory system does not have a linear behavior under several circumstances and the objective of this work is to compare the LSCM with 2 nonlinear models. In order to fulfill these comparisons, 6 male Wistar rats were studied during bronchoconstriction. Using a commercial ventilator, the LSCM and two nonlinear variations of this model were applied during mechanical ventilation in basal and during two doses of methacholine (MCh) a bronchoconstrictor. The two nonlinear models were: 1) a volume-dependent single compartment model, which have a nonlinear term related to elastance; 2) a flow-dependent single compartment model, which have a nonlinear term related to resistance. This study evaluated the adjustment of models to the measured pressure value and the evaluation of these models was conducted using the F-ratio test, which is based in comparison of variances, and the Akaike criterion, that measures the difference between the model and the sample values. Through of the value of mean squared residual, the results indicate improvement at the approximation when we add the nonlinear terms in relation to the linear model, in most cases, mainly the volume-dependent single compartment model. And another result is that the Akaike criterion presented a more effective comparison during the evaluation than the F-ratio test.

Keywords: respiratory mechanics, mathematical models, nonlinearity.

1 Introduction

The mathematical models are important tools to model systems [1]. Each model presents their own complexity and characteristics. One of the main characteristics that differentiate one model from another is linearity, since there are linear and non-linear models [2]. Another important characteristic is the number of modeled parameters. This characteristic is relevant, since the

modeled parameters, in studies of respiratory mechanics, must present physiological meaning [3]. A model with an excellent fit and many parameters with no physiological meaning is not useful to a biomedical study.

In the last years, the assessment of respiratory mechanics using small animal ventilators (SAV) contributed for a better understanding of diseases physiology that affect the respiratory system [4], such as bronchitis and asthma, which caused approximately 5 deaths/day in Brazil in 2013 [5].

Another important feature present in the studies of respiratory mechanics is the challenge of the system. Usually, some challenge is imposed to the system in order to highlight a potential difference and, probably, one common method of challenge the system is the bronchoconstriction induced *via* methacholine (MCh). The bronchoconstriction is the 'narrowing of air passages of the lungs from smooth muscle contraction, as in asthma' [6]

The evaluation of respiratory mechanics may be done *via* time or frequency domain modeling. Even the simplest models, i.e. the time domain ones, as the models studied in this work, may or may not present non-linear terms.

In addition, it is known that the lung has a nonlinear mechanical behavior under several circumstances [3], as observed in numerous diseases or, e.g., in a bronchoconstriction caused by MCh [7]. Thus, under some circumstances, it is expected that adding nonlinear terms to linear models would improve the adjustment that will be done through linear regression.

The purpose of this article is to apply three models, one linear and two nonlinear, on data of respiratory mechanics of a group of *Wistar* rats and compare them using *F*-ratio test and the Akaike's Criterion.

2 Materials and methods

2.1 Animals

Male Wistar rats (n = 6, 10 wk old, $314 \pm 17g$ body weight) non-SPF (non *Specific Pathogen Free*) were used in this study. They came from animal facility of School of Medicine of the University of São Paulo (FMUSP) received ration and water according to their needs and were kept in an environment with lighting cycles of 12 hours with artificial light and 12 hours without light. All the animals received the care according to the established norms in [8]. The procedures are according to the Brazilian National Law number 11794 from 10/08/2008, which regulates all research activities involving animal use in the country. The experiment with animals was approved by the CEUA – FMUSP (0057/12).

2.2 Experimental protocol

The animals were anesthetized *via* intraperitonial with xylazine 1 mg/100g (xylazine hydrochloride 20 mg/mL, Rompun, Bayer) and ketamine 7.5 mg/100g (dextroketamine hydrochloride 75 mg/mL, Cristália). They were placed supine for endotracheal intubation, where a polyethylene cannula (ID= 3 mm, L= 85 mm) was introduced. One second cannula was inserted into the right jugular vein for injections of *Phosphate Buffered Saline* (PBS) solution and the doses of MCh. After this preparation, the animals were kept with mechanical ventilation trough the SAV, using a tidal volume of 10 mL/kg, respiratory frequency of 90 bpm and the Positive End Expiratory Pressure (PEEP) of 3 cmH₂O, using a water column.

After the calibration of the SAV and the connection of animal to the ventilator the experimental protocol began. The protocol consisted of the application of volumetric disturbances for acquisition of the respiratory signals of pressure (P) and volume (V) at the trachea.

At the beginning of the protocol, ramp insufflation maneuvers were performed (30 cmH₂O). Four quasi-sinusoidal volume perturbations of 5 mL/kg and frequency of 90 bpm were applied every 30s in order to obtain data to calculate the parameters of elastance and resistance of the respiratory system.

In the basal scenario were performed ventilator perturbations without any solution in the venous access. In the second scenario was applied the PBS, followed by four perturbations. In the two following scenarios were performed measurements right after the applications of MCh in the doses of 30 and 300 μ g/kg. The first perturbation was performed 5 seconds after the intravenous injection of MCh [9]. Finally, one last acquisition of the respiratory signals was performed 5 minutes after the last dose of MCh, that represents the scenario where the drug already would have been metabolized [10].

2.3 Data collecting

The measurement of the pressure (P) and volume (V) of the respiratory system was performed using a mechanical ventilator (flexiVent FX2, SCIREQ, Canada). One quasi-sinusoidal perturbation (1.5 Hz) of volume was used to apply the models and calculate the mechanical parameters of respiratory system with the sampling frequency of 256 Hz.

2.4 Application of mathematical models

The LSCM or model 1 was calculated by regression with the pressure (P) and volume (V) values, as can be seen in equation 1 [3].

$$P = EV + R\dot{V} + P_0 \tag{1}$$

where *E* is the elastance, *R* is the resistance, \dot{V} is the respiratory flow and finally P_0 is a constant the function of which is to absorb any errors in estimating functional residual capacity.

The second studied model (Model 2) is a volume-dependent single compartment model, one variation of the Model 1 with the addition of one nonlinear E_2 term related to volume as presented in equation 2.

$$P = E_1 V + E_2 V^2 + R \dot{V} + P_0 \tag{2}$$

In equation 2, we have the same variables and parameters defined for the LSCM with the addition of V^2 , the squared lung volume.

The last model (Model 3), a flow-dependent single compartment model, just like the Model 2, also is a variation of LSCM, but with the addition of one nonlinear term (R_2) in relation to airflow, as presented in equation 3.

$$P = EV + R_1 \dot{V} + R_2 \dot{V} |\dot{V}| + P_0 \tag{3}$$

In equation 3, we have the terms already defined and $|\dot{V}|$ that is the absolute value of the airflow.

2.5 Comparisons

To compare the three models, the *F*-ratio test and the Akaike criterion were used [3]. The *F*-ratio test consists in a statistic test using the *F* of Fisher-Snedecor distribution to compare the equality between two variances [11]. We used this to compare two different mathematical models using the *mean squared residual (MSR)*, the variance of the residuals between a data set and its model fit [3], that is calculated according to the equation 4.

$$MSR = \frac{\sum_{i=1}^{n} (P_i - \hat{P}_i)^2}{n - m}$$
(4)

In equation 4, *n* is the sample size, P_i is the value of measured pressure and \hat{P}_i is the estimated value by the model in sample *i*. We also have *m* that is the number of parameters used in each model. Therefore, for each studied case, there is a *MSR* value related to a different mathematical model. To perform the *F*-ratio test that compares variances, we have to check if the ratio between two different models (with the numerator as the highest value) is in the area between 2.5% e 97.5% of the *F* distribution with *n*-1 and *n*-1 degrees of freedom [12], and this calculation were done through a mathematical programming environment (*Matlab, The MathWorks, USA*).

The Akaike criterion is performed through a constant called *Akaike information criterion corrected* (*AICc*) that is calculated through the equation 5.

$$AIC_{c} = 2m + n[ln(2\pi MSR) + 1] + \frac{2m(m+1)}{n-m-1}$$
(5)

It is possible to calculate this value for all models, and to compare the three studied models simultaneously. According to the Akaike criterion, the best model is the one that presents the lower *AICc* value [13].

3 Results

The figures 1-3 shows the graph with all the chosen models applied in data of one animal and the calculated values by linear regression, each graph is based on a different animal from the sample.



Fig. 1. The measured pressure value (continuous black line) and the pressure modeled by the three models of an example animal in basal.



Fig. 2. The measured pressure value (continuous black line) and the pressure modeled by the three models of an example animal in the second dose of MCh (0.3 mg/kg).



Fig. 3. The measured pressure value (continuous black line) and the pressure modeled by the three models of an example animal in the MCh post-metabolism state.

The figure 4 shows the MSR values at the basal phase of each mathematical model.



Fig. 4. Boxplot graph with the *MSR* values of the mathematical models at the basal phase.

The figure 5 shows the MSR values at the saline phase of each mathematical model.



Fig. 5. Boxplot graph with the *MSR* values of the mathematical models at the saline phase.

The figures 6 and 7 show the MSR values of each mathematical model at the 0.03 and 0.3 mg/kg of MCh doses.



Fig. 6. Boxplot graph with the MSR values of the models at the first dose of MCh (0.03 mg/kg).



Models applied in the phase with application of 0.3 mg/kg of MCh

Fig. 7. Boxplot graph with the *MSR* values of the models when we applied the second injection of MCh.

The figure 8 shows the *MSR* values at the last phase of the experiment, when MCh was already metabolized.



Fig. 8. Boxplot graph with MSR values of the models at the post-metabolism phase.

The table 1 relates the best mathematical model, according to Akaike criterion, to the studied phases of the experience.

 Table 1. Number of times in which each model was considered the best, according to Akaike criterion related to each studied phases.

	Basal	Saline	0.03 mg/kg of MCh	0.3 mg/kg of MCh	Post- Metabolized
Model 1	0	2	0	0	0
Model 2	4	2	4	2	6
Model 3	2	2	2	4	0

4 Discussion

There are many forms of assess the adequacy of the models to the measured data. Visually, e.g., in the figure 1, the mathematical models were very close to each other and close to the data related to the linear regression too. However, in the figure 2, at the highest dose of MCh, there is an example where the selected models do not approach very well to the measured data. Conversely, in the figure 3, it is possible to notice that the Model 2 is the closest to the measured data.

The figures 4 to 8 show that in practically every case the *MSR* values of the model 3, with flow-dependent, and *LSCM* presented similar behavior

and pattern. In contrast, the model 2 tends to present lower *MSR* values when compared with the other two models; specially in the figure 8, i.e. in the post-metabolism phase.

In addition, table 1 depicts that only at the saline phase all the models presented similar results, as can also be seen in figure 5. It is also possible to notice that in the phase where the animal is with the MCh post-metabolized, the best model, according to Akaike criterion, was the Model 2, with nonlinearity at the volume. Also, at all stages, except the saline phase, the nonlinear models were the ones that approached better to the measured data (Tab. 1).

About the F-ratio test, the results (not shown) indicate that none of the models could be considered superior, in relation to approximation, to the other studied cases. In all cases, the F-ratio test showed no significant difference between the approximations made by the models.

Thus, analyzing the comparison forms of models used in this article, it is possible to notice that the F-ratio test was not able to select a mathematical model that could be considered better than the other models in any of the cases tested; unlike the Akaike criterion. It is possible that the Akaike criterion has a little more sensitivity than the F-ratio to differentiate the result of adapting different mathematical models to the same data. It is important say that the Akaike criterion is an estimate of the expected, the relative distance between the fitted model and the observed data [13]; that is why the criterion always finds the best model even if the selected model do not have a physiology meaning or if the difference between models is small. Therefore, it is important to carefully choose the models to use the Akaike criterion.

It is known that the *F*-ratio test is based on a strong assumption that the distribution of the sample data should follow the Gaussian distribution [9]. This may be one of the reasons to justify the fact that the *F*-ratio test is not able to differentiate the selected models. Even because in this study we not guarantee that the assumption has been respected. On the other hand, the Akaike criterion requires nothing more than the *MSR* values of the models to compare them; therefore, it is much easier to apply.

It is possible to notice that the respiratory mechanics of bronchoconstricted rats are significantly better described by the model including volume-dependent, the Model 2, than by *LSCM* and the model with flow-dependent, as described by literature [14,15]. The term '*EV*' in the Model 1 assumes that the pressure-volume dynamic relationship of the respiratory system is linear, and then the addition of ' E_2V^2 ' gives to the model a better approach to describe nonlinear pressure-volume behavior. The volume-dependent elastance term represents a progressive stiffening of the lung as it inflates from functional residual capacity up to total lung capacity [3]. The improvement due to the nonlinear volume-dependent term *E* in this case could be explained for some reasons like the properties of the lung parenchyma may have changed, as seen in pulmonary fibrosis, for example; or the lung parenchyma could have stiffened during bronchoconstriction.

But the addition of $R_2 \dot{V} |\dot{V}|$, in most cases, did not result in a significant improvement, and physiologically speaking the model 3 is better

when the flow is turbulent [3], which probably did not occur very frequently in this study.

5 Conclusion

The nonlinear models got superior results, mainly the volume-dependent model, model 2, in relation to the linear one, in the majority of the studied cases, as we initially supposed.

In the matter of mathematical models' comparison, the Akaike criterion selected in each case the best of the three models. However, the *F*-ratio test could not discriminate the model with the best approximation in any of the cases.

Conflict of interest

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Edelstein-Keshet, L.: Mathematical models in biology, 1st edn. Society for Industrial and Applied Mathematics, New York (2005).

2. Boccara, Nino: Modeling complex systems, 2nd edn. Springer Science and Business Media, New York (2010).

3. Bates, J.H.T.: Lung mechanics: an inverse modeling approach, 1st edn. Cambridge University Press, New York (2009).

4. Bates, J.H.T., Rincon, M., Irvin, C.G.: Animal models of asthma, Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol (297), L401-L410 (2009).

5. Cardoso, T.A. et al.: Impacto da asma no Brasil: análise longitudinal de dados extraídos de um banco de dados governamental brasileiro, J Bras Pneumol (43), 163-168 (2017).

6. Dorland, N.W.A.: Dorland's illustrated medical dictionary, 32nd edn. Elsevier Health Sciences (2011).

7. Peták, F. et al.: Methacholine-induced bronchoconstriction in rats: effects of intravenous vs. aerosol delivery, J Appl Physiol (82), 1479–1487 (1997).

8. Institute of Laboratory Animal Resources: Guide for the Care and Use of Laboratory Animal, 1st edn. National Academy of Sciences, Washington (1996)

9. Bates J.H.T., et al.: Temporal dynamics of acute isovolume bronchoconstriction in the rat, J Appl Physiol (82), 55-62 (1997).

10. Rodriguez, E., et al.: The orl rat is more responsive to methacholine challenge than wild type, Pulm Pharmacol (29(2)), 199-208 (2014).

11. Hartley, H.O.: The maximum F-ratio as a short-cut test for heterogeneity of variance, Oxford University Press (37), 308-3012 (1950).

12. Bussab, W.O., Morettin, P.A.: Estatística Básica, 5th edn. Saraiva, São Paulo (2002).

Burnham, K.P., Anderson, D.R.: Model selection and multimodel inference: a practical information - theoric approach, 2nd edn. Springer- Verlag, New York (2010).
 Kano, S. et al: Influence of nonlinearities on estimates of respiratory mechanics using multilinear regression analysis, J Appl Physiol (77), 1185–1197 (1994).
 Wagers, S. et al.: Nonlinearity of respiratory mechanics during bronchoconstriction in mice with airway inflammation, J Appl Physiol (92), 1802–1807 (2002).

12