

## Artigo

## A retomada do teste do *washout* do nitrogênio na prática pneumológica

### The resumption of the nitrogen washout test in pulmonology practice

Agnaldo José Lopes<sup>1</sup>

#### Resumo

Nos últimos anos, tem havido um crescente interesse sobre o uso do teste do *washout* do N<sub>2</sub> (TWN<sub>2</sub>) no intuito de medir a função de pequenas vias aéreas e a homogeneidade da distribuição da ventilação em diversas condições clínicas. Esta revisão teve como objetivo apresentar os principais avanços do uso do TWN<sub>2</sub> na prática clínica.

Os parâmetros fornecidos pelo TWN<sub>2</sub> podem servir como marcadores de gravidade em muitas condições clínicas. Além da sua importância na detecção precoce da doença de pequenas vias aéreas, estes parâmetros podem ser importantes em futuras pesquisas terapêuticas envolvendo intervenções terapêuticas.

Diversos estudos têm utilizado o TWN<sub>2</sub> para medir as alterações clinicamente relevantes no sistema respiratório e os efeitos das intervenções de diversos ensaios clínicos. A normalização do *slope* da fase III medida pelo TWN<sub>2</sub> prevê o controle da asma em adultos após o ajuste das doses de corticosteroide inalatório e detecta a melhora da função das pequenas vias aéreas após a cessação do tabagismo em fumantes com espirometria normal. Na DPOC, o *slope* da fase III tem mostrado correlações significantes com as medidas de mecânica pulmonar, o escore de enfisema e a distância da caminhada dos seis minutos.

Descritores: Pulmão; Testes de função respiratória; Mecânica respiratória

#### Abstract

The interest in use of the nitrogen single-breath washout (N<sub>2</sub>SBW) test to assess small airway function and homogeneity in ventilation distribution in various clinical conditions has increased in recent years. This review aimed to present the main advances the use of N<sub>2</sub>SBW in clinical practice.

The parameters provided by N<sub>2</sub>SBW can serve as markers of severity in many clinical conditions. Besides its importance in the early detection of small airways disease, these parameters may be important in future therapeutic research involving therapeutic interventions.

Several studies have used the N<sub>2</sub>SBW to measure clinically relevant changes in the respiratory system and the effects of interventions in several clinical trials. The analysis of the normalized phase III slope predicts asthma control in adults following inhaled corticosteroid dose titration and detects improvement in small airway function after smoking cessation in smokers with normal spirometry. In COPD, the phase III slope has shown significant correlations with pulmonary mechanical measures, emphysema score, and the six-minute walking distance.

Key words: Lung; Respiratory function tests; Respiratory mechanics

1 - Professor adjunto da Disciplina de Pneumologia e Tisiologia. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil

**Endereço para correspondência:** Agnaldo José Lopes. Rua Araguaia, 1266, bloco 1/405, Freguesia, Jacarepaguá, 22745-271, Rio de Janeiro, Brasil

**Contato:** Telefone e fax: +55 21 21 2576 2030

**E-mail:** agnaldolopes.uerj@gmail.com

## Introdução

O pulmão é constituído de maneira a permitir uma mistura perfeita do ar inspirado com o gás residente nos pulmões. O quão bem isto funciona determina a eficiência da mistura gasosa<sup>1</sup>. Uma mistura gasosa deficiente é consequência do aumento da heterogeneidade da ventilação, que se reflete tanto no tempo quanto na ventilação relativa necessária para limpar o gás traçador dos pulmões. Através das medidas de heterogeneidade da ventilação pulmonar, pode se demonstrar alterações envolvendo as vias aéreas periféricas, conhecidas como 'zona silenciosa dos pulmões'<sup>1-3</sup>. Enquanto as pequenas vias aéreas contribuem pouco para a resistência das vias aéreas em pulmões saudáveis, estudos demonstram que as pequenas vias aéreas são o principal local de resistência na doença pulmonar obstrutiva<sup>4,5</sup>. Na doença de pequenas vias aéreas, há um aumento progressivo da resistência conforme o pulmão se esvazia e uma heterogeneidade regional das constantes de fluxo e tempo, além do fechamento prematuro das vias aéreas<sup>4</sup>.

Embora descrito pela primeira vez há há cerca de 60 anos atrás, nos últimos anos tem havido um interesse crescente sobre o uso do teste do *washout* do N<sub>2</sub> (TWN<sub>2</sub>) no intuito de medir a função das pequenas vias aéreas e a homogeneidade da distribuição da ventilação em diversas condições clínicas<sup>6-8</sup>. No *state of the art*, o TWN<sub>2</sub> tem sido utilizado no diagnóstico precoce, na estratificação de pacientes e na avaliação e gravidade de várias doenças pulmonares<sup>9,10</sup>. Além da sua importância no entendimento fisiopatológico de diversas condições clínicas, outro motivo que justifica a retomada do TWN<sub>2</sub> é a evolução do seu aparato técnico.

## Aspectos técnicos

O TWN<sub>2</sub> pode ser realizado através de duas técnicas distintas: a da respiração única e a que envolve múltiplas respirações. Enquanto a técnica da respiração única mede a mistura do gás dentro de uma única respiração, a técnica das múltiplas respirações mede a eficiência do *clearance* do gás dentro dos pulmões. A escolha de uma ou outra técnica depende de vários fatores. A maior facilidade para a realização da manobra tem tornado a técnica das múltiplas respirações bastante atrativa na população pediátrica<sup>1,11</sup>.

### Técnica de respirações múltiplas

A concentração do N<sub>2</sub> dentro dos pulmões é da ordem de 75% a 80%. Assim, na técnica de respirações múltiplas, o N<sub>2</sub> dentro dos pulmões deve ser gradualmente "lavado", após o paciente respirar uma mistura conten-

do 100% de O<sub>2</sub> por alguns minutos. Devido à impossibilidade de se "lavar" todo o N<sub>2</sub> retido dentro dos pulmões, o teste é continuado até que a concentração de N<sub>2</sub> alveolar seja de aproximadamente 1%. Neste exame, a capacidade residual funcional (CRF) é medida através da seguinte equação:

$$CRF = \frac{FEN_{2\text{final}} \times \text{Volume expirado} - N_{2\text{tiss}}}{FAN_{2\text{alveolar1}} - FAN_{2\text{alveolar2}}}$$

Onde: FEN<sub>2final</sub> = fração de N<sub>2</sub> no volume expirado;

N<sub>2tiss</sub> = volume de O<sub>2</sub> "lavado" do sangue/tecidos;

FAN<sub>2alveolar1</sub> = fração de N<sub>2</sub> no gás alveolar (inicial);

FAN<sub>2alveolar2</sub> = fração de N<sub>2</sub> no gás alveolar (final).

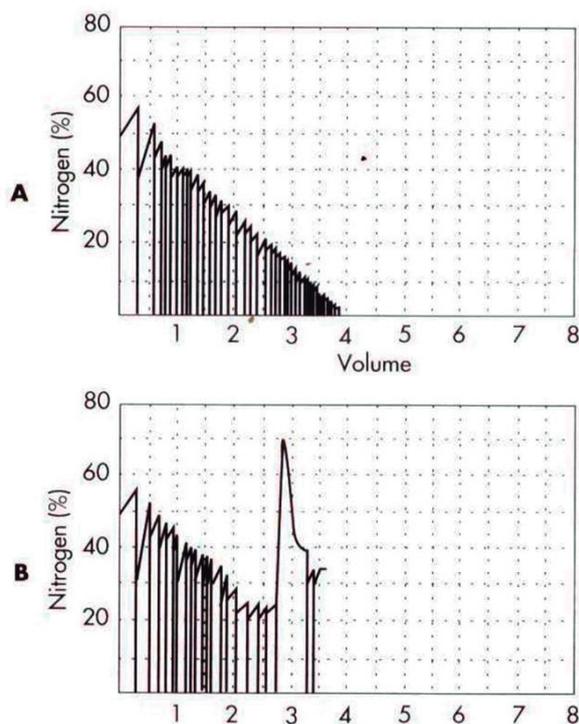
Na técnica de respirações múltiplas, a correção deve ser feita para o N<sub>2</sub> "lavado" no sangue e tecidos. Assim, para cada minuto de O<sub>2</sub> respirado, cerca de 30 mL a 40 mL de N<sub>2</sub> são removidos do sangue e tecidos (N<sub>2tiss</sub> = 0,04 x tempo de teste). O método atual de medida do TWN<sub>2</sub> usa um analisador de N<sub>2</sub> de resposta rápida, que é conectado a um pneumotacógrafo para fornecer a análise respiração-a-respiração do N<sub>2</sub> expirado. Os critérios de aceitabilidade do teste são mostrados no Quadro 1.

**Quadro 1** - Critérios para aceitabilidade da técnica do TWN<sub>2</sub> em múltiplas respirações.

- |    |  |
|----|--|
| 1. | O traçado deve indicar uma queda contínua do N <sub>2</sub> alveolar.  |
| 2. | O teste deve continuar até que a concentração do N <sub>2</sub> caia para 1%.  |
| 3. | Deve-se estabelecer um intervalo de pelo menos 15 minutos entre as medidas.  |
| 4. | Múltiplas medidas da CRF devem mostrar valores dentro de 10% (o valor médio das medidas aceitáveis deve ser relatado). |

Além da medida da CRF, o principal parâmetro derivado da TWN<sub>2</sub> em múltiplas respirações é o chamado 'índice de *clearance* pulmonar'. Este é definido como o número de *turnovers* no nível da CRF (calculado como CEV/CRF) requeridos para reduzir a concentração do gás traçador a uma dada fração de sua concentração inicial, que em geral é 1/40 (ou 2,5%). Nesta medida, o CEV (*cumulative expired volume*): é a soma de todos os volumes correntes expirados durante a técnica do *washout* (Figura 1).

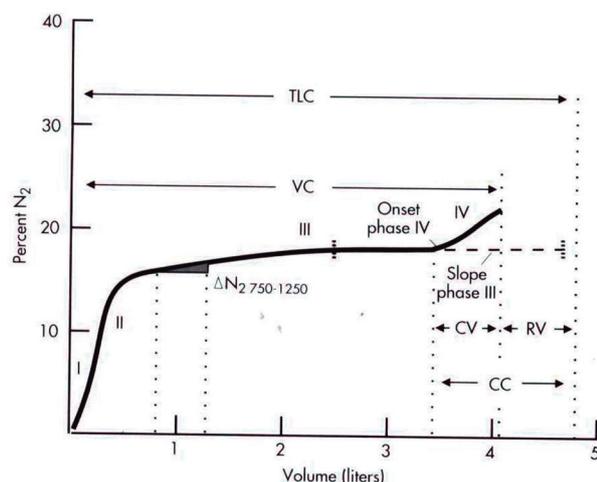
Um dos cuidados que se deve tomar na técnica das múltiplas respirações é a presença de 'fuga aérea', uma vez que esta superestima o volume pulmonar por aumentar o volume de N<sub>2</sub> que deve ser 'lavado' (Figura 1). A 'fuga aérea' pode ocorrer se o paciente não mantém a boca adequadamente acoplada ao bocal.



**Figura 1** - Representação do número de *turnovers* durante a técnica de múltiplas respirações para o cálculo da capacidade residual funcional (A). Basicamente, a concentração de  $N_2$  é plotada contra o volume expirado, conforme o paciente respira no circuito. Assim, o volume de  $N_2$  expirado em cada respiração é medido através da integração do fluxo com a concentração de  $N_2$  em cada área sob a curva; então, o volume de  $N_2$  expirado em cada respiração é então somado. Em B, nota-se um momento de 'fuga aérea', o que torna a manobra inaceitável.

### Técnica de respiração única

A técnica de respiração única (ou teste de Fowler) mede a distribuição da ventilação, analisando a concentração do  $N_2$  durante a expiração da capacidade vital (CV) após uma única inspiração de 100% de  $O_2$ . Graficamente, o volume expirado é plotado contra a concentração de  $N_2$  (Figura 2). Brevemente, os indivíduos expiram até o volume residual (VR) e, em seguida, inspiram  $O_2$  a 100% até a capacidade pulmonar total (CPT). Depois, expiram lentamente até o VR a um fluxo de aproximadamente 0,3 a 0,5 L/s. A concentração de  $N_2$  exalada é relatada através de um dispositivo que se encontra na abertura das vias aéreas.



**Figura 2** – Fases registradas durante a manobra de respiração única para o cálculo da distribuição do gás.

O princípio da técnica de respiração única é que, enquanto o  $N_2$  fica retido preferencialmente nos ápices pulmonares (por efeito da gravidade), o  $O_2$  fica retido preferencialmente nas bases. Durante a expiração, as vias aéreas das bases pulmonares se fecham primeiro por causa do peso dos pulmões. Assim, conforme as vias aéreas das bases se fecham, proporcionalmente mais gás é eliminado dos ápices; isto é graficamente representado através da fase IV (veja à seguir).

Basicamente, há quatro fases que são registradas durante a manobra, à saber (Figura 2):

- Fase I (espaço morto anatômico): Corresponde ao gás das vias aéreas superiores com 100% de  $O_2$ ;
- Fase II (fase brônquica): Ocorre uma elevação abrupta na concentração de  $N_2$  com mistura de ar alveolar e brônquico;
- Fase III (fase alveolar): Há um *plateau* do gás alveolar no qual as concentrações de  $O_2$  e  $N_2$  mudam lentamente e uniformemente – esta fase consiste inteiramente de gás alveolar;
- Fase IV: Há uma elevação abrupta na concentração de  $N_2$  conforme as vias aéreas da base pulmonar se fecham e uma maior proporção de  $N_2$  dos ápices pulmonares é exalada.

Os critérios de aceitabilidade do teste são mostrados no Quadro 2.

**Quadro 2** - Critérios para aceitabilidade da técnica do  $TWN_2$  em respiração única.

1. A capacidade vital inspirada e expirada deve estar dentro de 5% ou 200 mL.
2. A capacidade vital medida durante a manobra deve estar dentro de 200 mL da capacidade vital previamente determinada.
3. O fluxo expiratório deve ser mantido entre 0,3 e 0,5 L/s.
4. O traçado do  $N_2$  deve mostrar mínimas "oscilações cardíacas".

Os principais parâmetros derivados da  $TWN_2$  em respiração única são os seguintes:

1)  $\Delta N_{2-750-1250}$ : É a diferença na concentração do  $N_2$  entre 750 mL e 1250 mL do gás expirado (o volume expirado inicial de 750 mL contém gás de espaço morto das fases I e II e, por isso, não é utilizado para avaliar a distribuição da ventilação). Seu valor normal é  $\leq 1,5\%$  em adultos saudáveis, sendo ligeiramente maior em idosos onde pode chegar a 3%. Já em pacientes com enfisema extenso, o  $\Delta N_{2-750-1250}$  pode exceder mais de 10%.

2) *Slope* da fase III: É a alteração na concentração de  $N_2$  entre 25% e 75% do volume expirado. É relatada como  $\% \Delta N_2$  por litro de volume pulmonar, sendo que os valores normais variam entre 0,5% e 1,5%. Valores elevados são indicativos de heterogeneidade na ventilação e refletem diferenças nas constantes de tempo, que são dependentes tanto da resistência local (por exemplo, doença de pequenas vias aéreas) como da complacência local

(por exemplo, enfisema). O *slope* da fase III é difícil de ser aferido em pacientes com baixos valores de CV como, por exemplo, naqueles com síndrome restritiva grave.

3) Volume de fechamento: É a porção da CV que é exalada após o início do fechamento das vias aéreas (vai do início da fase IV até o VR). O volume de fechamento é geralmente relatado como porcentagem da CV, sendo seu valor normal <20%, o que indica que ele ocorre quando 80% a 90% da CV já foram expirada. Valores >20% podem ser observados nas seguintes situações: 1) idosos; 2) portadores de doença obstrutiva insipiente; 3) síndrome restritiva grave, uma vez que o volume da CRF é menor que o volume de fechamento; e 4) insuficiência cardíaca congestiva, uma vez que o calibre das pequenas vias aéreas é comprimido por edema.

4) VR, CPT e capacidade de fechamento (soma do VR mais o volume de fechamento): Podem ser calculados se a área sob a curva é determinada por planimetria ou integração eletrônica.

Um dos artefatos mais comuns durante a manobra da respiração única é a presença de 'oscilações cardíacas', pois estas dificultam a acurácia das medidas. São atribuídas às mudanças do gás alveolar devido às pulsações dos capilares pulmonares que ocorrem durante a sístole cardíaca. Em geral, as 'oscilações cardíacas' ocorrem quando o fluxo expiratório é muito lento.

Os valores de normalidade para o  $TWN_2$  já foram determinados para a população brasileira<sup>12</sup>. Nestas equações, sexo, altura e idade explicaram 49% a 78% da variação nos valores observados e a altura foi o principal determinante da CPT ( $r = 0,84$ ). Interessantemente, o peso influenciou apenas as equações de VR/CPT em mulheres.

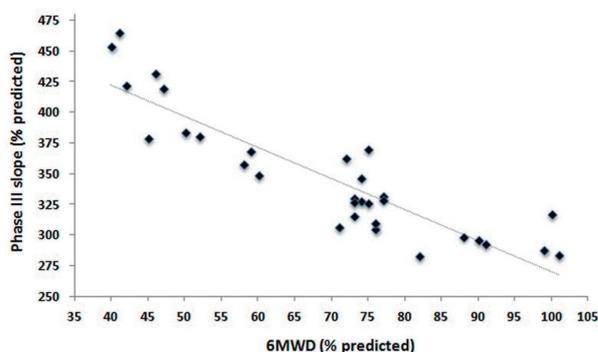
## Aplicabilidade clínica

Dentre os testes de função pulmonar, o  $TWN_2$  é um dos que tem tido mais interesse nos últimos anos. Um estudo mostrou a melhora da função das pequenas vias aéreas após a cessação do tabagismo em fumantes com espirometria normal<sup>13</sup>. O  $TWN_2$  também permite a busca de pacientes portadores de DPOC onde o fenótipo é basicamente a anormalidade de pequenas vias aéreas e, através deste conhecimento, abre-se o caminho para o desenvolvimento de novas terapias farmacológicas voltadas especificamente para as pequenas vias aéreas<sup>4,14</sup>.

Na DPOC, Timmins et al.<sup>9</sup> mostraram que a razão entre o volume expiratório forçado no primeiro segundo ( $VE_{F1}$ ) e a capacidade vital forçada (CVF) foi preditiva tanto para o enfisema como para a razão entre o volume de fechamento e a CV derivada do  $TWN_2$ . Já Mikamo et al.<sup>10</sup> descreveram correlações significantes entre o *slope* da fase III, as medidas de mecânica pulmonar e o escore de enfisema avaliado pela tomografia computadorizada

de alta resolução (TCAR). Gennimata et al.<sup>15</sup> também mostraram uma forte correlação do *slope* da fase III com os escores do GOLD ( $r = 0,77$ ). Interessantemente, o enfisema detectado na TCAR também tem sido relacionado a uma má distribuição da ventilação<sup>9</sup>, sugerindo que o enfisema pode ser uma causa importante de heterogeneidade na ventilação.

Mais recentemente, Lopes et al.<sup>16</sup>, estudando 31 pacientes com DPOC, mostraram correlações significantes entre a distância da caminhada em 6 minutos (DC6M) e o *slope* da fase III ( $r = -0,796$ ;  $p = 0,0001$ ) e entre a DC6M e o VR ( $r = -0,651$ ;  $p = 0,0001$ ) (Figura 3). Na análise multivariada, o *slope* da fase III foi o único preditor independente para a DC6M ( $R^2 = 0,703$ ;  $p = 0,0001$ ), para o escore COPD *Assessment Test* (CAT) ( $R^2 = 0,586$ ;  $p = 0,0001$ ) e para a escala de dispneia *Modified Medical Research Council* (MMRC) (risco relativo = 1,14;  $p = 0,0001$ ).



**Figura 3** – Correlação entre o *slope* da fase III e a distância da caminhada em 6 minutos ( $r = -0,796$ ;  $p = 0,0001$ ) (Lopes AJ, Mafor TT. Lung 2014;192(5):653-9).

O  $TWN_2$  também tem sido cada vez mais utilizado na avaliação de pacientes asmáticos e de portadores de fibrose cística. Usando análise computadorizada da técnica da respiração única, Bourdin et al.<sup>17</sup> demonstraram que o má controle da asma está correlacionado com o aumento do volume de fechamento e do *slope* da fase III. Já in'tVeen et al.<sup>18</sup>, comparando asmáticos graves com doença bem controlada vs. asmáticos graves com exacerbações frequentes, relataram que o aumento do volume de fechamento correlaciona com as exacerbações frequentes da doença e com o aumento da relação VR/CPT. Interessantemente, Farah et al.<sup>19</sup> observaram que a normalização do *slope* da fase III prediz o controle da asma em adultos, após o ajuste das doses de corticosteroides inalatórios. Na fibrose cística, o índice de *clearance* pulmonar reflete os efeitos do tratamento com solução salina hipertônica e alfa-dornase em pacientes pediátricos<sup>20</sup>.

## Considerações finais

O TWN<sub>2</sub> está sendo incorporado cada vez mais na prática pneumológica do dia-a-dia, uma vez que ele é capaz de detectar a má distribuição da ventilação e a doença de pequenas vias aéreas na presença de outros testes de função pulmonar com valores ainda normais, incluindo

a espirometria. Entretanto, um passo importante para a aplicação da técnica em grande escala envolve a confiabilidade nos padrões de qualidade dos equipamentos atualmente disponíveis para o uso comercial, assim como a disponibilidade e validação dos valores de referência em diferentes populações.

## Referências

- Robinson PD, Latzin P, Verbanck S, Hall GL, Horsley A, Gappa M et al. Consensus statement for inert gas washout measurement using multiple- and single- breath tests. *Eur Respir J* 2013;41:507-22.
- Verbanck S. Physiological measurement of the small airways. *Respiration* 2012;84(3):177-88.
- Konstantinos Katsoulis K, Kostikas K, Kontakiotis T. Techniques for assessing small airways function: Possible applications in asthma and COPD. *Respir Med* 2013. [Epub ahead of print]
- Stewart JI, Criner GJ. The small airways in chronic obstructive pulmonary disease: pathology and effects on disease progression and survival. *Curr Opin Pulm Med* 2013;19(2):109-15.
- Yanai M, Sekizawa K, Ohrui T, Sasaki H, Takishima T. Site of airway obstruction in pulmonary disease: direct measurement of intra-bronchial pressure. *J Appl Physiol* 1992;72(3):1016-23.
- Lopes AJ, Mafort TT. Correlations between small airway function, ventilation distribution, and functional exercise capacity in COPD patients. *Lung* 2014;192(5):653-9.
- Abbas C, Singer F, Yammine S, Casaulta C, Latzin P. Treatment response of airway clearance assessed by single-breath washout in children with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2013;12(6):567-74.
- Riise GC, Mårtensson G, Houlitz B, Bake B. Prediction of BOS by the single-breath nitrogen test in double lung transplant recipients. *BMC Res Notes* 2011;4:515.
- Timmins SC, Diba C, Farrow CE, Schoeffel RE, Berend N, Salome CM et al. The relationship between airflow obstruction, emphysema extent, and small airways function in COPD. *Chest* 2012;142(2):312-9.
- Mikamo M, Shirai T, Mori K, Shishido Y, Akita T, Morita S et al. Predictors of phase III slope of nitrogen single-breath washout in COPD. *Respir Physiol Neurobiol* 2013;189:42-6.
- Mottram CD. *Ruppel's Manual of Pulmonary Function Resting*. 20a ed. Elsevier Mosby: Maryland Heights, 2013.
- Neder JA, Andreoni S, Peres C, Nery LE. Reference values for lung function tests. I. Static volumes. *Braz J Med Biol Res* 1999;32(6):703-17.
- Verbanck S, Schuermans D, Paiva M, Meysman M, Vincken W. Small airway function improvement after smoking cessation in smokers without airway obstruction. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174(8):853-7.
- Lapperre TS, Willems LN, Timens W, Rabe KF, Hiemstra PS, Postma DS, Sterk PJ. Small airways dysfunction and neutrophilic inflammation in bronchial biopsies and BAL in COPD. *Chest* 2007;131(1):53-9.
- Gennimata SA, Palamidis A, Karakontaki F, Kosmas EN, Koutsoukou A, Loukides S et al. Pathophysiology of evolution of small airways disease to overt COPD. *COPD* 2010;7(4):269-75.
- Lopes AJ, Mafort TT. Correlations between small airway function, ventilation distribution, and functional exercise capacity in COPD patients. *Lung* 2014;192(5):653-9.
- Bourdin A, Paganin F, Préfaut C, Kieseler D, Godard P, Chanez P. Nitrogen washout slope in poorly controlled asthma. *Allergy* 2006;61(1):85e9.
- in 't Veen JC, Beekman AJ, Bel EH, Sterk PJ. Recurrent exacerbations in severe asthma are associated with enhanced airway closure during stable episodes. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(6):1902e6.
- Farah CS, King GG, Brown NJ, Peters MJ, Berend N, Salome CM. Ventilation heterogeneity predicts asthma control in adults following inhaled corticosteroid dose titration. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130(1): 61-8.
- Amin R, Subbarao P, Lou W, Jabar A, Balkovec S, Jensen R et al. The effect of dornase alfa on ventilation inhomogeneity in patients with cystic fibrosis. *Eur Respir J* 2011;37(4):806-12.