

**CENTRO DE ESTATÍSTICA APLICADA - CEA - USP**  
**RELATÓRIO DE CONSULTA**

**TÍTULO DO PROJETO:** “Hemodiluição normovolêmica aguda em porcos: avaliação hemodinâmica, ecocardiográfica e bioquímica”.

**PESQUISADORAS:** Clarita Bandeira Margarido  
Denise Aya Otsuki

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. José Otávio Costa Auler Jr.

**INSTITUIÇÃO:** Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP

**FINALIDADE:** Doutorado

**PARTICIPANTES DA ENTREVISTA:** José Otávio Costa Auler Jr.  
Clarita Bandeira Margarido  
Denise Aya Otsuki  
Carmen Diva Saldiva de André  
Lúcia Pereira Barroso  
Danielle Daffre Carvalho  
Paula Stefanoni Iwamizu

**DATA:** 08/04/2003

**FINALIDADE DA CONSULTA:** Orientação para análise de dados

**RELATÓRIO ELABORADO POR:** Danielle Daffre Carvalho  
Paula Stefanoni Iwamizu

## 1. Introdução

Hemodiluição é a infusão de solução acelular (desprovida de células), tendo como objetivo manter a normovolemia (volume normal de sangue) do indivíduo. Esse procedimento tem como finalidade eliminar ou diminuir a necessidade de transfusões sangüíneas.

Esta técnica seria usada, por exemplo, em resgates de vítimas de acidente com perda de sangue, mantendo suas condições vitais (parâmetros hemodinâmicos, ecocardiográficos e de oxigenação) até um atendimento mais específico.

Foi feito um estudo laboratorial com dois tipos de solução acelular no processo de hemodiluição: a *solução de Ringer com Lactato* e a *solução de Amido Hidroxietílico*. Um dos objetivos desse estudo foi comparar o desempenho dessas soluções (ou fluidos) segundo sua capacidade de manutenção dos parâmetros hemodinâmicos, ecocardiográficos e de oxigenação.

O CEA foi procurado para discutir o planejamento experimental utilizado no estudo e orientar sobre técnicas e softwares estatísticos que possam contribuir na análise dos dados.

## 2. Descrição do estudo

Nesse estudo foram utilizados 18 porcos de raça de linhagem para carne, com idade em torno de três meses e independentes entre si. Os animais foram anestesiados e divididos em três grupos, de seis porcos cada (planejamento balanceado):

- **Controle:** os porcos foram submetidos somente à anestesia;
- **Amido:** os porcos sofreram a hemodiluição com a *solução de Amido Hidroxietílico*;
- **Ringer Lactato:** os porcos sofreram a hemodiluição com a *solução de Ringer com Lactato*.

A hemodiluição foi realizada retirando-se sangue simultaneamente à infusão da solução (ou fluido) acelular.

Para os três grupos, foram observadas variáveis como frequência cardíaca (bpm), débito cardíaco (l/min), índice cardíaco ( $\text{m}^2 \cdot \text{l}/\text{min}$ ), pressão arterial sistólica, diastólica e média (mmHg), fração de ejeção (%), dados de microscopia ótica e eletrônica, em quatro diferentes momentos, para acompanhar a resposta dos animais ao tratamento:

- **t<sub>0</sub>**: valor basal, antes de iniciar a hemodiluição;
- **t<sub>1</sub>**: imediatamente após a hemodiluição;
- **t<sub>2</sub>**: 1h após a hemodiluição;
- **t<sub>3</sub>**: 2h após a hemodiluição.

O grupo controle foi observado nos quatro momentos, mesmo não sofrendo hemodiluição.

É importante ressaltar que o tamanho amostral se deve a fatores éticos e financeiros.

### 3. Descrição das variáveis

- **Variáveis de controle**

- **Grupo**: grupo ao qual o porco pertence segundo o processo a que foi submetido (grupo Controle = 0; grupo Amido = 1; grupo Ringer Lactato = 2);
- **Tempo**: momento de observação das variáveis (t<sub>0</sub>; t<sub>1</sub>, t<sub>2</sub>, t<sub>3</sub>).

- **Variáveis observadas:**

- **frequência cardíaca** (bpm): auscultação dos batimentos cardíacos em um minuto realizada no animal não anestesiado;
- **débito cardíaco** (l/min): obtido pelo método da termodiluição, através do cateter de Swan-Ganz, cuja extremidade foi posicionada na artéria pulmonar;

- **superfície corpórea** ( $m^2$ ): obtida através da equação:  $SC = K.p^{2/3}$ , onde K é uma constante igual a 0,09 para animais acima de 4Kg e p, o peso do porco, em Kg;
- **índice cardíaco** ( $m^2.l/min$ ): obtido a partir da fórmula:  $IC = DC.SC^{-1}$ , onde IC é o índice cardíaco, DC, o débito cardíaco e SC, a superfície corpórea;
- **pressão de átrio direito** (mmHg): obtido com a via proximal do cateter de Swan-Ganz conectada ao transdutor de pressão;
- **pressão da artéria pulmonar** (mmHg): obtida ao se conectar a via distal do cateter de Swan-Ganz ao transdutor de pressão;
- **pressão de oclusão da artéria pulmonar** (mmHg): obtida através da insuflação do balão localizado na extremidade distal do cateter de Swan-Ganz;
- **pressão arterial sistólica** (mmHg): obtida através de cateter da artéria femoral acoplado ao transdutor de pressão;
- **pressão arterial diastólica** (mmHg): obtida através de cateter da artéria femoral acoplado ao transdutor de pressão;
- **pressão arterial média** (mmHg): obtida através de cateter da artéria femoral acoplado ao transdutor de pressão;
- **fração de ejeção** (%): calculada através da planimetria do ventrículo esquerdo (Método de Simpson), com o transdutor na posição média do coração, visualizando as quatro câmaras;
- **saturação do oxigênio no sangue venoso misto contínuo** (%): obtido através do cateter próprio de artéria pulmonar;
- **hematócrito** (%) e **hemoglobina** (g/dl): obtidos através do sangue coletado na artéria femoral e obtidos através do analisador de gases e pH;
- **débito urinário** (ml): mensurado por meio de cateterização vesical transuretral;
- **dados de microscopia ótica e eletrônica**: Imediatamente após o sacrifício dos animais, amostras do miocárdio e dos pulmões foram

coletadas para exame histológico para a análise microscópica através de microscopia de luz.

#### **4. Situação do projeto**

O projeto encontra-se em sua fase final, necessitando apenas da orientação para a análise estatística.

#### **5. Sugestões do CEA**

Sugerimos que os dados sejam organizados como segue na Tabela 1, pois este é o modelo de entrada dos programas estatísticos mais utilizados. Esse arquivo pode ser feito em programas como o Microsoft Excel (Catapult, 2000), por exemplo, e ser importado pelo SPSS (ver Explicação A.1).

**Tabela 1: Dados – variável índice cardíaco**

<b>porcos</b>	<b>grupos</b>	<b>t0</b>	<b>t1</b>	<b>t2</b>	<b>t3</b>
1	0	6,5	5,3	7,2	7,4
2	0	5,6	5,9	6,1	4,9
3	0	6,7	7,2	5,5	5,9
4	0	6,2	5,8	5,5	4,1
5	0	6,7	6,4	6,5	6,9
6	0	6,1	5,6	5,9	6,2
7	1	4,9	10,6	8,6	7,1
8	1	4,4	10,0	10,2	9,0
9	1	8,4	13,3	10,6	10,9
10	1	5,9	9,3	9,6	7,3
11	1	6,6	11,0	11,0	9,1
12	1	3,9	7,9	7,0	7,8
13	2	4,7	7,9	5,9	5,7
14	2	7,9	9,4	10,1	10,4
15	2	6,0	8,2	7,3	9,5
16	2	5,5	6,8	6,8	6,0
17	2	5,4	6,5	9,0	8,2
18	2	3,8	8,1	9,8	6,4

Os Gráficos B.1, B.2 e B.3 (Catapult, Inc., 2000) nos indicam a tendência dos dados para a variável *índice cardíaco*, em cada grupo. Vemos que, pelo Gráfico B.1, para o grupo Controle, o índice cardíaco manteve-se constante ao longo do tempo, entre 4,0 m<sup>2</sup>.l/min e 8,0 m<sup>2</sup>.l/min. Pelo Gráfico B.2, nota-se que houve um aumento no valor da variável nos porcos do grupo Amido no segundo momento observado (t1). Nos demais momentos, houve uma queda no índice cardíaco até uma estabilização entre 7,0 m<sup>2</sup>.l/min e 9,0 m<sup>2</sup>.l/min. Para o grupo Ringer Lactato (Gráfico B.3), notamos um leve aumento no valor do índice cardíaco até uma estabilização entre 5,0 e 11,0 m<sup>2</sup>.l/min. Percebemos que o comportamento observado pelos porcos que sofreram hemodiluição foi similar se compararmos os dois grupos, havendo uma estabilização em valores mais altos do que os encontrados para o grupo controle.

Comparando os três tratamentos (Gráfico B.4), nota-se que, como já era esperado, no momento t0 as médias são iguais. Para o momento seguinte, notamos uma aparente diferença entre as respostas médias dos três grupos, tendo o grupo Controle a menor delas e o grupo Amido, a maior. No momento t2, o gráfico sugere que os dois grupos, em que a hemodiluição foi realizada, não apresentam diferenças significativas de respostas médias, uma vez que seus erros padrões se interceptam. Apesar disso, essas médias são maiores do que as do grupo Controle. O mesmo ocorre para o instante t3, mesmo havendo uma diminuição da diferença entre as respostas médias dos dois grupos tratamento e do grupo Controle.

Para realizar as comparações de interesse sugere-se a utilização do método de Análise de Variância com Medidas Repetidas (Neter et al., 1996).

No Apêndice A é apresentado o procedimento, passo a passo, de realização dessa análise no software SPSS 8.0, tomando a variável *índice cardíaco* como exemplo (SPSS Inc., 1999).

## **6. Referências Bibliográficas**

NETER, J., KUTNER, M. H., NACHTSHEIM, C. J. e WASSERMAN, W. (1996). **Applied Linear Statistical Models**. 4.ed. Boston: Mc Graw Hill. 1408p.

WINER, B. J., BROWN, D. R., MICHELS, K. M. (1992). **Statistical principles in experimental design**. 3.ed. New York: Mc Graw Hill. 1057p.

SPSS Inc. (1999), **SPSS Advanced Models, versão 9.0**, Chicago, IL: SPSS Inc. 497 p.

Catapult, Inc. (2000), **Microsoft Excel 2000 passo a passo**, São Paulo: Catapult, Inc./ Makron. 416 p. + 1 disquete.

**Apêndice A**  
**(Análise de Variância com Medidas Repetidas no SPSS)**



Para esta análise o software usado foi o SPSS (versão 8.0) por opção das pesquisadoras.

**Explicação A.1.** Abertura dos dados importados do Microsoft Excel (.xls)

Selecionar no Menu Principal: File  Open

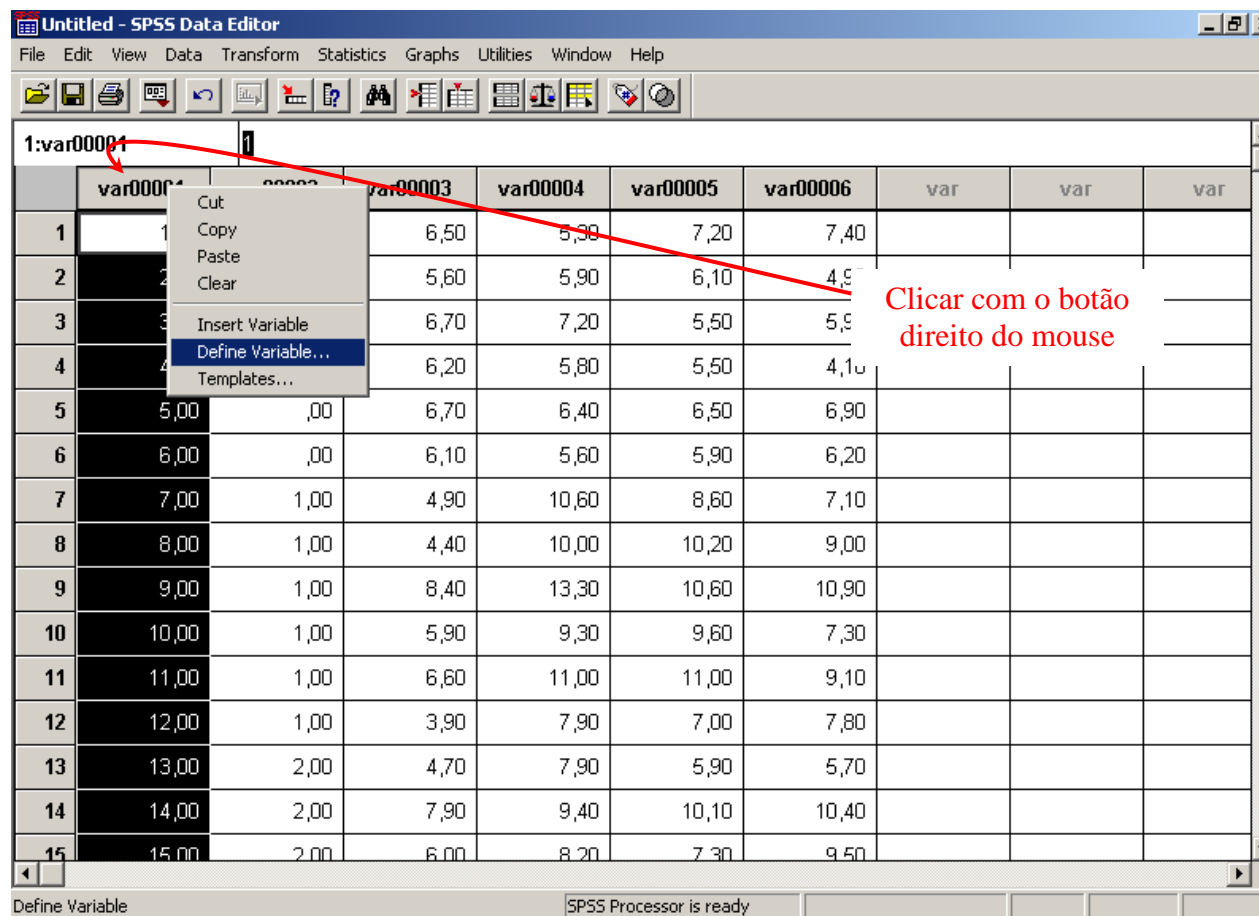
Em Looking, colocar o nome da pasta em que se encontra o arquivo

Em Type of Files, procurar a opção 'Excel (\*.xls)'

E, finalmente, em File Name, colocar o nome do arquivo a ser importado

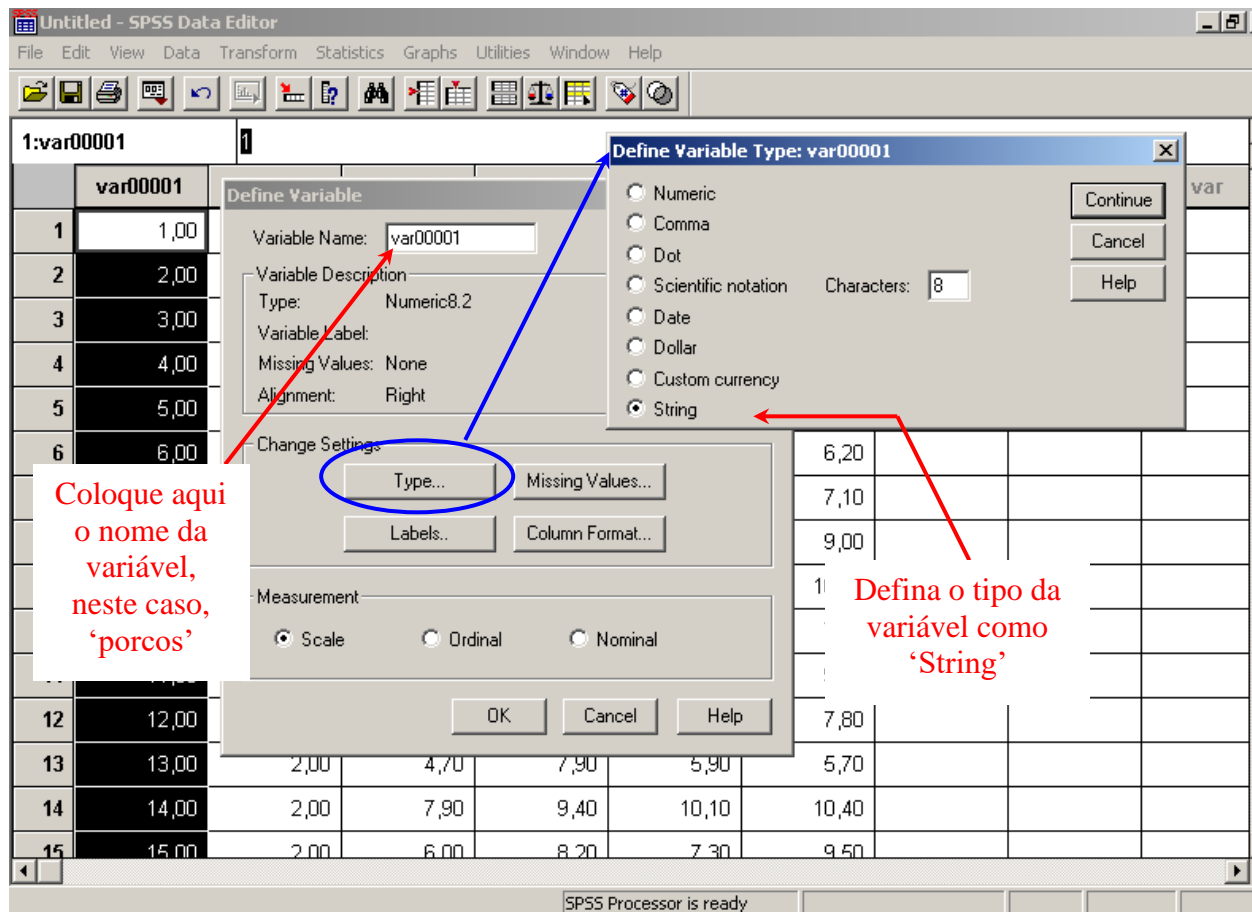
Devemos transformar as variáveis *porcos* e *grupos* em 'String', já que são apenas fatores (categorias). Para tanto, realiza-se o procedimento ilustrado na Figura A.1. A variável *porcos* não será utilizada na análise, ela apenas indica o número do porco.

**Figura A.1. Definição do tipo da Variável**



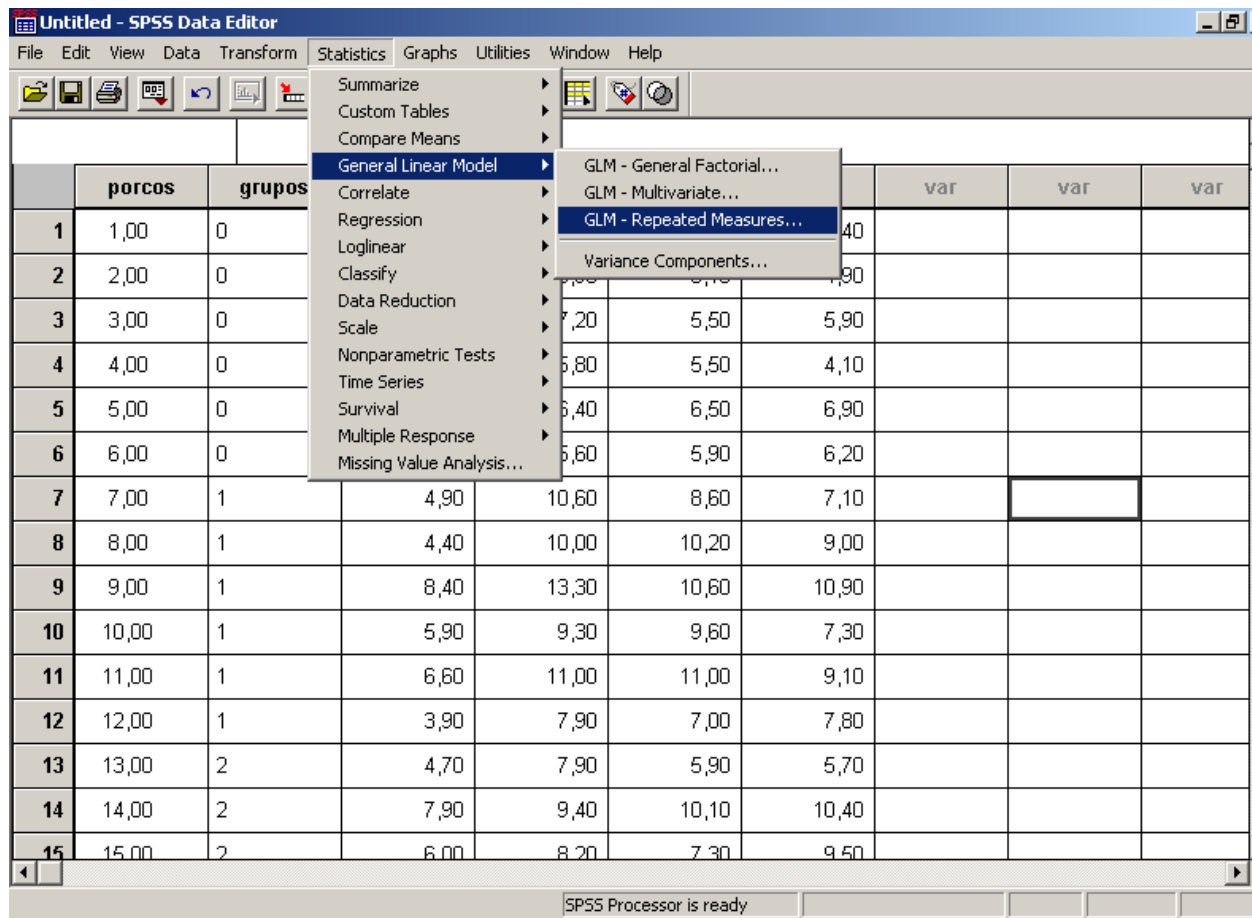
Clique com o botão direito do mouse sobre a coluna na qual deseja modificar o tipo da variável. Clique em 'Define Variable'. Em seguida, abrirá uma tela como a representada na Figura A.2.

**Figura A.2.** Definição do tipo da Variável



No espaço 'Variable Name', coloque o nome da variável. Clique em 'Type' para a definição do tipo da variável. Para as variáveis *porcos* e *grupos*, escolher o tipo 'String'. Para as demais, 'Numeric'. Clique em 'Continuar'. E em seguida, clique em 'OK'.

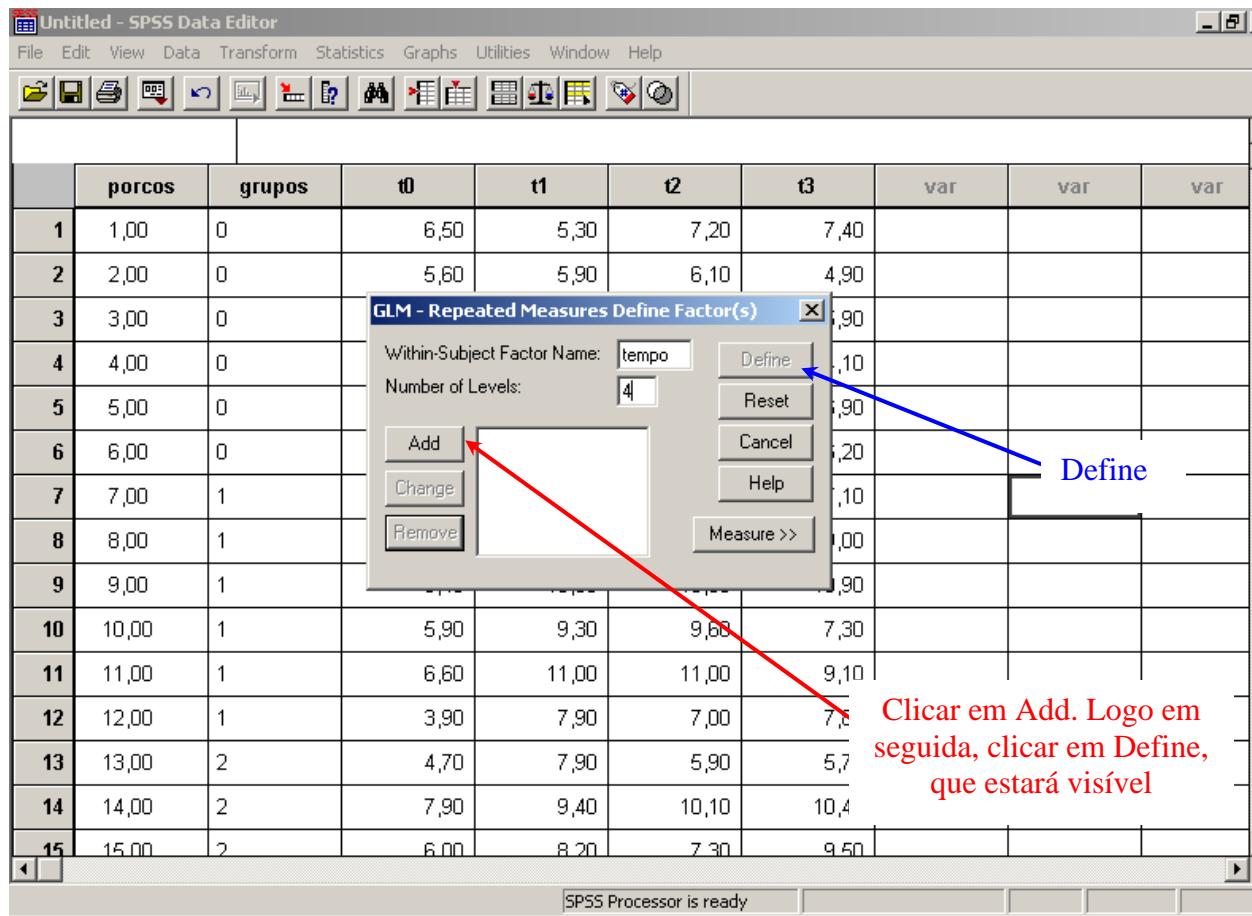
**Figura A.3.** Procedimento para a realização da análise de variância com medidas repetidas



Depois de definidas as variáveis, selecione:

Menu Principal: Statistics ➡ General Linear Model ➡ GLM – Repeated Measures...

**Figura A.4. Definição dos Fatores**



Neste passo, devemos definir quais são os fatores (variáveis independentes). Para isso, em 'Within-Subject Factor Name' coloque o nome do fator que envolve medidas repetidas. Ele deve ser diferente dos nomes utilizados para as variáveis. Em 'Number of Levels', coloque o número de níveis do fator.

Para nosso exemplo, o fator é o tempo, já que queremos medir a diferença entre os grupos, dentro de cada momento. Desta forma, colocamos:

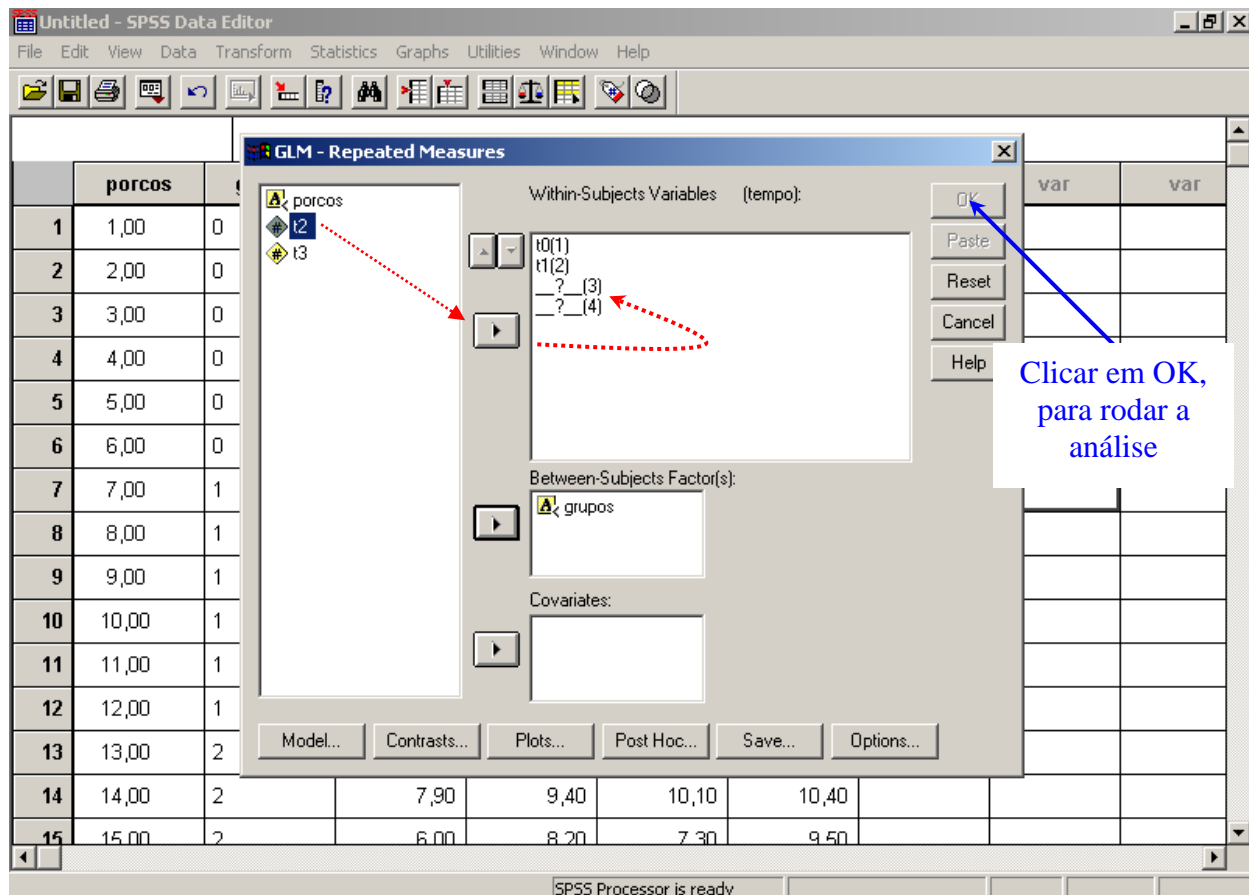
'Within-Subject Factor Name': tempo

'Number of Levels': 4 (são eles t0, t1, t2 e t3)

Em seguida, clique em 'Add'. Deverá aparecer, no quadro branco, o nome do fator, com seu número de níveis entre parênteses (ex.: tempo(4)).

O botão 'Define' estará visível neste momento. Clique nele e siga para os passos dados na Figura A.5.

**Figura A.5.** Análise de Variância com Medidas Repetidas



Neste momento, devemos definir todas as variáveis utilizadas no problema. No primeiro quadro ('Within-Subjects Variables (tempo)'), devemos colocar quais são as colunas que correspondem a cada nível do fator *tempo*. No segundo quadro ('Between-Subjects Factor(s)'), devemos colocar o outro fator (*grupos*) utilizado na análise. Para conseguir passar as variáveis do quadro mais à esquerda (repare que aparecem os nomes de todas as colunas) para os demais, devemos selecionar a coluna desejada e clicar no botão representado por uma seta.

Clique em 'OK' para conseguir rodar a análise. Este botão só se tornará visível quando todos os níveis do fator tempo forem definidos.

Abrirá uma janela com a Saída do programa (Output), como mostrada na Figura A.6.

**Figura A.6.** Saída da Análise de Variância com Medidas Repetidas realizada pelo SPSS para a variável *índice cardíaco*

## General Linear Model

### Within-Subjects Factors

Measure: MEASURE\_1

TEMPO	Dependent Variable
1	T0
2	T1
3	T2
4	T3

### Between-Subjects Factors

	N
GRUPO 0	6
1	6
2	6

### Multivariate Tests<sup>c</sup>

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
TEMPO	Pillai's Trace	.893	36.246 <sup>a</sup>	3.000	13.000	.000
	Wilks' Lambda	.107	36.246 <sup>a</sup>	3.000	13.000	.000
	Hotelling's Trace	8.364	36.246 <sup>a</sup>	3.000	13.000	.000
	Roy's Largest Root	8.364	36.246 <sup>a</sup>	3.000	13.000	.000
TEMPO * GRUPO	Pillai's Trace	.997	4.642	6.000	28.000	.002
	Wilks' Lambda	.113	8.543 <sup>a</sup>	6.000	26.000	.000
	Hotelling's Trace	6.853	13.706	6.000	24.000	.000
	Roy's Largest Root	6.708	31.302 <sup>b</sup>	3.000	14.000	.000

a. Exact statistic

b. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

c.

Design: Intercept+GRUPO

Within Subjects Design: TEMPO

### Mauchly's Test of Sphericity<sup>b</sup>

Measure: MEASURE\_1

Within Subjects Effect	Mauchly's W	Approx. Chi-Square	df	Sig.	Epsilon <sup>a</sup>		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Lower-bound
TEMPO	.705	4.790	5	.443	.857	1.000	.333

Tests the null hypothesis that the error covariance matrix of the orthonormalized transformed dependent variables is proportional to an identity matrix.

a. May be used to adjust the degrees of freedom for the averaged tests of significance. Corrected tests are displayed in the Tests of Within-Subjects Effects table.

b.

Design: Intercept+GRUPO

Within Subjects Design: TEMPO

### Tests of Within-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TEMPO	Sphericity Assumed	55.793	3	18.598	22.571	.000
	Greenhouse-Geisser	55.793	2.570	21.708	22.571	.000
	Huynh-Feldt	55.793	3.000	18.598	22.571	.000
	Lower-bound	55.793	1.000	55.793	22.571	.000
TEMPO * GRUPO	Sphericity Assumed	44.120	6	7.353	8.924	.000
	Greenhouse-Geisser	44.120	5.140	8.583	8.924	.000
	Huynh-Feldt	44.120	6.000	7.353	8.924	.000
	Lower-bound	44.120	2.000	22.060	8.924	.003
Error(TEMPO)	Sphericity Assumed	37.078	45	.824		
	Greenhouse-Geisser	37.078	38.552	.962		
	Huynh-Feldt	37.078	45.000	.824		
	Lower-bound	37.078	15.000	2.472		

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	TEMPO	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TEMPO	Linear	17.867	1	17.867	21.292	.000
	Quadratic	34.445	1	34.445	38.546	.000
	Cubic	3.481	1	3.481	4.710	.046
TEMPO * GRUPO	Linear	14.098	2	7.049	8.401	.004
	Quadratic	24.231	2	12.115	13.558	.000
	Cubic	5.791	2	2.895	3.917	.043
Error(TEMPO)	Linear	12.587	15	.839		
	Quadratic	13.404	15	.894		
	Cubic	11.087	15	.739		



### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	3839.801	1	3839.801	753.107	.000
GRUPO	70.810	2	35.405	6.944	.007
Error	76.479	15	5.099		

A esfericidade da matriz de variância e covariância das observações é uma condição importante do modelo de análise de variância com medidas repetidas, pois as estatísticas de teste (necessárias para as comparações) dependem dela (Winer et. al, 1992). Sendo assim, antes de começar qualquer análise dos resultados, deve-se verificar se a suposição de esfericidade está satisfeita, ou não.

No exemplo, o valor do *Sig* (p-valor), presente na tabela ***Mauchly's Teste of Sphericity***, é igual a 0,443, logo, não temos motivos para rejeitar a hipótese de esfericidade a um nível de significância de 5% (uma vez que 0,443 é maior que 0,05).

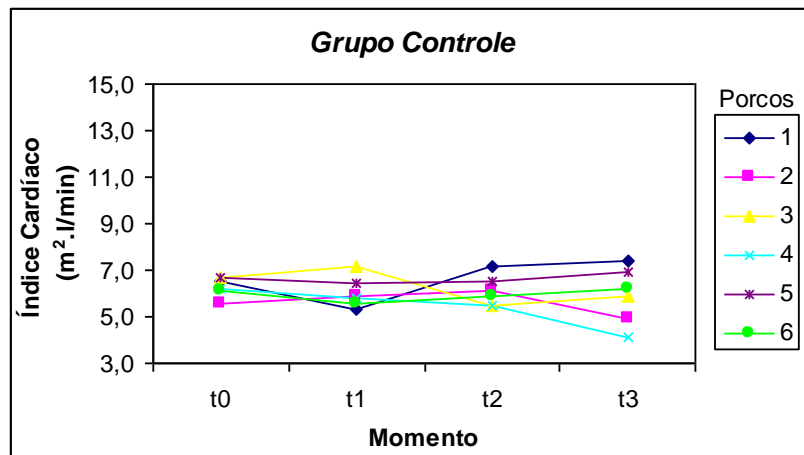
Neste caso utilizaremos os valores correspondentes a *Sphericity Assumed* para tirar conclusões dos resultados. Caso contrário, deve-se utilizar estatísticas corrigidas para realizar os testes. O SPSS oferece três opções: *Greenhouse-Geisser*, *Huynh-Feldt* e *Lower-bound*.

Na tabela ***Tests of Within-Subjects Effects***, temos que o *Sig* (p-valor) relacionado ao termo TEMPO\*GRUPO é igual a zero. Isso nos leva a rejeitar a hipótese de não interação dos fatores *tempo* e *grupos*, concluindo que há interação dos fatores a um nível de significância de 5% (0 é menor que 0,05).

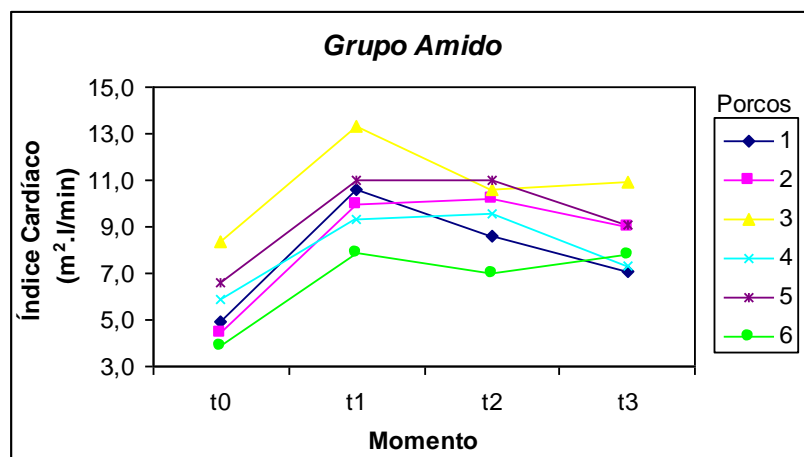
Como há indicação de interação, as comparações deverão ser feitas através do Método de Comparações Múltiplas, para análise de variância com medidas repetidas (Winer et. al, 1992); esse cálculo o SPSS não oferece. No caso de não existir interação, pode-se analisar se há diferença entre os grupos através do *Sig* da tabela ***Tests of Between-Subjects Effects***. Havendo diferenças, será possível localizá-las através de procedimentos de comparações múltiplas – Tukey, Scheffé ou Bonferroni (Neter et al, 1996).

**Apêndice B**  
**(Gráficos de Perfis)**

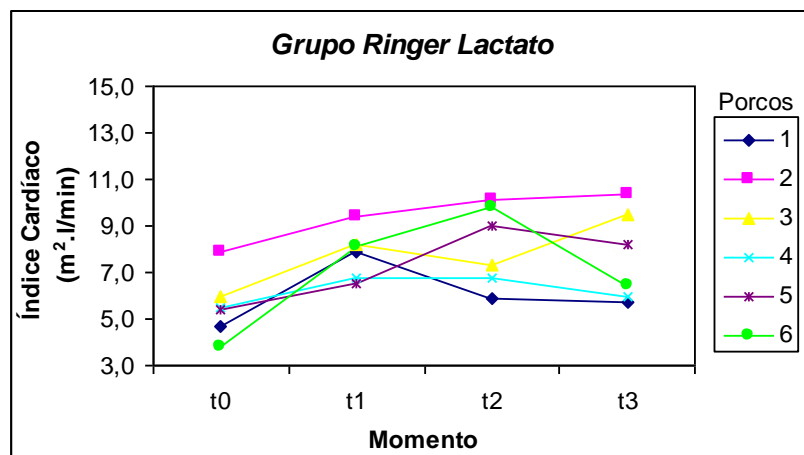
**Gráfico B.1.** Gráfico de perfis individuais para o Grupo Controle



**Gráfico B.2.** Gráfico de perfis individuais para o Grupo Amido



**Gráfico B.3.** Gráfico de perfis individuais para o Grupo Ringer Lactato



**Gráfico B.4.** Gráfico de perfis médios para os três grupos, com os erros padrões

