

PRÉMIO THOMÉ VILLAR/BOEHRINGER INGELHEIM, 1995

Obstrução brônquica máxima induzida em crianças asmáticas⁺

Análise dos indicadores de susceptibilidade brônquica aumentada à metacolina

T. GAMBOA*, N. NEUPARTH*, J.E ROSADO PINTO**, A. BENSABAT RENDAS*

ÍNDICE

GLOSSÁRIO

RESUMO

INTRODUÇÃO

Padronização dos testes de provocação brônquica com estímulos farmacológicos

As indicações dos testes de provocação farmacológica

Terminologia recomendada

Análise das curvas de dose-resposta

Declive das curvas de dose-resposta - Aplicações e controvérsias

Significado do plateau em curvas de obstrução máxima

* Departamento de Fisiopatologia, Faculdade de Ciências Médicas de Lisboa

** Departamento de Imuno-Alergologia, Hospital de Dona Estefânia

+ Trabalho vencedor *ex-aequo* o Prémio Thomé Villar/Boehringer Ingelheim, 1995

Recebido para publicação em 96.11.29

OBJECTIVOS

MATERIAL E MÉTODOS

POPULAÇÃO

PROCEDIMENTO

Caracterização da sensibilidade e gravidade clínica da asma
Reprodutibilidade dos indicadores de susceptibilidade brônquica aumentada induzidos pelos métodos do dosímetro e do volume corrente
Comparação dos declives e graus de obstrução máxima induzidos pelos métodos do dosímetro e do volume corrente

MÉTODOS

Medição da função ventilatória basal e monitorização da resposta à metacolina
Teste de provocação pelo método do dosímetro
Teste de provocação pelo método do volume corrente
Monitorização da saturação de hemoglobina em oxigénio
Critérios de conclusão dos testes
Método de cálculo do PD₂₀ FEV₁ e PC₂₀ FEV₁
Métodos de cálculo do declive da curva de dose-resposta
Métodos de cálculo do grau de obstrução máxima

ANÁLISE DOS RESULTADOS

Determinação da reprodutibilidade do PD₂₀/PC₂₀ FEV₁
Determinação da reprodutibilidade dos declives
Comparação dos declives calculados por regressão linear e pela fórmula de O'CONNOR
Comparação dos indicadores de susceptibilidade brônquica aumentada, determinados pelos métodos do dosímetro e do volume corrente

RESULTADOS

DISTRIBUIÇÃO DOS DOENTES NAS DIFERENTES FASES DO PROTOCOLO

1. MÉTODO DO DOSÍMETRO

- 1.1 Reprodutibilidade do PD₂₀ FEV₁
- 1.2 Reprodutibilidade do declive da curva de dose-resposta
- 1.3 Reprodutibilidade da obstrução máxima (redução máxima do FEV₁)

2. MÉTODO DO VOLUME CORRENTE

- 2.1 Reprodutibilidade do PC₂₀ FEV₁
- 2.2 Reprodutibilidade dos declives das curvas de dose-resposta
- 2.3 Reprodutibilidade da obstrução máxima (redução máxima do FEV₁)

3. COMPARAÇÃO DOS DECLIVES CALCULADOS POR REGIÕES LINEAR

NAS DIFERENTES FASES DA CURVA E DOSE RESPOSTA E PELA FÓRMULA DE O'CONNOR

3.1 Método do Dosímetro

3.2 Método do Volume Corrente

4. COMPARAÇÃO DO MÉTOD DO DOSÍMETRO COM O MÉTODO DO VOLUME CORRENTE

4.1 Comparação dos declives

4.2 Comparação da obstrução máxima/redução máxima do FEV₁

5. SATURAÇÃO DA HEMOGLOBINA (S_AO₂) DURANTE

AS PROVAS DE BRONCOCONSTRIÇÃO MÁXIMA

DISCUSSÃO

Reprodutibilidade do PD₂₀/PC₂₀ FEV₁, dos declives da curva de dose-resposta e do grau de obstrução máxima/redução máxima do FEV₁

Comparação dos declives calculados por regressão linear nas diferentes fases da curva de dose resposta e pela fórmula de O'CONNOR

Comparação dos indicadores de susceptibilidade brônquica aumentada, determinados pelos métodos do dosímetro e do volume corrente

Monitorização da S_AO₂ durante as provas de broncoconstrição máxima

CONCLUSÕES

BIBLIOGRAFIA

GLOSSÁRIO

SEPCR - *Societas Europea Physiologica Clinicae Respiratoriae*

ERS - *European Respiratory Society*

ATS - *American Thoracic Society*

CDR - curva de dose-resposta

PD - dose provocadora de uma resposta significativa

PC - concentração provocadora de uma resposta significativa

FEV₁ - débito expiratório no primeiro segundo de uma manobra de expiração forçada

Peak Flow - débito expiratório máximo instantâneo

RV - Volume Residual

TLC - Capacidade Pulmonar Total

PD₂₀ FEV₁ - dose provocadora de uma redução de 20% no FEV₁ basal ou medido após a inalação de solvente

PC₂₀ FEV₁ - concentração provocadora de uma redução de 20% no FEV₁ basal ou medido após a inalação de solvente

plateau da CDR - variação inferior ou igual a 5% entre FEV₁ consecutivos, quando são administradas doses elevadas e progressivamente crescentes do agente broncoconstritor

Redução máxima do FEV₁ - percentagem de redução do FEV₁ em relação ao valor medido após solvente, induzida após a inalação da última dose do agente

farmacológico em provas de broncoconstrição máxima onde não se observou existência de *plateau*.

Curvas parciais de dose-resposta - CDR obtidas a partir de testes de provocação brônquica farmacológica em que a prova termina quando se observa uma redução do FEV₁ igual ou superior a 20% do valor medido após a inalação do solvente

Curvas de obstrução máxima - CDR obtidas a partir de testes de provocação em que são administradas doses crescentes do agente farmacológico até se observar existência de *plateau* ou se atingir uma redução do FEV₁ igual ou superior a 50% do valor medido após solvente.

RESUMO

Neste trabalho, efectuaram-se testes de provocação brônquica máxima com metacolina em 17 crianças asmáticas, com dois dos métodos de administração de aerossóis mais frequentemente usados, dosimétrico e de volume corrente, com os objectivos de: 1) avaliar a reprodutibilidade dos indicadores de susceptibilidade brônquica aumentada: PD₂₀/PC₂₀ FEV₁, declive da curva de dose-resposta (CDR) e grau de redução máxima do FEV₁ (MFEV₁) ou *plateau*; 2) verificar se a fórmula de cálculo do declive e a utilização de diferente número de pontos se traduzem por valores semelhantes, para o que se compararam, na mesma CDR, os declives calculados por regressão linear: entre si, em diferentes fases da curva de dose-resposta e também com os calculados pela fórmula simplificada de O'CONNOR; 3) determinar se o valor do declive de uma prova de obstrução máxima pode ser extrapolado a partir dos testes de provocação recomendados para a clínica (que terminam imediatamente após o limiar de 20% de redução do FEV₁ ter sido atingido); e 4) comparar os declives e os valores do grau de obstrução máxima induzidos pelo método do dosímetro com os obtidos pelo método do volume corrente. Para esse efeito, administraram-se doses/concentrações crescentes de cloridrato de metacolina até se atingir um *plateau* (variação entre dois pontos consecutivos ≤ 5%); ou uma redução ≥ 50% do valor medido após inalação do solvente. A SaO₂ foi medida em condições basais e 90 segundos após a inalação do solvente e de cada dose de metacolina, através de um oxímetro de pulso.

Não se observaram diferenças significativas entre os indicadores de susceptibilidade brônquica em dois testes realizados com 5 a 10 dias de intervalo, tanto para o método do dosímetro (n=6) como para o método do volume corrente (n=5), quer os PD₂₀ FEV₁, quer os PC₂₀ FEV₁, encontravam-se dentro dos limites de reprodutibilidade recomendados e não se observaram diferenças significativas entre os declives, qualquer que fosse o método de cálculo ou a fase da curva analisada. Por outro lado, encontraram-se diferenças significativas entre os declives calculados por regressão linear nas diferentes fases da CDR. O mesmo se verificou em relação aos valores deste parâmetro determinados por fórmulas diferentes. Não se observaram diferenças entre os declives das CDR obtidas, no mesmo indivíduo, pelo método do dosímetro e pelo método do volume corrente. As variações da SaO₂ durante as provas não excederam -7% do valor basal, sugerindo não terem existido repercussões significativas sobre a trocas gasosas, mesmo com reduções do FEV₁ >50%.

Em conclusão: o $PD_{20} FEV_1 / PC_{20} FEV_1$ e os declives da CDR foram reprodutíveis, com os dois métodos; as relações entre o estímulo administrado e a resposta das vias aéreas variaram significativamente ao longo das provas; o grau de obstrução induzido em provas de obstrução brônquica máxima não pode ser extrapolado a partir dos declives calculados em CDR parciais tal como são recomendados para a clínica; finalmente, o declive e o grau de obstrução máxima foram semelhantes em testes realizados com diferentes sistemas de geração e inalação de aerossóis.

Palavras-chave: asma, curvas dose-resposta, curvas de obstrução máxima, hipersensibilidade brônquica, hiperreactividade brônquica, testes de provocação brônquica.

ABSTRACT

**MAXIMAL BRONCHIAL OBSTRUCTION
IN ASTHMATIC CHILDREN**

Analysis of the Indexes of Bronchial
Hyperresponsiveness to Methacholine

T. GAMBOA*, N. NEUPARTH*, J.E ROSADO PINTO**, A. B. RENDAS*

* Department, of Pathophysiology, Faculty of Medical Sciences, UNL and

** Department of Immunoallergology, Hospital Dona Estefânia, Lisbon, Portugal

In this work, 17 asthmatic children were submitted to maximal bronchial challenge tests with methacholine by two of the more frequently used methods - the dosimeter (D) and the tidal breathing (TB), in order to determine: 1) the reproducibility of the indices of hyperresponsiveness that can be obtained from the dose-response curves (DRCs): $PD_{20}/PC_{20} FEV_1$, slopes and degree of maximal bronchial obstruction (MFEV₁) or the plateau; 2) if the methods of calculation of the slopes - least-squares (LSS) and the formula of O'CONNOR (DRR) gave similar results; in the case of the LSS, the slopes calculated with different number of points were also compared; 3) if the slope of maximal DRC (MDRS) could be extrapolated from the early part of the DRC and 4) if the shapes of the DRCs obtained by the two methods of inhalation were comparable. All children performed at least one maximal bronchial challenge test with methacholine by D or TB; to analyze the reproducibility and to compare the of DRC from D and TB methods, a sub-group of patients repeated one of the tests 5 to 10 days later. Doubling doses/concentrations of methacholine were inhaled until a plateau response (FEV_1 variation $\leq 5\%$ between two consecutive points) or MFEV₁ (FEV_1 reduction $\geq 50\%$ from post saline) were reached. The SaO_2 was measured by a pulse oximeter immediately before the test and 90 seconds after saline and each dose/concentration of methacholine.

There were no significant differences in the indexes of hyperresponsiveness measured with 5 to 10 days of interval both with the D (n=6) and with the TB (n=5): the $PD_{20} FEV_1 / PC_{20} FEV_1$ were within the recommended limits of reproducibility and there were no significant differences between the slopes obtained with the two methods. The LSS calculated on different stages of the same DRC (with different number of points) were significantly different between each other and

also from DRR. There weren't significant differences between the slopes of the DRCs obtained by D and TB. The SaO_2 didn't change more than - 7% from baseline, suggesting no significant changes in gas exchange, despite reductions of FEV_1 , higher than 50%.

In conclusion: both $PD_{20} FEV_1 / PC_{20} FEV_1$ and the DRC slopes were reproducible; the relationship between the stimulus and the airway response was significantly changed during the challenge; the degree of airway obstruction induced by high doses of methacholine can not be extrapolated from a standard bronchial challenge test; the slopes and MFEV₁ induced by D and TD were similar.

Key-words: asthma, bronchial provocation tests, dose-response curves, bronchial hypersensitivity, bronchial hyperreactivity, bronchial hyperresponsiveness, maximal dose-response curves.

INTRODUÇÃO

Actualmente está bem documentada a maior labilidade dos brônquios de doentes asmáticos em resposta a estímulos endógenos ou exógenos - o seu calibre varia com maior facilidade e num grau superior ao de indivíduos saudáveis. Esta característica traduz-se por aumento da resistência das vias aéreas variável ao longo do tempo, que se pode detectar medindo a variação espontânea dos débitos expiratórios forçados ou ser induzido experimentalmente através da inalação de diferentes estímulos broncoconstritores.

Há mais de 50 anos, DAUTREBANDE e PHILLIPOT (1) verificaram que a inalação de um agonista colinérgico induzia sintomas semelhantes aos de uma crise de asma. A partir desta observação desenvolveram-se sistemas de administração em aerossol de diferentes estímulos broncoconstritores. Os estímulos inicialmente usados foram agonistas colinérgicos e a histamina, que se verificou induzirem sintomas ou alterações da função ventilatória que eram sempre mais evidentes em doentes asmáticos do que em saudáveis e que era possível reverter com relativa rapidez, através da inalação de fármacos broncodilatadores.

Padronização dos testes de provocação brônquica com agentes farmacológicos

A partir da década de 70, a aplicação destes testes passou a fazer parte não só da investigação *in vivo* dos

mecanismos da asma, como a ser encarada como teste de diagnóstico da asma. Assim, desenvolveram-se diferentes protocolos de administração de agentes inespecíficos por via inalatória. No entanto, o tipo de estímulo administrado, o método de geração e administração dos aerossóis, o parâmetro usado para monitorizar a resposta, o critério de "resposta significativa" e a expressão dos resultados variavam de centro para centro. Se bem que este facto não retirasse o valor intrínseco dos resultados, tornava impossível a comparação de dados entre diferentes grupos. Em 1975, CHAI et al (2), publicaram o primeiro artigo especificamente dirigido para a padronização dos testes de provocação brônquica. Esta publicação, se bem que admitisse o uso de outros métodos como a administração contínua de aerossol durante a ventilação em repouso (método do volume corrente), incluía unicamente normas para o método de administração de aerossóis durante a inspiração (dosímetro). As recomendações incidiam sobre os critérios de inclusão, nomeadamente em relação à função ventilatória basal, à gama de doses a administrar quer para a histamina quer para a metacolina, ao parâmetro de monitorização da resposta, aos critérios de positividade da prova e aos métodos de expressão dos resultados.

Apesar de algumas destas recomendações poderem, ao tempo, ser discutíveis tiveram o mérito de despertar a atenção para a necessidade de padronização destes métodos.

Seguiu-se a publicação das primeiras recomendações elaboradas por membros da Sociedade Europeia

de Fisiologia Clínica Respiratória (SEPCR) em 1981 (3), mas só dois anos mais tarde surgiu um relatório de consenso com normas detalhadas de padronização dos testes de provocação brônquica com estímulos inespecíficos (4) elaborado por este grupo. Os autores definiram as indicações e contra-indicações dos testes e deram orientações claras sobre os aspectos que consideravam indispensáveis para que os resultados de grupos diferentes pudessem ser comparados.

Foi dada ênfase particular às características físicas, aos sistemas de produção e aos padrões de inalação dos aerossóis, sendo as informações claramente orientadas para os dois métodos mais generalizados, o método do dosímetro (CHAI et al (2)) e o do volume corrente (COCKCROFT et al (5)). Indicaram também quais os parâmetros de monitorização da resposta brônquica que deveriam ser usados, tendo em conta a sua sensibilidade e reprodutibilidade, estabelecendo para cada um a percentagem de variação considerada significativa.

Propuseram que a expressão dos resultados fosse feita em dose, com o método do dosímetro, e com o método do volume corrente em concentração provocadora de uma resposta significativa, determinadas por interpolação linear dos dois últimos pontos da curva de dose-resposta construída em escala semi-logarítmica. Consideraram que o valor calculado correspondia à *sensibilidade* brônquica ao estímulo administrado, que vários estudos demonstraram ter relação com a gravidade da asma, com o consumo e resposta aos broncodilatadores e com a variação circadiana do *Peak Flow*. Referiram também outros métodos de análise dos dados, nomeadamente as diferentes formas de cálculo do declive da curva de dose-resposta, já usadas por alguns grupos. No entanto, não formularam qualquer recomendação sobre este assunto que consideraram ser uma das áreas de futura investigação.

Em 1993, foi publicada uma revisão destas normas pela mesma Sociedade (6), que se passou a denominar *European Respiratory Society* (ERS), na qual se recomendava para os testes de provocação farmacológica: a utilização de metacolina e de histamina, e que administrados por métodos dosimétricos - dosímetro e

método de Yan (7) - ou pelo método do volume corrente. Nesta publicação foram descritas em detalhe as características técnicas que cada um destes sistemas de nebulização deve respeitar e considerou-se que, nas condições recomendadas, os resultados dos três métodos eram equivalentes entre si, isto é, os graus de gravidade da *sensibilidade* brônquica eram semelhantes qualquer que fosse o método utilizado. Esta publicação esclareceu também qual a posição actual da ERS em relação às indicações dos testes na asma, a questões terminológicas e à análise e expressão dos resultados:

As indicações dos testes de provocação farmacológica - apesar da presença de *susceptibilidade* brônquica aumentada a estímulos farmacológicos não ser sinónimo de asma, considerou-se que estes testes podem fornecer informações relevantes, especialmente em doentes em que não é possível documentar por outros métodos (resposta a broncodilatadores ou variação diurna do *Peak Flow*) a existência de obstrução brônquica reversível (8). Recomendou-se a realização do teste nos seguintes casos: 1) como método não invasivo na investigação *in vivo* dos mecanismos responsáveis pelo aumento da *susceptibilidade* das vias aéreas; 2) na exclusão do diagnóstico da asma; 3) no *follow-up* de doentes, para monitorizar objectivamente a resposta à terapêutica ou os efeitos da exposição a agentes sensibilizantes; 4) como um indicador do prognóstico da asma, como sugerem alguns estudos longitudinais; 5) em conjunto com sintomas recentes (no último ano), como critério de diagnóstico de asma em estudos epidemiológicos (9). A revisão do papel destas provas no diagnóstico da asma relaciona-se com o facto de se saber desde há muito que existe *sensibilidade* aumentada aos estímulos farmacológicos noutras doenças crónicas das vias aéreas, em doentes com patologia cardíaca e em doentes com rinite. Por outro lado, estudos epidemiológicos demonstraram que a *sensibilidade* brônquica a estímulos farmacológicos tem uma distribuição continua em toda a população, existindo indivíduos saudáveis com resposta dentro dos níveis que se observam em asmáticos doentes com sintomas de asma podem ter testes negativos.

Terminologia recomendada - A *hipersensibilidade brônquica* a um determinado estímulo corresponde a um desvio para a esquerda da curva de dose-resposta e *hiperreactividade* a um declive aumentado desta. Ambos são indicadores do aumento da *susceptibilidade* dos brônquios a esse estímulo (Fig. 1). Enquanto as duas primeiras designações são a tradução literal dos termos anglo-saxónicos, não existe em português o equivalente a "hyperresponsiveness" pelo que se optou pela expressão *susceptibilidade brônquica aumentada* (10).

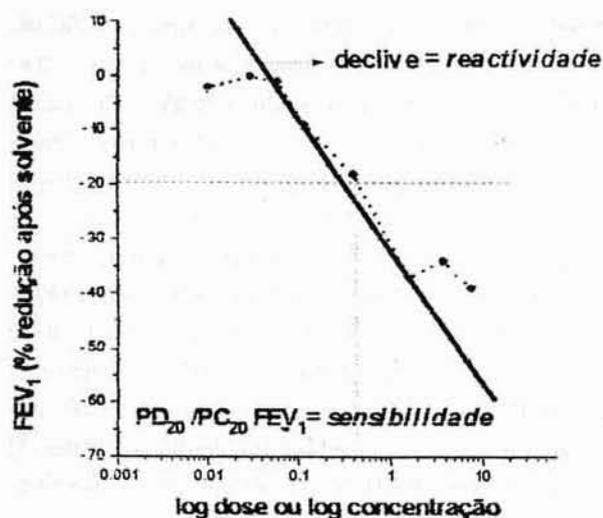


Fig. 1 - Curva de dose-resposta (CDR). Representação dos indicadores de *susceptibilidade* brônquica a estímulos farmacológicos: *sensibilidade* aumentada traduz-se por um aumento significativo da resistência das vias aéreas com doses baixas (< 7.8 μ mol) de metacolina ou histamina; *reactividade* aumentada traduz-se por uma maior inclinação da CDR

Análise das curvas de dose-resposta - o parâmetro mais frequentemente usado para exprimir os resultados de um teste de provocação brônquica farmacológica tem sido a dose (PD) ou concentração (PC) provocadora de um aumento significativo da resistência das vias aéreas que traduz a *sensibilidade* ao agonista inalado. O débito expiratório no primeiro segundo de uma manobra de expiração forçada (FEV_1) foi o parâmetro recomendado para monitorizar a resposta broncoconstritora. Considerou-se que existe

hipersensibilidade brônquica a um determinado estímulo quando se observa uma redução superior ou igual a 20% em relação ao valor basal ou medida após inalação do solvente, após a inalação de doses de metacolina ou histamina inferiores a 7.8 μ mol ou concentrações dos mesmos agentes inferiores ou iguais a 8 mg/ml (6,11). Convencionou-se que os resultados seriam expressos em dose ou concentração provocadora de uma redução de 20% do FEV_1 (PD_{20} FEV_1 ou PC_{20} FEV_1 - Figura 1).

No entanto, como já foi dito anteriormente, a *hipersensibilidade brônquica* também pode estar presente em indivíduos saudáveis e noutras patologias para além da asma. A necessidade de distinguir os asmáticos dos outros grupos não foi alheia ao interesse crescente pela *análise da forma da curva de dose-resposta em curvas de obstrução máxima e o cálculo do declive*. A observação da forma das curvas de dose-resposta em saudáveis e asmáticos demonstrou que a determinação da *sensibilidade* fornecia apenas uma informação parcial sobre as características da resposta das vias aéreas a estímulos farmacológicos. De facto, verificou-se que os indivíduos saudáveis apresentavam reduções ligeiras do calibre brônquico por unidade de dose de estímulo administrado (12) (menor *reactividade* = menor inclinação da CDR) e que a partir de uma determinada dose deixava de se observar variações significativas do FEV_1 ou sGaw, o que significava que se tinha atingido o grau de *obstrução máxima* das vias aéreas que foi designada por *plateau* (13). Na maior parte dos asmáticos, o declive da CDR é mais acentuado (mais inclinado) (13,14) e não existe *plateau* (13). A inexistência de *plateau* que é considerada característica da asma, traduz a ausência de mecanismos protectores que estão presentes nos não asmáticos, resultando em *obstrução excessiva das vias aéreas* (Fig. 2).

A ERS considerou, nesta revisão, que estes índices dão informações relevantes sobre a potencial gravidade da obstrução brônquica. Não tomou, no entanto, uma posição definitiva em relação aos aspectos metodológicos envolvidos no cálculo destes parâmetros, nomeadamente o número mínimo de pontos a

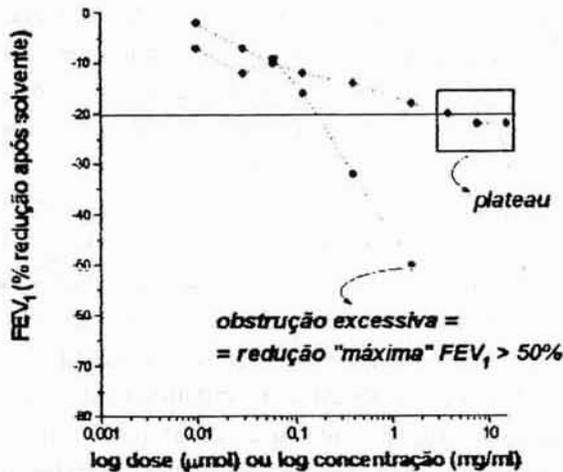


Fig. 2 – Representação de uma CDR típica da asma, *sem plateau* e com declive mais acentuado do que a CDR típica dos normais (e asmáticos ligeiros) em que a curva apresenta uma forma sigmóide, observando-se que a partir de um determinado ponto, as doses subsequentes de metacolina não induzem variações significativas do FEV₁.

partir do qual se considera que existe *plateau* e qual das diferentes fórmulas de cálculo do declive - regressão linear, ajuste de uma função sigmóide, ou a fórmula simplificada proposta por O'CONNOR - deve ser usada.

A relevância do uso destes parâmetros tem sido analisada por diversos autores, nomeadamente sobre os mecanismos que determinam as diferenças entre normais e asmáticos e sobre a relação entre estes indicadores de *susceptibilidade brônquica aumentada* e a clínica da asma.

Declive das curvas de dose-resposta - Aplicações e controvérsias

O declive das curvas de dose-resposta é um indicador da gravidade da resposta brônquica. OREHEK (12) foi o primeiro investigador a referir que curvas de diferentes indivíduos com *sensibilidade* semelhante ao carbacol tinham declives (*reactividade*) diferentes e que este facto apontava para a existência

de mecanismos diferentes para a *sensibilidade e reactividade* brônquicas. Apesar de se desconhecem os mecanismos que determinam a inclinação da curva de dose-resposta, verificou-se que indivíduos com sintomas de asma têm declives mais acentuados (maior redução do FEV₁ ou sGaw por unidade de estímulo administrado) que os saudáveis (13,14,15,16,17,18). Existe, no entanto, sobreposição nos valores obtidos nos dois grupos, á semelhança do que acontece com todos os outros índices de *susceptibilidade* brônquica. Os estudos epidemiológicos realizados nos últimos dez anos quer em adultos (15,16,18) quer em crianças (17) demonstraram que o grau de sensibilidade, especificidade e valor preditivo do declive eram muito semelhantes aos do PD₂₀/PC₂₀ FEV₁. Isto não significa que este parâmetro possa substituir a expressão largamente aceite e standardizada da dose ou concentração provocadora (19,20). O interesse do declive como indicador de *reactividade* brônquica tem sido questionado, fundamentalmente pelo facto deste parâmetro ser determinado com base num número muito limitado de pontos (Figura 1) a que têm sido aplicados diferentes métodos de cálculo: análise de regressão com *todos os pontos* da curva (16,21), análise a partir de um *ponto limiar* (12,15), ajuste dos dados a uma equação sigmóide (13), cálculo do quociente entre a percentagem de redução do FEV₁, e a dose que desencadeou essa resposta (15). Por outro lado, os valores dos declives são, em geral, negativos e não têm uma distribuição normal na população tornando-se necessário adicionar constantes aos dados originais que permitam a transformação logarítmica para o tratamento estatístico. Se não for feita a reconversão dos resultados para a forma original, torna-se impossível comparar os dados de diferentes centros.

O esforço que tem sido desenvolvido nos últimos anos na análise do declive, deve-se a que este índice pode ser calculado para toda a população, tendo aplicação em estudos epidemiológicos evitando a censura de dados ou cálculos por extrapolação, o que não acontece quando o PD₂₀/PC₂₀ é o único parâmetro medido (5,11,13,14,17).

Significado do *plateau* em curvas de obstrução máxima

WOOLCOCK e colaboradores fizeram o primeiro estudo das diferenças entre a forma das curvas de dose-resposta de indivíduos saudáveis ou com asma ligeira e a de doentes com asma moderada ou grave (13). Demonstraram que as curvas de dose-resposta dos primeiros tinham *plateau* quando se administravam doses elevadas de metacolina/histamina, enquanto que doentes com asma moderada e grave atingiam reduções do FEV₁ de 50% com doses muito inferiores, sem que se observasse qualquer tendência para uma limitação da resposta. Verificaram que os pontos da curva de dose-resposta com *plateau* se ajustavam a uma função sigmóide, à semelhança do que se observava nos estudos farmacológicos *in vitro* com músculo liso brônquico. Aplicaram assim os mesmos princípios à análise das curvas *in vivo*, calculando a resposta máxima e as constantes (ordenada na origem, declive) que descrevem a posição e forma da curva. Os resultados deste trabalho demonstraram que os testes de provocação brônquica permitiam identificar uma característica que foi considerada típica da asma, a *obstrução excessiva das vias aéreas*. A partir desta altura, este e outros grupos confirmaram a existência de resposta máxima em saudáveis e na asma ligeira (21,22,23).

Todavia, a maior parte dos trabalhos foi feita num número relativamente limitado de casos, o que é explicado pela dificuldade em aplicar um protocolo de obstrução máxima a estudos epidemiológicos. O único estudo alargado (24), feito numa amostra aleatória de 201 indivíduos, demonstrou que o grau de obstrução máxima tem uma distribuição contínua na população, desde curvas muito próximas da horizontal (com redução máxima do FEV₁, ≤ 5%), até a curvas com declive acentuado e sem *plateau*. Estas últimas correspondiam, na maior parte dos casos, a indivíduos com sintomas de asma. Noutro estudo, onde foram comparados dois agentes farmacológicos (histamina e metacolina) em saudáveis e asmáticos ligeiros (25,26) verificou-se que o grau de obstrução máxima e a existência de *plateau* são independentes das proprieda-

des farmacodinâmicas do agonista inalado, o que sugere que a limitação da resposta brônquica é uma característica geral das vias aéreas e que os mecanismos responsáveis estão ausentes ou alterados nos asmáticos sintomáticos (21,24,25,27).

A ausência de *plateau* em curvas de dose-resposta de asmáticos não tem correlação com a resposta do músculo liso brônquico nas preparações *in vitro* em que os mesmos agentes farmacológicos foram utilizados como estímulo (30). MACKLEM (28,29) pôs a hipótese de que a presença de inflamação das vias aéreas ao determinar a formação de edema e, consequentemente, a redução do lúmen (diâmetro interno), amplificaria o efeito do encurtamento do músculo liso brônquico e que alterando o diâmetro externo diminuiria as forças de tracção elástica aplicadas sobre a parede, logo a carga contra a qual o músculo liso se contrai, levando a obstrução excessiva.

Por todas estas razões, a análise das curvas de obstrução máxima tem sido aplicada na monitorização do efeito de fármacos anti-inflamatórios e na investigação de mecanismos da hiperreactividade brônquica (30,31,32,33).

Em *síntese*, a análise da informação obtida através de testes de provocação brônquica farmacológica deve ser feita tendo em conta que nenhum dos indicadores derivados da curva de dose-resposta - PD₂₀ ou PC₂₀ FEV₁ declive, ausência de *plateau* - é específico da asma. A determinação do grau de hipersensibilidade brônquica continua a ser a forma corrente de apresentar os resultados destes testes, uma vez que é o único cujos métodos de cálculo estão claramente padronizados, do qual se conhecem os limites de reprodutibilidade e em que foi possível estabelecer graus de gravidade com base na relação com os sintomas. No entanto, não fornece qualquer indicação sobre a gravidade da resposta uma vez desencadeada. Para tal é necessário avaliar a **forma** da curva de dose-resposta (23), que só é possível se forem administradas doses do agente farmacológico muito superiores às recomendadas para os testes realizados na clínica e/ou induzir reduções do FEV₁ ≥ 50%. A este respeito a ERS é muito clara nas suas recomendações, reservando a sua aplicação em protocolos de investigação, uma vez que

os mecanismos que determinam a *hipersensibilidade* a um determinado estímulo não são os mesmos que determinam a *obstrução excessiva das vias aéreas*.

Finalmente, não existe padronização do método de cálculo do *declive* e a reprodutibilidade deste parâmetro não é consensual entre os diferentes autores. Apesar de não se conhecerem os mecanismos que determinam a *reactividade*, o recurso a este parâmetro na expressão de resultados de estudos epidemiológicos, justifica a necessidade de esclarecimento daqueles dois aspectos.

Os OBJECTIVOS deste trabalho foram:

Comparar os indicadores de susceptibilidade brônquica aumentada - *sensibilidade, reactividade (declive da curva de dose resposta) e obstrução máxima* - determinados pela inalação de metacolina administrada por dois métodos diferentes - dosímetro e volume corrente.

Verificar se a fórmula de cálculo do declive e o número de pontos considerados se traduzem por valores semelhantes, isto é, verificar se é possível comparar valores de declives calculados por diferentes métodos.

Para responder a estas questões, optou-se pelo procedimento seguinte:

1. Avaliar a reprodutibilidade da *sensibilidade* brônquica medida pelo método do dosímetro $PD_{20}FEV_1$ e pelo método do volume corrente $PC_{20}FEV_1$.

2. Avaliar a reprodutibilidade do *declive* da curva de dose-resposta determinado pelo método do dosímetro e do volume corrente, calculado pelos métodos mais frequentemente referidos na literatura.

3. Avaliar, para o método do dosímetro e para o método do volume corrente, a reprodutibilidade do grau de *redução máxima do FEV₁* ou do *plateau*.

4. Comparar entre si, para cada um dos dois métodos, os *declives* determinados por *regressão linear de todos os pontos da curva, do ponto a partir do qual se inicia a resposta e a partir do ponto que*

precede o limiar de uma resposta significativa e ainda pela fórmula simplificada por O'CONNOR. Pretendeu-se esclarecer se a fórmula de cálculo e o número de pontos da curva, que corresponde a diferentes fases da resposta brônquica à metacolina, influenciam o valor do declive.

5. Comparar os declives e o grau de obstrução máxima obtidos pelos métodos do **dosímetro e volume corrente** uma vez que não foi ainda demonstrado que os valores do declive e da obstrução máxima induzidos pelos dois métodos sejam equivalentes, tal como já foi estabelecido para o PD e PC.

MATERIAL E MÉTODOS

POPULAÇÃO

Estudaram-se 20 crianças asmáticas com idades compreendidas entre os 8 e os 17 anos, sem crises de asma ou infecção das vias aéreas superiores há pelo menos seis semanas. Obteve-se consentimento verbal dos encarregados de educação das crianças, após informação sobre o protocolo em que estas iriam participar.

Todos os doentes mantiveram a terapêutica profiláctica com corticosteróides ou com cromoglicato dissódico se a estivessem a fazer, tendo suspenso o consumo de broncodilatadores ou de teofilina pelo menos 12 horas antes do teste. Foi também recomendado que não consumissem alimentos contendo xantinas durante o mesmo intervalo de tempo. Apenas foram incluídas no estudo as crianças que, cumprindo estes critérios de inclusão, tivessem o FEV₁ basal superior ou igual a 70% do valor teórico (Fig. 3). Só foram incluídas nos estudos de reprodutibilidade e na comparação de métodos os doentes cujo FEV₁ basal não diferisse por mais de 10% nos diferentes dias de teste.

PROCEDIMENTO

Caracterização da sensibilidade e da gravidade clínica da asma

No primeiro dia de teste aplicou-se um questionário de caracterização da gravidade da asma a todos os doentes (Fig. 3). Este questionário foi adaptado dos questionários para crianças da Comunidade Europeia e da ATS, tendo sido recentemente avaliada a sua sensibilidade para o diagnóstico da asma num estudo epidemiológico (34). Os critérios de gravidade - ligeira, moderada e grave - basearam-se na frequência das crises no último ano e na terapêutica necessária para controlar as crises (Tabela 1).

TABELA I
Graus de gravidade clínica da asma

Gravidade	Crises/ano	Terapêutica das crises
Ligeira score 1	1 a 2	β_2 agonistas
Moderada score 2	2 - 6	β_2 agonistas
Grave score 3	2 - 6 > 12	corticóides sistêmicos qualquer terapêutica

Todos os doentes fizeram pelo menos um teste de provocação com metacolina através do dosímetro ou método do volume corrente, até atingirem o *plateau* ou uma redução do $FEV_1 \geq 50\%$, ou após a administração da última dose.

Calculou-se o $PD_{20}FEV_1/PC_{20}FEV_1$ e determinou-se o grau de *sensibilidade* à metacolina de acordo com os limites propostos por WOOLCOCK (6,11) (Tabela 2).

TABELA II

Graus de gravidade da sensibilidade brônquica à metacolina

	$PD_{20}FEV_1 (\mu mol)$	$PC_{20}FEV_1 (mg/ml)$
Muito ligeira	3.3 - 7.8	8.1 - 16
Ligeira	0.9 - 3.2	1.26 - 8
Moderada	0.1 - 0.8	0.16 - 1.25
Grave	< 0.1	< 0.15

Reprodutibilidade dos indicadores de susceptibilidade brônquica aumentada com os métodos do dosímetro e do volume corrente

Para que fosse possível responder aos objectivos deste trabalho foi necessário, em primeiro lugar, avaliar a reprodutibilidade dos indicadores de *susceptibilidade* brônquica que se pretendia analisar: $PD_{20}FEV_1$, $PC_{20}FEV_1$, declive da curva de dose-resposta calculado pelos diferentes métodos, *plateau* e grau de redução máxima do FEV_1 .

Os doentes repetiram o teste à mesma hora e com 5 a 10 dias de intervalo. Estabeleceu-se que seria necessário incluir pelo menos 5 doentes que, cumprim

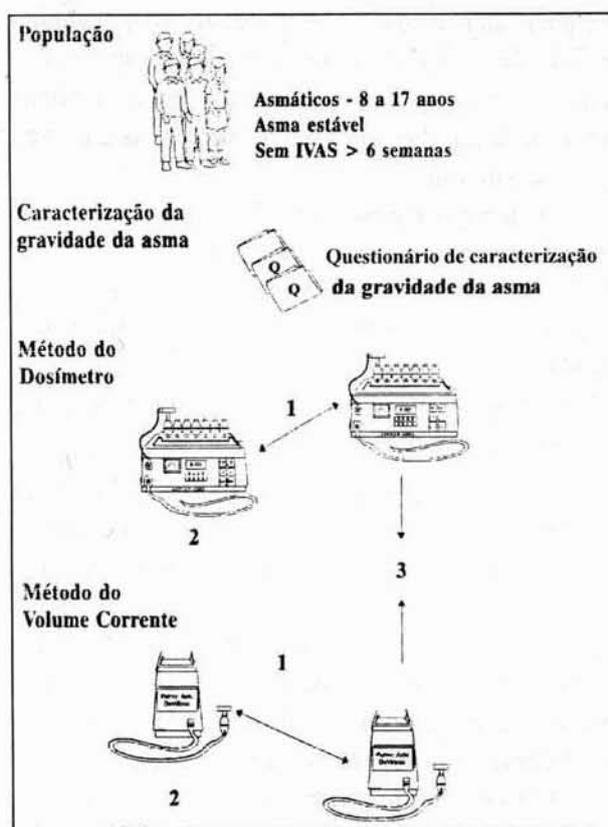


Fig. 3 – Procedimento: 1. Reprodutibilidade dos indicadores de *susceptibilidade* brônquica aumentada, pelos métodos do dosímetro e volume corrente; 2 - Comparação dos declives em diferentes fases da CDR; 3 - Comparação, entre o dosímetro e o método do volume corrente, dos indicadores de susceptibilidade brônquica.

do os critérios de inclusão, tivessem uma variação inferior ou igual a 10% entre os FEV₁ basais medidos nos dois dias de teste (Fig. 3).

Comparação dos declives e graus de obstrução máxima induzidos pelo método do dosímetro e pelo método do volume corrente

Os doentes fizeram o teste com o dosímetro e pelo método do volume corrente em duas ocasiões, à mesma hora e com um intervalo de 5 a 10 dias (Fig. 3).

Para que fosse possível a comparação entre métodos, os resultados do dosímetro foram expressos em mg/ml, já que não é possível calcular com rigor a dose administrada com o método do volume corrente.

Foram incluídos todos os doentes com função basal reprodutível, independentemente de terem testes positivos com um ou ambos os métodos, uma vez que os parâmetros que se pretendia comparar - declive e redução máxima do FEV₁ ou o *plateau* - podem ser determinados em todos indivíduos.

MÉTODOS

Medição da função ventilatória basal e monitorização da resposta à metacolina

A medição da função ventilatória basal e a monitorização da resposta à metacolina através do FEV₁ foram feitas com o pneumotacógrafo COMPACT VITALOGRAPH. Em cada fase do teste seleccionou-se, de acordo com os critérios da ATS, a melhor de três manobras de expiração forçada reprodutíveis (que não diferissem entre si por mais de 5%).

Teste de provocação pelo método do dosímetro

Administraram-se 9 doses crescentes de cloridrato de metacolina (0.097 a 30.08µmol) através de um dosímetro MEFAR MB3 (débito aéreo do compressor

8 l/min, pressão do compressor 20 psi). Usaram-se 8 nebulizadores MEFAR MB2 com débito médio de aerossol de 30.6 µl/5 nebulizações.

O aerossol foi inalado através de uma peça bucal adaptada ao nebulizador e com mola nasal colocada. O doente expirava lentamente até ao Volume Residual (RV) antes de cada nebulização e executava (através

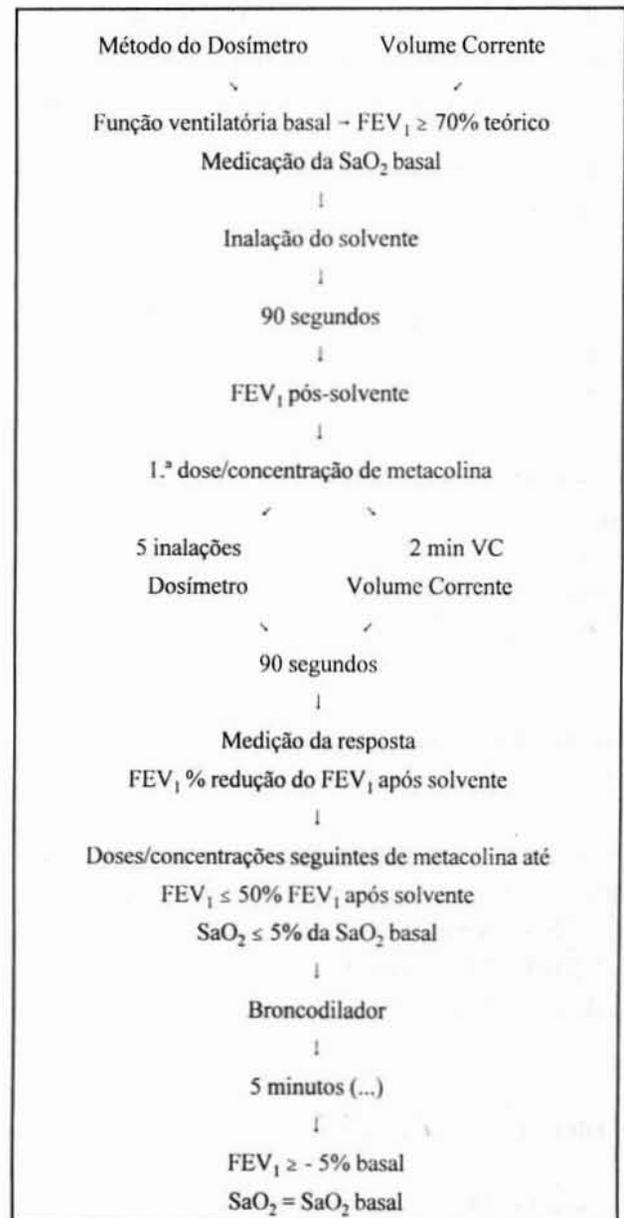


Fig. 4 – Representação esquemática dos protocolos dos testes de provocação pelos métodos do dosímetro e do volume corrente

do nebulizador) uma manobra inspiratória até à Capacidade Pulmonar Total (TLC), durante 2 segundos, sem apneia. Esta manobra repetiu-se 5 vezes para o solvente e para cada concentração de metacolina. A prova iniciava-se pela inalação do solvente da metacolina, sendo interrompida se se observasse uma redução do FEV₁ superior a 10% do valor teórico. Os aerossóis de metacolina foram administrados em doses crescentes com 3 minutos de intervalo, monitorizando-se a resposta 90 segundos após cada nebulização (Fig. 4).

Teste de provocação pelo método do volume corrente

Usou-se um compressor de ar PULMO-AIDE DEVILBISS 561 (débito aéreo do compressor 6 l/min e pressão do compressor > 11 psi) ligado a nebulizadores MEFAR MB2. O débito médio de aerossol gerado por este sistema era de 0.164 ml/min. O solvente e as concentrações crescentes de metacolina (0.03 a 64 mg/ml) foram inalados através de uma peça bucal e com mola nasal colocada, durante dois minutos. A monitorização da resposta foi feita segundo o procedimento descrito no método do dosímetro (Fig. 4).

Monitorização da saturação de hemoglobina em oxigénio

Mediu-se a saturação da hemoglobina em oxigénio em condições basais e 90 segundos após a inalação de cada dose de metacolina através de um oxímetro de pulso BIOCHEM, modelo 3040, que foi colocado no dedo indicador.

CrITÉRIOS de conclusão dos testes

Foram critérios de conclusão dos testes com o dosímetro e com o volume corrente: 1) redução de FEV₁ igual ou superior a 50% em relação ao valor medido após a inalação do solvente; 2) variação do

FEV₁ entre duas doses sucessivas inferior ou igual a 5%; 3) administração da última dose; 4) reduções da saturação da hemoglobina iguais ou inferiores a 5% do valor basal; 5) intolerância do doente.

Método de cálculo do PD₂₀ FEV₁ e PC₂₀ FEV₁

A dose e a concentração provocadoras de uma redução de 20% do FEV₁ foram calculadas pela fórmula proposta pela ERS⁶.

$$PC_{20}/PD_{20} = \text{antilog} [\log X_1 + (\log X_2 - \log X_1) \times (20 - R_1)] / (R_2 - R_1)$$

Onde:

X₁ - penúltima concentração/dose administrada (% redução FEV₁ < 20%)

X₂ - última concentração administrada (% redução FEV₁ ≥ 20%)

R₁ - % de redução do FEV₁ após X₁

R₂ - % de redução do FEV₁ após X₂

Métodos de cálculo do declive da curva de dose-resposta

O declive da curva de obstrução máxima foi calculada por regressão linear (método dos mínimos quadrados) no programa Microcal Origin versão 3.5, a partir da curva de dose-resposta, após transformação logarítmica da dose e representação da FEV₁ em % de redução do valor medido após solvente e em valor absoluto (l) incluindo: 1) todos os pontos da curva; 2) os pontos a partir da dose que precede o limiar de resposta (redução de 20%) do FEV₁; 3) os pontos a partir da dose que precede o início da resposta (redução de 5% do FEV₁ - Fig. 5). Utilizou-se o mesmo procedimento para o cálculo do declive da curva parcial de dose-resposta, considerando que se tratava de uma prova feita em contexto clínico ou epidemiológico, isto é, apenas foram incluídos pontos até se observar uma redução igual ou superior a 20% do valor medido após a inalação do solvente.

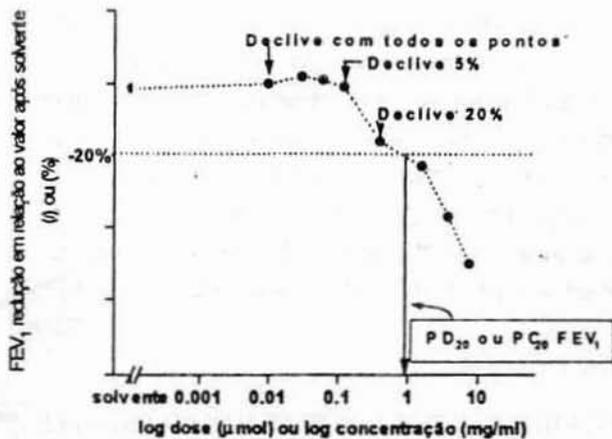


Fig. 5 - Curva de dose-resposta em escala semi-logarítmica. Representação dos pontos a partir dos quais se fez o cálculo do declive. Declive 5%: a partir de uma redução de 5% do FEV₁ em relação ao valor após solvente; ponto 20% a partir do ponto que precede o limiar de resposta significativa - 20% redução do FEV₁ em relação ao valor após solvente.

Calculou-se também o declive através da fórmula proposta por O'CONNOR¹⁵:

$$\frac{\% \text{ redução do FEV}_1 \text{ após solvente} \div \text{última dose ou concentração } (\mu\text{mol ou mg/ml})}{e} \times \frac{[\text{FEV}_1 (l) \text{ após última dose} - \text{FEV}_1 (l) \text{ após solvente}] \div \text{última dose ou concentração } (\mu\text{mol ou mg/ml})}{e}$$

Métodos de cálculo do grau de obstrução máxima

O valor da obstrução máxima (*plateau*) corresponde à média de pelo menos dois valores do FEV₁ (em % de redução do FEV₁ medido após solvente) que não difiram entre si por mais de 5%, após a administração de doses consecutivas de metacolina. Nos casos em que não se observou *plateau*, considerou-se como *redução máxima do FEV₁* o valor medido após a administração da última dose ou concentração de metacolina.

ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os indicadores de *susceptibilidade* brônquica não têm uma distribuição normal na população, pelo que se procedeu sempre à transformação logarítmica (logaritmo de base 10) dos resultados para o tratamento estatístico, uma vez que a atribuição de um nível de significância *p* é feito tendo por base uma distribuição normal. Foi necessário usar o módulo dos declives, porque o valor original negativo não permitia a transformação logarítmica. Após a análise estatística os resultados foram reconvertidos para os valores originais.

Determinação da reprodutibilidade do PD₂₀/PC₂₀FEV₁

Considerou-se que dois testes eram reprodutíveis se os PD₂₀/PC₂₀ FEV₁ não diferissem entre si por mais ou menos uma dose dupla, o que corresponde a um intervalo de variação de + 50% a - 100%.

Determinação da reprodutibilidade dos declives

Uma vez que não estão estabelecidos os limites de reprodutibilidade para o declive da curva de dose-resposta, consideraram-se reprodutíveis valores que não fossem significativamente diferentes de zero nos dois dias de teste. A comparação foi feita através do teste de Wilcoxon *sinais*, considerando-se que os resultados eram significativamente diferentes se *p* fosse inferior a 0.05.

Comparação dos declives calculados por regressão linear com todos os pontos da curva de dose-resposta, a partir do ponto em que se observa uma redução de 5% do FEV₁, a partir do ponto que precede o limiar de resposta significativa (redução de 20% do FEV₁) e pela fórmula de O'CONNOR

A comparação dos declives calculados pelos

diferentes métodos foi feita por análise de variância não paramétrica, teste de Friedman, seguida do teste de Wilcoxon *sinais* que permitiu esclarecer quais os grupos responsáveis por eventuais diferenças significativas encontradas pela análise de variância. Considerou-se existirem diferenças significativas sempre que o valor de p foi inferior a 0.05.

Comparação dos indicadores de susceptibilidade brônquica aumentada, determinados pelos métodos do dosímetro e do volume corrente

Para que fosse possível comparar os resultados dos dois métodos, foi necessário exprimi-los nas mesmas unidades; assim, todos os cálculos referentes ao método do dosímetro foram feitos com base nas concentrações de metacolina administradas, já que o

cálculo da dose inalada pelo método do volume corrente só poderia ser feita por aproximação.

A análise dos declives fez-se pelo teste de Wilcoxon *sinais* considerando-se as diferenças significativas sempre que p foi inferior a 0.05. Considerou-se que os $PC_{20} FEV_1$ medidos pelos dois métodos eram diferentes se a percentagem de variação estivesse fora dos limites de reprodutibilidade do teste: + 50% a - 100%.

RESULTADOS

DISTRIBUIÇÃO DOS DOENTES NAS DIFERENTES FASES DO PROTOCOLO

Foram estudados 20 doentes, 4 do sexo feminino (F) e 16 do sexo masculino (M), com idades compreendidas entre os 8 e os 17 anos. A caracterização da população e a distribuição dos doentes pelos dias de teste é apresentada na Tabela 3.

TABELA 3

Distribuição dos doentes pelos diferentes dias de teste

Caso	Idade (anos)	Sexo	Gravidade da Asma (grau)	Dosímetro Teste 1	Dosímetro Teste 2	Volume corrente Teste 1	Volume Corrente Teste 2
2	9	M	3	X	X		
4	9	M	1	X	X		
6	17	M	1	X	X		
20	13	M	2	X	X		
21	14	F	2	X	X		
22	15	M	3	X	X		
1	11	M	3			X	X
3	13	M	1			X	X
5	11	M	2			X	X
10	8	M	3			X	X
16	17	F	2	X		X	X
8	11	M	2	X		X	Excluído ²
9	14	F	1	X		X	
11	10	M	2	X		X	
12	13	M	3	X		X	
18	9	M	3	X	Excluído ³	X	Excluído ¹
24	9	M	1	X	Excluído ¹	X	Excluído ³
17	12	F	2	X		Excluído ²	
27	17	M	3	X		Excluído ²	
28	17	M	2	X		Excluído ¹	
Total				16	6	11	5

¹ Exclusão por diferenças entre os FEV_1 basais > 10%; ² Exclusão por IVAS; ³ Exclusão por crise de asma entre os dois dias de teste.

Excluíram-se testes de 8 doentes, três por não terem função ventilatória basal reprodutível, três por infecção das vias aéreas superiores (IVAS) e dois por crise de dificuldade respiratória entre dois dias de teste.

1. MÉTODO DO DOSÍMETRO

1.1 Reprodutibilidade do PD₂₀ FEV₁

Estudaram-se seis crianças, entre os 9 e os 17 anos, duas com asma ligeira, duas com asma moderada e três com asma grave. Os valores individuais do FEV₁ basal foram, em todos os casos (Tabela 4), superiores a 70% do valor teórico e as diferenças entre os valores medidos nos dois dias de teste variaram entre 1% e 6%.

Não se observaram diferenças significativas entre os PD₂₀ FEV₁ medidos nos dois dias de teste (média

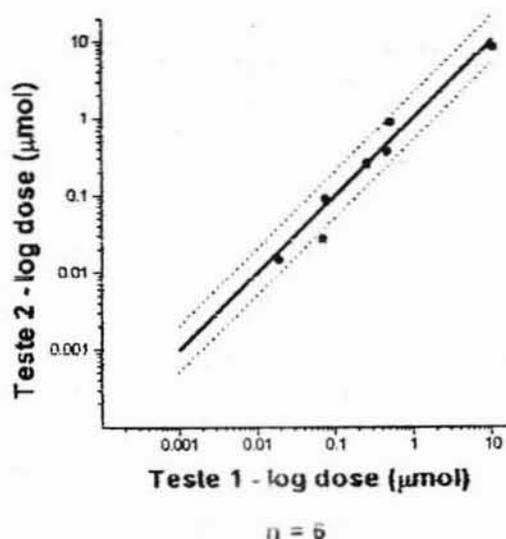


Fig. 6 – Reprodutibilidade do PD₂₀ FEV₁. Representação da linha de identidade (a cheio) e do intervalo de mais ou menos o dobro da dose (entre as linhas a tracejado). Todos os casos (•) excepto um se encontram dentro dos limites de reprodutibilidade.

Tabela 4

Caracterização da população (n=6) e valores individuais do FEV₁ e PD₂₀FEV₁ nos dois dias de teste

Caso	Sexo	Idade (anos)	Grav. Asma	FEV ₁ (% teórico)		PD ₂₀ FEV ₁ (µmol)	
				Teste 1	Teste 2	Teste 1	Teste 2
2	M	9	3	106	103	0.46	0.36
4	M	9	1	96	102	0.25	0.25
6	M	17	1	115	111	10.30	7.98
20	F	13	2	71	72	0.07	0.03
21	M	14	2	109	108	0.07	0.09
22	F	15	3	88	82	0.50	0.86
Média (dp)		12.6 (2.3)		97.5 (16.20)	96.3 (15.70)	1.94 (4.09)	1.60 (3.14)

das diferenças 0.29 ± 0.90 µmol, p = NS). A percentagem média de variação foi de 27 ± 19.5% o que significa, tal como está representado na Figura 6, que os valores obtidos neste grupo não diferiram entre si por mais ou menos o dobro da dose (Tabela 4).

1.2 Reprodutibilidade do declive da curva de dose-resposta

A evolução da resposta à metacolina foi, em todos os casos, semelhante nos dois dias de teste (Fig. 7).

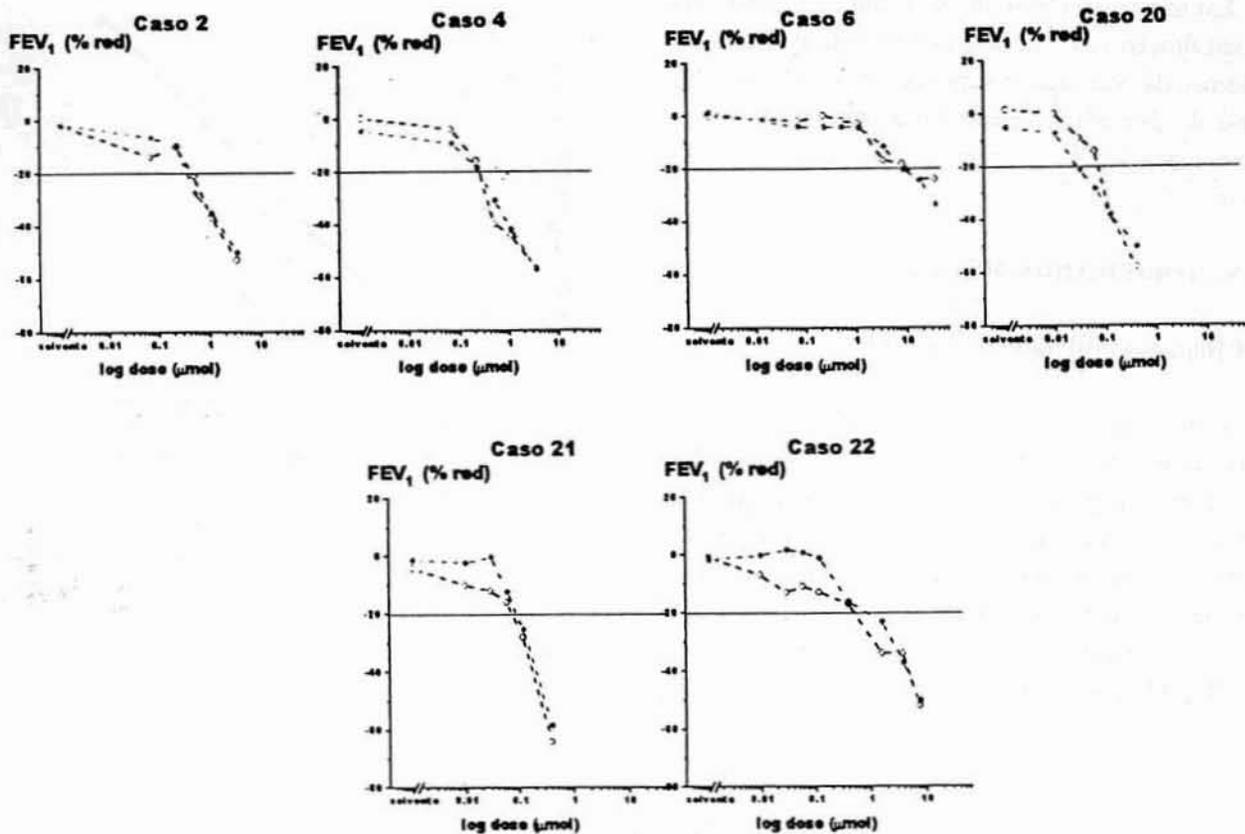


Fig. 7 – Representação individual das curvas de dose-resposta (n = 6), nos dois dias de teste (o - Teste 1 • - Teste 2).

TABELA 5

Valores individuais dos declives calculados pelos diferentes métodos (n=6)

Caso	Todos os pontos $FEV_1 \text{ lx } \mu\text{mol}^{-1}$		Ponto 20% $FEV_1 \text{ lx } \mu\text{mol}^{-1}$		Ponto 5% $FEV_1 \text{ lx } \mu\text{mol}^{-1}$		Fórmula de O'CONNOR $FEV_1 \text{ lx } \mu\text{mol}^{-1}$		Até 20% $FEV_1 \text{ lx } \mu\text{mol}^{-1}$	
	Teste 1	Teste 2	Teste 1	Teste 2	Teste 1	Teste 2	Teste 1	Teste 2	Teste 1	Teste 2
2	-0.29	-0.28	-0.29	-0.24	-0.29	-0.28	-0.27	-0.30	-0.46	-1.19
4	-0.39	-0.39	-0.29	-0.33	-0.39	-0.39	-0.51	-0.52	-2.54	-1.54
6	-0.03	-0.04	-0.01	-0.03	-0.01	-0.03	-0.03	-0.04	-0.55	-0.09
20	-2.64	-1.63	-2.13	-1.63	-2.64	-1.63	-2.76	-2.27	-6.33	-12.70
21	-4.26	-4.57	-4.21	-4.10	-4.26	-4.54	-4.86	-4.55	-5.00	-7.10
22	-0.17	-0.20	-0.13	-0.14	-0.17	-0.14	-0.22	-0.19	-0.49	-0.45
<i>Méd. dif.</i>	-0.11		-0.10		-0.11		-0.13		-1.28	
<i>(dp) p</i>	(0.46)		(0.20)		(0.45)		(0.22)		(1.01)	
	NS		NS		NS		NS		NS	

Med. dif. - média das diferenças

Não se encontraram diferenças significativas (teste de Wilcoxon $p = NS$) entre os declives das curvas de dose-resposta calculados nos dois dias, quer em valor absoluto quer em percentagem de redução do FEV₁ medido após inalação do solvente: com *todos os pontos* da curva (média das diferenças $-7.08 \pm 21.2\%$ redução FEV₁, $\times \mu\text{mol}^{-1}$); a partir de 5% de redução do FEV₁ após solvente (média das diferenças $-6.9 \pm 21.3\%$ redução FEV₁, $\times \mu\text{mol}^{-1}$); a partir do ponto que precede 20% de redução do FEV₁ após solvente ($-5.10 \pm 9.28\%$ redução FEV₁, $\times \mu\text{mol}^{-1}$); e pela fórmula de O'CONNOR ($-6.16 \pm 9.27\%$ redução FEV₁, $\times \mu\text{mol}^{-1}$). Os valores individuais dos declives em valor absoluto (FEV₁ l $\times \mu\text{mol}^{-1}$) são apresentados na Tabela 5.

Verificou-se ainda que a reprodutibilidade do declive calculado por regressão linear era independente do ponto que se considerou como início da resposta, já que quer a média das diferenças (Tabela 5), quer a distribuição em relação à linha de identidade (Fig. 8) foi semelhante nos três métodos e que as maiores diferenças se observaram entre os declives medidos nas curvas parciais (até 20% de redução do FEV₁).

1.3. Obstrução máxima (redução máxima do FEV₁)

Seis dos casos estudados atingiram reduções do FEV₁ (% redução após solvente) superiores ou iguais a 50% (-50% a -64%) em ambos os dias de teste. No Caso 6, a redução máxima do FEV₁ após a inalação da última dose de metacolina foi inferior a 50% (Tabela 6) tendo-se observado existência de *plateau* no primeiro dia de teste (Fig. 7).

Não se observaram diferenças significativas (média das diferenças: $0.37 \pm 7.80\%$; Wilcoxon sinais: $p = NS$) no grau de redução máxima do FEV₁ induzida nos dois dias de teste.

2. MÉTODO DO VOLUME CORRENTE

2.1. Reprodutibilidade do PC₂₀ FEV₁

Estudaram-se cinco crianças com idades compreendidas entre os 8 e os 17 anos, o FEV₁ basal medido nos dois dias foi, em todos os casos, superior a 70%

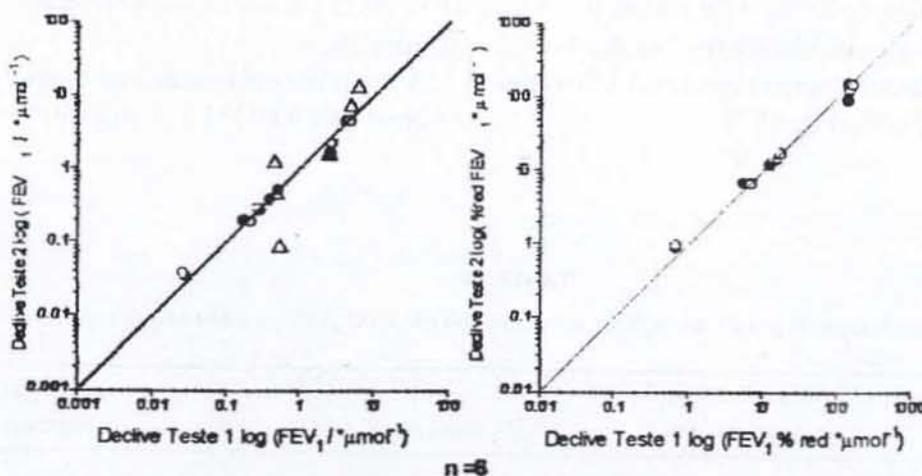


Fig. 8 – Representação da relação dos declives da curva de dose-resposta calculados por regressão linear (*), dos calculados através da fórmula de O'CONNOR (o) e na curva parcial de dose-resposta (Δ) com a linha de identidade. A distribuição dos valores calculados por regressão linear em relação à linha de identidade foi igual, independentemente do ponto considerado como início da resposta. No gráfico da esquerda estão representados os declives em valor absoluto do FEV₁; à direita em % de redução em relação ao valor medido após solvente.

TABELA 6

Redução máxima do FEV₁ nos dois dias de teste

Caso	Teste 1		Teste 2	
	Redução máxima do FEV ₁ (% red)	n.º de pontos no plateau	Redução máxima do FEV ₁ (% red)	n.º de pontos no plateau
2	-53	-	-50	-
4	-57	-	-57	-
6	-24*	2	-33	-
20	-58	-	-50	-
21	-64	-	-58	-
22	-52	-	-50	-
<i>Média (dp)</i>	<i>51.3 (12.8)</i>		<i>51.7 (9.8)</i>	

(*) - único caso em que se verificou uma variação $\leq 5\%$ entre 2 FEV₁ consecutivos. O valor apresentado corresponde à média das percentagens de redução após solvente nos dois últimos pontos da curva de dose-resposta.

do valor teórico (Tabela 7) e a diferença entre os valores medidos em cada um dos dias de teste não ultrapassou 7% (1% - 7%).

Não se observaram diferenças significativas entre os PC₂₀ FEV₁, medidos com uma semana de intervalo (média das diferenças: 0.50 ± 1.16 mg/ml, $p = NS$), apesar de haver um caso claramente fora dos limites de reprodutibilidade. A percentagem média de variação foi de $44 \pm 23.5\%$ (Fig. 9).

2.2 Reprodutibilidade do declive das curvas de dose-resposta

As curvas de dose-resposta dos cinco casos estão representadas na Figura 10. A evolução da redução do FEV₁ isto é, a forma da curva foi semelhante nos dois dias de teste.

A média das diferenças entre os dois dias de teste, foi de -0.29 ± 0.80 l FEV₁ x (mg/ml)⁻¹ e -15.1 ± 43.9

TABELA 7

Caracterização da população e valores individuais do FEV₁ e PC₂₀ FEV₁ nos dois dias de teste

Caso	Sexo	Idade (anos)	Grav. Asma	FEV ₁ % teórico		PC ₂₀ FEV ₁ mg/ml	
				Teste 1	Teste 2	Teste 1	Teste 2
1	M	11	3	86	85	0.64	0.06
3	M	13	1	95	99	1.17	3.88
5	M	11	2	86	89	0.55	1.04
10	M	8	3	106	107	0.03	0.07
16	F	17	2	114	107	0.33	0.19
<i>Média (DP)</i>		<i>12.0 (3.3)</i>		<i>97.4 (12.4)</i>	<i>97.4 (10.1)</i>	<i>0.54 (0.42)</i>	<i>1.05 (1.64)</i>

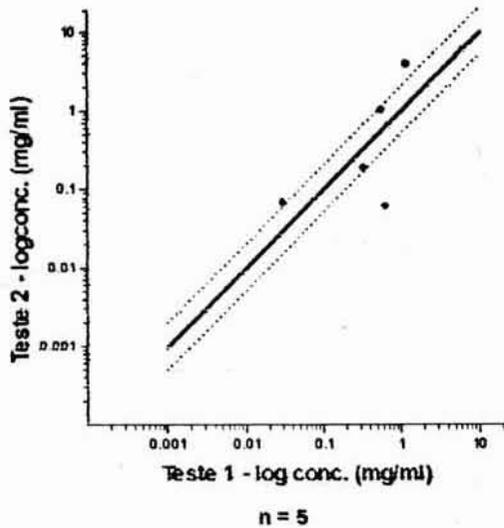


Fig. 9 – Reprodutibilidade do $PC_{20}FEV_1$. Representação da linha de identidade (a cheio) e do intervalo de mais ou menos o dobro da dose (entre as linhas a tracejado). Todos casos (*), excepto um, estão dentro dos limites de reprodutibilidade do teste.

$\% FEV_1 \times (mg/ml)^{-1}$ para os declives com todos os pontos e a partir de 5% de redução do FEV_1 de 0.29 ± 0.81 l $FEV_1 \times (mg/ml)^{-1}$ e $-15.4 \pm 44.3\%$ $FEV_1 \times (mg/ml)^{-1}$ entre os declives calculados a partir do ponto que precede 20% de redução do FEV_1 . A diferença entre os valores calculados pela fórmula de O'CONNOR foi superior, -1.12 ± 3.70 l $FEV_1 \times (mg/ml)^{-1}$ e $-17.9 \pm 52.5\%$ $FEV_1 \times (mg/ml)$, (Figura 11). Em nenhum dos casos as diferenças entre as duas medições repetidas tiveram significado estatístico (teste de Wilcoxon, $p = NS$).

2.3. Obstrução máxima (redução máxima do FEV_1)

Dois doentes atingiram reduções de FEV_1 superiores a 50% (57% a 70%). Dos outros, num observou-se *plateau* nos dois dias de teste e em dois apenas se observou *plateau* num dos testes (Tabela 8).

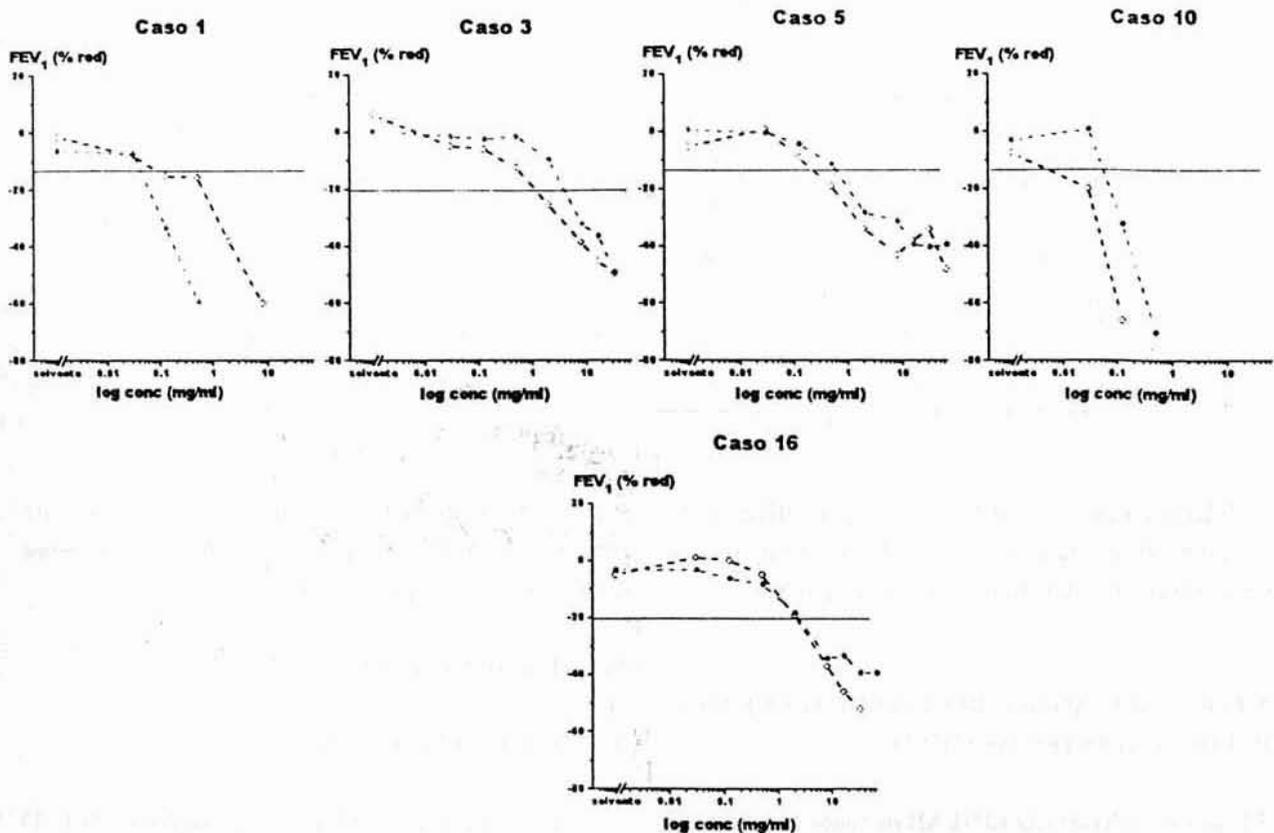


Fig. 10 – Representação individual das curvas de dose-resposta ($n = 5$), nos dois dias de teste (o - Teste 1 • - Teste 2).

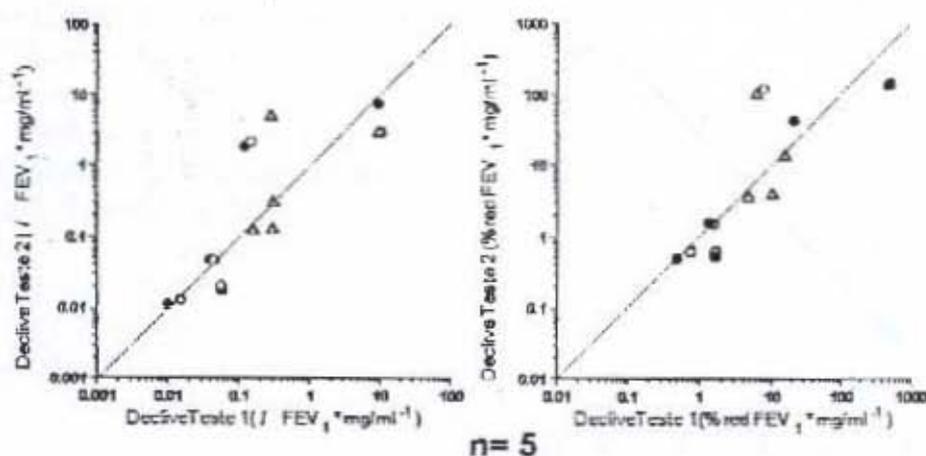


Fig. 11 - Representação da relação dos declives da curva de dose-resposta calculados por regressão linear (*), dos calculados através da fórmula de O'CONNOR (o) e na curva parcial de dose-resposta (Δ) com a linha de identidade. A distribuição dos valores calculados por regressão linear em relação à linha de identidade foi igual, independentemente do ponto considerado como início da resposta.

TABELA 8

Redução máxima do FEV₁ nos dois dias de teste

Caso	Teste 1		Teste 2	
	Redução máxima do FEV ₁ (% red)	n.º de pontos no plateau	Redução máxima do FEV ₁ (% red)	n.º de pontos no plateau
1	60	-	-57	-
3	-47*	2	-44*	2
5	-48	-	-39*	3
10	-66	-	-70	-
16	-52	-	-39*	2
Média (dp)	-55 (8.1)		-49 (14.5)	

* curvas em que houve plateau

Não se encontraram diferenças significativas entre os valores da redução máxima do FEV₁, induzida nos dois dias (média das diferenças: 5.4% \pm 6.8%).

3. COMPARAÇÃO DOS DECLIVES CALCULADOS PELOS SEGUINTES MÉTODOS:

3.1. por REGRESSÃO LINEAR de todos os pontos da curva de dose resposta, a partir do ponto que precede

5% de redução do FEV₁, a partir do ponto que precede 20% de redução do FEV₁, com todos os pontos até uma redução igual ou superior a 20%; e

3.2. pela FÓRMULA DE O'CONNOR

A - Método do Dosímetro

Calcularam-se, em 16 casos, os declives por: 1) regressão linear de: a) todos os pontos da curva de

dose-resposta; b) a partir do ponto que precede uma redução de 5% do FEV₁; c) a partir do ponto que precede 20% de redução do FEV₁; e 2) pela fórmula de O'CONNOR. Excluíram-se 3 casos em que o número de pontos a partir dos quais se determinaram os declives a partir de 5% e de 20% de redução do FEV₁, era coincidente. Os valores dos declives calculados com base em *todos os pontos* da curva foram significativamente inferiores aos obtidos quando o cálculo foi feito quer a partir do ponto que precede 5% de redução do FEV₁ (média das diferenças = -0.74% redução FEV₁ x μmol^{-1}) quer a partir do ponto que precede 20% de redução do FEV₁ (média das diferenças = -3.45% FEV₁ x μmol^{-1}). Os valores determinadas pela fórmula de O'CONNOR foram sempre superiores (mais negativos) aos que se obtiveram por regressão linear qualquer que fosse o número de pontos considerados (Tabela 9).

Os declives determinados considerando que a prova terminava com uma redução do FEV₁ igual ou superior a 20% do valor após solvente, foram superiores (mais negativos) em cerca de 30% de redução

FEV₁, x μmol^{-1} aos que se obtiveram quando o cálculo foi feito em curvas de obstrução máxima, independentemente do ponto considerado como início da resposta.

As diferenças observadas entre os declives determinados pelos diferentes métodos atingiram significado estatístico: teste de Friedman $p = 8 \times 10^{-10}$. A análise das diferenças entre pares pelo teste de Wilcoxon $p = 0.002$ demonstrou que o resultado da análise de variância se deveria a diferenças significativas entre **todos** os métodos de cálculo.

B. Método do Volume Corrente

Calcularam-se os declives por regressão linear nas diferentes fases da curva de obstrução máxima e considerando todos os pontos até se atingir uma redução do FEV₁ igual ou superior a 20% e pela fórmula de O'CONNOR, em 9 casos. Excluíram-se dois casos em que o número de pontos a partir dos quais se calculou o declive com *todos os pontos* e a partir de 5% de redução do FEV₁ os declives eram

TABELA 9

Média das diferenças (1 - 2) entre os valores dos declives calculados pelos diferentes métodos (n=13)

Declive (% red FEV ₁ x μmol^{-1})	Todos os pontos (1)	Ponto 5% (1)	Ponto 20% (1)
Ponto 5% (2)	-0.74 (\pm 0.71)*		
Ponto 20% (2)	-3.45 (\pm 5.18)*	-2.67 (\pm 5.00)*	
Fórmula de O'CONNOR (2)	1.02 (\pm 2.00)*	1.54 (\pm 2.20)*	4.20 (\pm 4.73)*
Até 20% (2)	29.50 (\pm 32.00)*	29.98 (\pm 32.10)*	32.7 (\pm 36.50)*

* $p = 0.002$

TABELA 10

Média das diferenças entre os valores dos declives calculados pelos diferentes métodos (n=9)

Declive (% red FEV x (mg/ml) ⁻¹)	Todos os pontos	Ponto 5%	Ponto 20%
Ponto 5%	-0.15 (\pm 0.09)*		
Ponto 20%	-0.49 (\pm 0.51)*	-0.23 (\pm 0.16)*	
Fórmula de O'Connor	0.49 (\pm 0.51)*	0.99 (\pm 1.02)*	0.98 (\pm 0.78)*
Até 20%	10.66 (\pm 4.31)*	11.05 (\pm 5.30)*	11.14 (\pm 3.96)*

* $p - 0.009$

iguais As médias das diferenças entre os declives calculados pelos diferentes métodos são apresentadas na Tabela 10.

Os declives calculados pelos diferentes métodos diferiram significativamente entre si (teste de Friedman $p = 5.88 \times 10^{-6}$, teste de Wilcoxon $p = 0.009$). A menor diferença encontrada foi entre os declives calculados com todos os pontos da curva e a partir do ponto que precede uma redução de 5% do FEV₁ (-0.15% redução FEV₁ x (mg/ml)⁻¹) e a maior diferença entre o declive calculado até uma redução do FEV₁ igual ou superior a 20% do valor medido após a inalação do solvente e todos os outros (média das diferenças de 10.7% a 11.1% redução FEV₁ x (mg/ml)⁻¹).

4. COMPARAÇÃO DO MÉTODO DO DOSÍMETRO COM O MÉTODO DO VOLUME CORRENTE

Incluíram-se na comparação de métodos 7 doentes, 5 do sexo masculino e 2 do sexo feminino, com idades compreendidas entre os 9 e os 17 anos; todos apresentaram função ventilatória basal normal nos dois dias de teste (Tabela 11), não se observando diferenças superiores a 10% entre os FEV₁, basais (diferença máxima 7%, caso 18).

Os PC₂₀ FEV₁ medidos pelos dois métodos foram significativamente diferentes ($p=0.034$), com uma percentagem média de variação de 77%, estando assim fora do intervalo de +50% a - 100%, dentro do qual se poderia considerar que os dois testes tinham resultados semelhantes (Fig. 12).

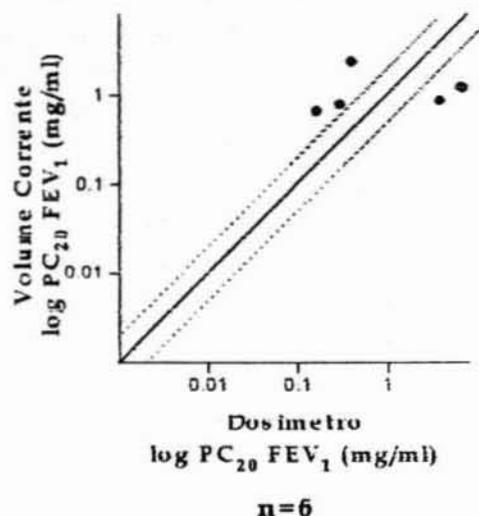


Fig. 12 – Comparação dos PC₂₀FEV₁ obtidos pelos métodos do Dosímetro e do Volume Corrente. Todos os casos (•) estão fora do intervalo de mais ou menos uma dose (linhas a tracejado).

TABELA 11

Caracterização da população e valores individuais do PC₂₀FEV₁, PD₂₀FEV₁ e FEV₁ basal nos dois dias de teste (n = 7)

Caso	Sexo	Idade	Grav Asma	FEV ₁ (% teor)		PC (mg/ml)	
				Dosímetro	Volume Corrente	Dosímetro	Volume Corrente
8	M	11	2	111	117	Negativo	Negativo
9	F	14	1	105	110	6.80	1.20
11	M	10	2	71	70	0.29	0.79
12	M	13	3	87	85	0.16	0.66
16	F	17	2	108	107	0.39	2.38
18	M	9	3	97	90	3.76	0.87
24	M	9	1	96	101	6.40	1.23
Média (DP)		12.0 (2.8)		93.4 (15.5)	94 (17.6)	Med. dif = 2.78	

Med. dif. - Média das diferenças

4.1. Comparação dos declives

As médias das diferenças dos declives encontradas entre os dois métodos foram, em todos os casos, inferiores às que se observaram dentro do mesmo método (5.1 a 7.08% redução FEV₁ x (mg/ml)⁻¹ no método do dosímetro e 15.1 a 17.9% redução FEV₁ x (mg/ml)⁻¹ no método do volume corrente - Tabela 12).

foi possível induzir obstrução máxima (*plateau*) com ambos os métodos. Nestes dois casos, o número de pontos da curva de dose-resposta incluídos no *plateau* no teste do volume corrente (n=4) foi superior ao observado no teste do dosímetro. Não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre os graus de redução máxima do FEV₁ induzidos nas duas provas.

TABELA 12
Comparação dos declives obtidos pelos métodos do dosímetro e volume corrente

Caso	Todos os pontos % red FEV ₁ x (mg/ml) ⁻¹		Ponto 5% % red FEV ₁ x (mg/ml) ⁻¹		Ponto 20% % red FEV ₁ x (mg/ml) ⁻¹		Fórmula de O'CONNOR % red FEV ₁ x (mg/ml) ⁻¹		Até 20% % red FEV ₁ x (mg/ml) ⁻¹	
	Dosímetro	Volume Corrente	Dosímetro	Volume Corrente	Dosímetro	Volume Corrente	Dosímetro	Volume Corrente	Dosímetro	Volume Corrente
8	0.14	0.26	0.19	0.20			0.37	0.23		
9	0.34	0.66	0.24	0.57	0.19	0.44	2.80	0.75	0.54	14.80
11	0.80	3.49	0.55	3.18	0.55	2.68	1.69	3.81	12.10	14.80
12	6.70	6.08	5.76	5.46	4.38	4.71	13.50	6.88	25.26	14.46
16	2.96	3.64	2.85	3.24	2.42	2.67	6.25	1.22	9.60	3.64
18	0.64	1.41	0.63	1.24	0.57	0.91	1.44	1.53	0.79	17.66
24	1.28	4.31	1.21	3.86	1.58	3.48	1.65	4.88	1.28	11.78
Méd. dif (d.p)	-1.00 (1.25)		-0.90 (1.13)		-0.87 (0.82)		-1.20 (3.34)		-4.59 (10.25)	
p	NS		NS		NS		NS		NS	

Assim, não se encontraram diferenças estatisticamente significativas entre os dois métodos (teste de Wilcoxon, p=NS), em relação à percentagem de redução da FEV₁ induzida por unidade concentração de metacolina administrada (Fig. 13).

4.2 Comparação da obstrução máxima/redução máxima do FEV₁

Observou-se *plateau* em quatro casos com o método do volume corrente e em três casos com o método do dosímetro (Tabela 13). Só nos casos 8 e 24

5. SATURAÇÃO DA HEMOGLOBINA (SaO₂) DURANTE AS PROVAS DE OBSTRUÇÃO MÁXIMA

Monitorizou-se a saturação da hemoglobina, num dos dias de teste, em todos os casos que foram incluídos na comparação de métodos (n = 7). Não se observaram diferenças significativas entre os valores médios da SaO₂ basal (96.7 ± 1.3%) e da SaO₂ medida 3 minutos após a inalação da última dose de metacolina (92.6 ± 2.4%), durante a prova com o dosímetro. O mesmo se observou na prova com o volume corrente (SaO₂ basal: 97.6 ± 1.3%; SaO₂ no final de prova: 92.6 ± 2.4%).

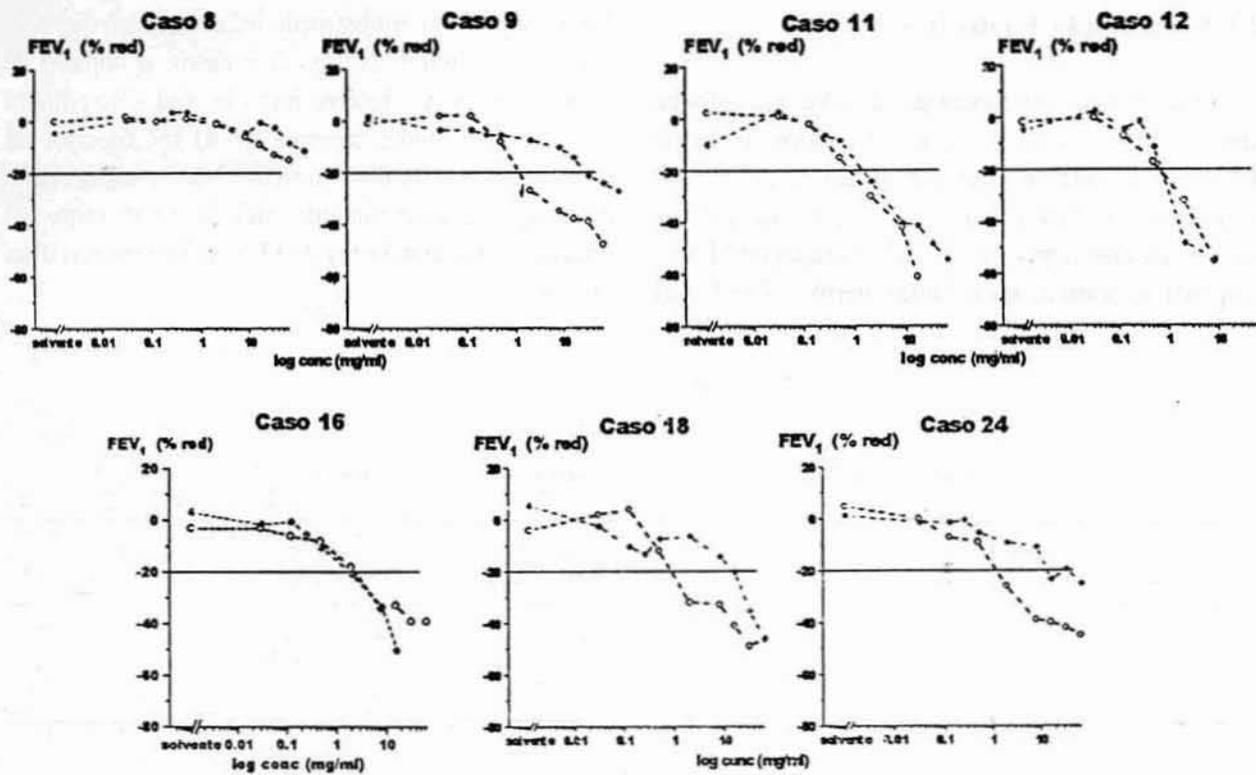


Fig. 13 - Curvas de dose-resposta (n=7) obtidas pelos métodos do Dosímetro (+) e do Volume Corrente (o); para que os dois métodos pudessem ser comparados os resultados do método do Dosímetro foram apresentados em mg/ml.

TABELA 13

Comparação do grau de redução/obstrução máxima do FEV₁ - métodos do Dosímetro e do Volume Corrente

Caso	Dosímetro		Volume corrente	
	Redução máxima do FEV ₁ (% red)	n.º de pontos no plateau	Redução máxima do FEV ₁ (% red)	n.º de pontos no plateau
8	-10*	2	-10*	4
9	-24*	3	-48	-
11	-54	-	-61	-
12	-54	-	-55	-
16	-50	-	-39*	2
18	-46	-	-48*	2
24	-22*	3	-42	4
Média (dp)	37.1 (18.0)		43.3 (16.4)	

(*) - casos em que se verificou uma variação ≤ 5% entre 2 ou mais FEV₁ consecutivos. Os valores assinalados correspondem à média das percentagens de redução após solvente nos dois últimos pontos da curva de dose-resposta

A redução da SaO₂ entre doses/concentrações sucessivas de metacolina não ultrapassou os 6% (entre 0 e 6%).

Em dois casos observaram-se reduções de 11% em relação ao valor basal: no caso 16 com o método do dosímetro (basal: 97%, após última dose: 88%, variação em relação à dose precedente: 6%) e no caso 18 com o método do volume corrente (basal: 97%, após última dose: 88%, variação em relação à dose precedente: 2%).

DISCUSSÃO

Realizaram-se no total 38 provas em 20 crianças asmáticas, nas quais se pretendia induzir reduções do FEV₁ ≥ 50% ao valor medido após solvente ou atingir um *plateau* na resposta das vias aéreas. Estas provas, dentro da gama de doses e concentrações administradas, foram bem toleradas pelos doentes, tendo-se observado apenas durante o teste com o volume corrente, um doente com sintomas de dificuldade respiratória, confirmados pela auscultação e acompanhados de uma dessaturação da hemoglobina de 11% em relação ao valor basal. Tratava-se de um doente com asma grave e com FEV₁ basal de 90% do valor teórico (ver Tabela 11).

Verificamos a existência de *plateau* em 8 dos 16 testes realizados pelo método do volume corrente e em 5 dos 22 testes com o método do dosímetro. Estes testes correspondiam a 11 doentes: 6 com asma ligeira, 3 com asma moderada (um deles com teste negativo) e 1 com asma grave. Estes resultados basearam-se no critério de que existia *plateau* se a diferença entre os FEV₁ medidos após duas doses de metacolina sucessivas fosse inferior a 5%. O facto de só em 3 casos se ter observado *plateau* nas duas ocasiões pode significar que é necessário prolongar a prova administrando doses/concentrações superiores de metacolina. No entanto, apenas em 2 dos testes com o volume corrente e em 2 com o dosímetro foi administrada a última dose sem que se tivesse atingido da redução máxima do FEV₁ ou o *plateau*. Todos os outros doentes apresen-

taram *obstrução brônquica excessiva* sendo, na maior parte, doentes com asma moderada e grave.

Reprodutibilidade do PD₂₀/PC₂₀ FEV₁, declives da curva de dose-resposta e do grau de redução máxima do FEV₁

Os diferentes indicadores de *susceptibilidade* brônquica medidos com uma semana de intervalo foram reprodutíveis quer com o método do dosímetro, quer com o método do volume corrente. O facto de se ter observado uma maior percentagem de variação no PC₂₀FEV₁ que no PD₂₀FEV₁, não pode ser explicado por alterações na função ventilatória basal ou no estado clínico dos doentes, já que apenas foram incluídos no estudo asmáticos estáveis e com função ventilatória basal reprodutível. Este resultado pode ser atribuído a diferenças na ventilação com o método do volume corrente, que MADSEN *et al* (35) demonstraram ser 21% em dois testes realizados com duas horas de intervalo, num grupo de asmáticos entre os 13 e os 75 anos.

As diferenças entre os declives das curvas de dose-resposta, foram também inferiores com o método do dosímetro. No entanto, as médias das diferenças entre os dois dias de teste para ambos os métodos (5.1% e 17.9% respectivamente) foram semelhantes às encontradas por WOOLCOCK *et al* (11) (2% a 18%), para o método dosimétrico abreviado (método de YAN), com histamina, no único estudo de reprodutibilidade deste parâmetro em crianças normais e asmáticas (n=393).

A fórmula usada por esta autora, foi a proposta por O'CONNOR (15), cuja reprodutibilidade foi recentemente questionada por CHINN *et al* (36) que aplicou um protocolo semelhante a 104 indivíduos, 31 dos quais com PD₂₀FEV₁ de histamina inferior a 8 µmol. Demonstrou que, neste grupo, o declive calculado por regressão linear (método dos mínimos quadrados) era reprodutível, enquanto que a relação entre os declives determinados pela fórmula simplificada em duas ocasiões era apenas ligeiramente melhor do que a que poderia ser atribuída ao acaso. Os nossos resultados

estão de acordo com os de WOOLCOCK *et al*, já que não encontramos diferenças significativas entre os declives calculados por este método em testes realizados com uma semana de intervalo e que a diferença média entre os valores determinados quer pelo método dosímetro quer pelo método do volume corrente não se afastou de forma significativa das encontradas para os declives calculados por regressão linear.

Não se observaram também diferenças significativas na redução máxima do FEV₁. No entanto, apenas se observou *plateau* nas duas ocasiões no caso 3, com o método do volume corrente. Com este método foi possível induzir obstrução máxima em mais dois casos e com o dosímetro num único caso, no primeiro dia de teste. Estes resultados podem explicar-se em parte pelo facto de quer a dose (30.08 µmol) quer a concentração máxima administradas (64 mg/ml) serem inferiores às habitualmente usadas em protocolos de obstrução máxima em asmáticos (128 a 200 mg/ml com o método do volume corrente (32,33) e de 100 µmol com um método dosimétrico (13)).

As razões pelas quais se optou por terminar os testes com dose e concentração inferiores às usadas por outros autores, devem-se a que os objectivos deste trabalho foram, para além da comparação dos declives calculados por diferentes métodos, verificar se os indicadores de *susceptibilidade* brônquica aumentada com dois métodos diferentes, dosímetro e volume corrente, eram comparáveis. O cloridrato de metacolina de que dispúnhamos tinha uma concentração máxima de 64 mg/ml, não sendo por isso possível administrar concentrações superiores a este valor com o método do volume corrente. Assim, a administração de doses mais altas pelo método dosimétrico, que se poderia obter aumentando o número de inalações, implicaria um número diferente de pontos para o cálculo do declive por ambos os métodos, e não permitiria tirar qualquer conclusão adicional sobre qual eventualmente seria o mais indicado para induzir obstrução máxima.

Comparação dos declives calculados por regressão linear nas diferentes fases da curva de dose-resposta e pela fórmula de O'CONNOR

O declive da curva de dose-resposta é de todos os indicadores de *susceptibilidade* brônquica o mais controverso tanto no que diz respeito ao seu cálculo como ao significado e mecanismos da *reactividade* brônquica, de que é sinónimo, e ainda à sua relação com a gravidade clínica da asma. Diferentes grupos usam diferentes métodos de cálculo, tornando praticamente impossível a comparação dos resultados de centro para centro. As comparações entre métodos foram, até agora, feitas entre a fórmula de O'CONNOR e a regressão linear de todos os pontos da curva de dose-resposta ou a partir de um ponto limiar. A comparação sistemática dos valores determinados pelos diferentes métodos, feita neste trabalho, demonstrou que os declives calculados nas diferentes fases da resposta brônquica à metacolina não devem ser usados indiferentemente. Tal como O'CONNOR *et al*, verificámos que os declives calculados pela fórmula simplificada eram significativamente inferiores (mais negativos) aos determinados por regressão linear, tanto pelo método do dosímetro ($p=0.002$) como pelo método do volume corrente ($p=0.009$). Na maior parte dos casos, a determinação do declive tem sido feita com base em curvas parciais de dose-resposta (o teste termina quando se atingem reduções do FEV₁ $\geq 20\%$ do valor basal ou após solvente). RIJCKEN *et al* (21), num editorial sobre o papel dos diferentes indicadores da *susceptibilidade* brônquica em estudos epidemiológicos, chamaram a atenção para o facto de que os dados que se obtêm destas provas não permitem prever qual a evolução da obstrução brônquica após se ter atingido o limiar de 20%. Os nossos resultados são concordantes com esta opinião, uma vez que, neste grupo de asmáticos, o declive calculado em curvas parciais é significativamente inferior ao medido nas mesmas curvas, considerando todos os pontos até se atingir o *plateau* ou 50% de redução do FEV₁.

Não há qualquer indicação na literatura sobre qual a fase da curva de dose-resposta que melhor caracteri-

za a *reactividade* brônquica. Pensamos, no entanto, que há factores de ordem metodológica a considerar:

1) A evolução da resposta das vias aéreas a estímulos broncoconstritores administrados *in vivo*, não segue o mesmo padrão em todos os indivíduos, podendo ser linear, exponencial, sigmóide, hiperbólica ou logarítmica (19,23). Assim, ao aplicar a fórmula simplificada ou a regressão linear, é necessário ter em conta que o resultado pode não ser representativo da forma real da curva de dose-resposta. No entanto, é possível obter um valor reprodutível do declive, o que sugere que o padrão de resposta é constante no mesmo indivíduo e que é pelo menos possível valorizar variações temporais deste parâmetro.

2) O cálculo do declive é feito a partir de um número muito reduzido de pontos, sendo o valor obtido o da recta que melhor se ajusta a esses pontos. A probabilidade de esse valor traduzir a real redução do calibre brônquico por unidade de dose será tanto maior quanto maior for o número de pontos analisado.

As indicações actuais da ERS, apontam apenas para o uso da fórmula de O'CONNOR, provavelmente pela simplicidade do cálculo que a torna facilmente aplicável em estudos epidemiológicos. Não fornece qualquer indicação sobre o método de regressão linear, nomeadamente sobre a fase da curva de dose-resposta onde deve ser calculado, nem sobre o significado do declive determinado em curvas parciais em comparação com o que pode ser obtido em provas de broncoconstrição máxima.

A relação entre este parâmetro e os mecanismos que determinam a *obstrução excessiva das vias aéreas* em asmáticos não é ainda conhecida. Isto não exclui o seu interesse na investigação de mecanismos fisiopatológicos, de que são exemplos os trabalhos de STERK *et al* (25) e de WOOLCOCK *et al* (11,37) que observaram diferenças nos declives determinados em testes com agentes com propriedades farmacodinâmicas diferentes (metacolina e histamina) e ainda na monitorização do efeito de fármacos (38).

Os nossos resultados demonstraram que os declives calculados até 20% de redução da FEV₁ não permitem prever a evolução da obstrução brônquica

em resposta a doses superiores de metacolina donde, com toda a imprecisão que os diferentes métodos de cálculo envolvem, pensamos que nos protocolos de investigação o declive deverá ser calculado a partir de curvas de obstrução máxima.

Comparação dos indicadores de susceptibilidade brônquica determinados pelos métodos do dosímetro e do volume corrente

Os métodos dosimétrico e do volume corrente são os recomendados para o estudo da *susceptibilidade* brônquica à metacolina e histamina. No entanto, os resultados são expressos em unidades diferentes, uma vez que com o primeiro é possível calcular a dose enquanto que no segundo apenas se conhece a concentração administrada. A necessidade de comparar dados entre grupos que usam métodos diferentes, teve como resultado o estabelecimento de equivalência entre dose e concentração, que foi feita com base nas relações entre a sensibilidade à metacolina e histamina e os sintomas de asma.

Verificou-se, neste trabalho, que o PC₂₀FEV₁ com o volume corrente era significativamente inferior ao que se obteve pelo método do dosímetro. Este resultado é concordante com o de BIRNIE *et al* (39) que verificou que o aumento de 40% da resistência das vias aéreas de crianças asmáticas, induzido pela histamina, se obtinha para concentrações mais baixas com o método do volume corrente. A razão destas diferenças entre métodos, de acordo com NEWMAN *et al* (40), pode ser devida aos diferentes padrões de inalação que determinam que a dose inalada e depositada seja diferente, bem como o local de deposição do aerossol nas vias aéreas.

A semelhança na relação entre a concentração administrada e o grau de obstrução brônquica induzido pelos dois métodos pode indicar que o declive é um parâmetro adicional de comparação de resultados de testes de provocação brônquica com metacolina quando os métodos usados entre grupos forem diferentes.

Os resultados da redução máxima do FEV₁ não foram significativamente diferentes entre métodos, dentro da gama de concentrações administradas neste protocolo. No entanto, não foi possível interpretar os resultados dos casos em que se observou *plateau* e aqueles em que houve *obstrução excessiva das vias aéreas*, uma vez que não se determinou a reprodutibilidade deste parâmetro com nenhum dos métodos. Assim, fica por responder a questão se a aparente falta de reprodutibilidade deste parâmetro e as diferenças encontradas entre os dois métodos se devem apenas a uma dose total administrada insuficiente.

Monitorização da SaO₂ durante as provas de broncoconstrição máxima

A monitorização da SaO₂ em 12 dos 14 testes realizados com o dosímetro e o volume corrente, não se reduziu mais do que 7% em relação ao valor basal, o que demonstrou não existirem repercussões significativas sobre a ventilação alveolar e sobre a difusão quando se induziram reduções do FEV₁ de 50% ou mais. A redução da SaO₂ foi gradual e inferior a 3% em 13 testes e só num caso foi de 6% em relação ao valor correspondente à dose de metacolina precedente. Nos 2 casos em que a SaO₂ desceu abaixo de 90%, as reduções máximas dos FEV₁ foram de 50% e 48%. Este último caso foi acompanhado por pieira e sibilos dispersos em ambos os campos pulmonares. A administração de 1000 µg de terbutalina provocou a reversão da saturação da hemoglobina para os valores basais ao fim de 3 minutos, em ambos os casos. Apesar da prova ter sido imediatamente interrompida estes casos foram incluídos, uma vez que num se atingiu a redução máxima do FEV₁ e no outro se observou a existência de *plateau*.

CONCLUSÕES

1. A avaliação da reprodutibilidade dos diferentes índices das curvas de dose-resposta pelos métodos do

dosímetro e do volume corrente que constituiu a primeira fase deste protocolo foi indispensável, uma vez que qualquer parâmetro biológico só pode ser interpretado se a técnica utilizada permitir obter resultados semelhantes em medições repetidas nas mesmas condições. Demonstrou-se que a *sensibilidade brônquica*, os *índices de reactividade* calculados pelos diferentes métodos e o grau de obstrução máxima ou de redução máxima do FEV₁ determinados através dos protocolos desenhados para os métodos do dosímetro e do volume corrente, foram reprodutíveis quando os testes foram realizados com uma semana de intervalo.

2. Demonstrou-se que o valor dos declives determinados por regressão linear (método dos mínimos quadrados) em curvas de obstrução máxima, depende da número de pontos incluídos no cálculo, ou seja as relações entre a dose inalada e o grau de obstrução brônquica variam significativamente nas diferentes fases da curva de obstrução máxima. Apesar dos declives calculados pelo método anterior apresentarem diferenças significativas entre si, as maiores diferenças observaram-se entre estes e os obtidos através da fórmula proposta por O'CONNOR que foram sempre mais negativos (maior inclinação). Esta fórmula simplificada, ao considerar apenas os FEV₁, correspondentes à primeira e à última dose, ignora a *evolução* da resposta das vias aéreas ao longo da prova.

Verificou-se ainda que o valor do declive determinado em curvas parciais de dose resposta (até 20% de redução do FEV₁) sobrestima de forma significativa o grau de *reactividade brônquica* em crianças asmáticas.

A simplicidade do método tem justificado a aplicação da fórmula simplificada em estudos epidemiológicos e a maior parte dos resultados baseia-se em curvas parciais de dose-resposta. Os nossos resultados demonstram que as curvas parciais de dose-resposta não permitem prever o comportamento das vias aéreas em resposta a doses progressivamente mais altas.

Assim, consideramos indispensável a padronização do método de cálculo e da fase da CDR em que deve ser determinado o declive. Sendo os diferentes métodos de cálculo reprodutíveis, pensamos que a opção

por um deles deverá ser fundamentada em critérios metodológicos (regressão, fórmula simplificada ou outro), na relação com outros índices de reactividade e com a presença e gravidade dos sintomas de asma. Consideramos ainda que os protocolos de investigação desenhados para este fim deverão basear-se nos dados de provas broncoconstrição máxima.

3. A comparação entre os declives induzidos por provas de broncoconstrição máxima com o método do dosímetro e com o método do volume corrente demonstrou que, neste grupo de crianças asmáticas, a evolução da resposta brônquica a doses crescentes de metacolina foi semelhante e independente do método de geração e inalação dos aerossóis.

Este resultado, que deve ser confirmado num maior número de casos, parece indicar que o declive (ou *índice de reactividade*) pode ser usado para comparar resultados de centros que usem métodos diferentes de administração de aerossóis de metacolina ou histamina.

4. A indução de reduções do FEV₁ da ordem dos 50% em relação ao valor medido após solvente não teve repercussões significativas sobre a ventilação alveolar ou sobre a difusão do oxigénio, uma vez que a saturação da hemoglobina não variou de forma significativa durante os testes.

A monitorização da SaO₂ permitiu continuar os testes até se atingir a redução máxima do FEV₁ na presença de sintomas ligeiros que de outra forma teriam levado à interrupção da prova.

Pensamos que a medição deste parâmetro deverá ser feita sempre que se administrem doses elevadas de metacolina, pelo menos em crianças com asma moderada ou grave.

5. Consideramos que, com os protocolos utilizados, é possível avaliar a forma da curva de dose-resposta na maior parte das crianças asmáticas, mas que é necessário aumentar a dose/concentração máximas de metacolina.

BIBLIOGRAFIA

1. DAUTREBANDE L, PHILLIPOT E - Asthmatic crisis produced by aerosols of carbamoyl-choline in man treated by aerosols of amphetamine: study of action of these substances on respiration by determination of useful respiratory volume. *Presse Med* 1941; 49: 942 referido in *Bronchial hyperresponsiveness ed Nadel JA, Pawels R, Snashal PD* 1987: 173 Blackwell Scientific Publications.
2. CHAI H, FARR RS, FROEHLICH LA, MATHISON DA, McLEAN JA, ROSENTHAL R.R., SHEFFER AL, SPECTOR SL, TOWNLEY RG - Standardization of bronchial inhalation challenge procedures. *J. Allergy Clin Immunol* 1975; 56(4): 323-327.
3. EISER NM - Report of Working Group on Bronchial Hyperreactivity. *Bull Europ Physiopathol Respir* 1981;16: 287p-288p.
4. EISER NM, KERREBIJN KF, QUANJER PhH - Guidelines for standardization of bronchial challenges with (nonspecific) bronchoconstricting agents. *Bull Europ Physiopathol Respir* 1983;19: 495-514.
5. COCKCROFT DW, KILLIAN DN, MELLON JA, HARGREAVE FE - Bronchial reactivity to inhaled histamine: a method and clinical survey. *Clin Allergy* 1977; 7: 235-243.
6. STERK PJ, FABBRI LM, QUANJER Ph H, COCKCROFT, O'BYRNE PM, ANDERSON SD, JUNIPER EF, MALO JL - Airway responsiveness. Standardized challenge testing with pharmacological, physical and sensitizing stimuli in adults. *Eur Respir Dis* 1993; 6 (Suppl): 56-86.
7. YAN K, SALOME C, WOOLCOCK AJ - Rapid method for measuring bronchial responsiveness. *Thorax* 1983; 38: 760-765
8. National Heart, Lung and Blood Institute, National Institutes of Health Bethesda, Maryland. - International consensus report on diagnosis and treatment of asthma. *Eur Respir J* 1992; 5: 601-641
9. TOELLE BG, PEAT JK, SALOME CM, MELLIS CM, WOOLCOCK AJ - Toward a definition of asthma for epidemiology. *Am Rev Respir Dis* 1992;146: 633-637.
10. RENDAS AB - Fisiopatologia da Asma. in *A criança asmática JE Rosado Pinto ed* 1995; 45-64.
11. PEAT JK, SALOME CM, BAUMAN A, TOELLE BG, WACHINGER SL, WOOLCOCK AJ - Repeatability of histamine bronchial challenge and comparability with methacholine challenge in a population of Australian school-children. *Am Rev Respir Dis* 1991;144: 338-343.

12. OREHEK J, GAYRARD P, SMITH AP, GRIMAUD C, CHARPIN J - Airway response to carbachol in normal and asthmatic subjects. Distinction between bronchial sensitivity and reactivity. *Am Rev Respir Dis* 1977;115: 937-943.
13. WOOLCOCK AJ, SALOME CM, YAN K - The shape of the dose-response curve to histamine in asthmatic and normal subjects. *Am Rev Respir Dis* 1984;130:71-75.
14. MALO JL, CARTIER A, PINEAU L, GAGNON G, MARTIN RR - Slope of dose-response curve to inhaled histamine and methacholine and PC₂₀ in subjects with symptoms of airway hyperexcitability and in normal subjects. *Am Rev Respir Dis* 1985;132: 644-647.
15. O'CONNOR G, SPARROW D, TAYLOR D, SEGAL M, WEISS S - Analysis of dose-response curves to methacholine. *Am Rev Respir Dis* 1987;136:1412-1417.
16. RIJCKEN BR, SCHOUTEN JP, WEISS ST, MEINESZ AF, DE VRIES K, VAN DER LENDE R - The distribution of bronchial responsiveness to histamine in symptomatic and in asymptomatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140: 615-623
17. PEAT JK, SALOME CM, BERRY G, WOOLCOCK AJ - Relation of dose-response slope to respiratory symptoms in a population of Australian schoolchildren. *Am Rev Respir Dis* 1991;144:663-667.
18. PEAT JK, SALOME CM, BERRY G, WOOLCOCK AJ - Relation of dose-response slope to respiratory symptoms and lung function in a population study of adults living in Busselton, Western Australia. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 860-865.
19. EISER N - Specificity and sensitivity of various parameters of dose-response curves. *Eur Respir J* 1991; 1 (1): 41-47.
20. RIJCKEN B, SCHOUTEN JP - Measuring bronchial responsiveness in epidemiology. *Eur Respir J* 1993; 6: 616-617.
21. STERK PJ, DANIEL EE, ZAMEL N, HARGREAVE FE - Limited bronchoconstriction to methacholine using partial flow-volume curves in non asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1985;132: 272-277.
22. STERK PJ, BEL EH - Bronchial hyperresponsiveness: the need for distinction between hypersensitivity and excessive airway narrowing. *Eur Respir J* 1989; 2: 267-274.
23. CHARPIN D, BADIÉ M, OREHEK J - Dose-response curves to inhaled carbachol in asthma and chronic bronchitis. *Bull Eur Physiopathol Respir* 1985; 21: 417-420.
24. JAMES A, LOUGHEED D, PIERCE-PINTO G, RYAN G, MUSK B - Maximal airway narrowing in a general population. *Am Rev Respir Dis* 1992; 148: 895-899.
25. STERK P, TIMMERS MC, DIJKMAN JH - Maximal airway narrowing in humans *in vivo*. Histamine compared with methacholine. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134: 714-718.
26. STERK PJ, DANIEL EE, ZAMEL N, HARGREAVE FE - Limited bronchoconstriction to methacholine using partial flow-volume curves in nonasthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1985;132: 272-277.
27. DE JONGSTE JC, STERK PJ, LUUK NAW, MONS H, TIMMERS MC, KERREBIJN KF - Comparison of maximal bronchoconstriction *in vivo* and airway smooth muscle responses *in vitro* in nonasthmatic humans. *Am Rev Respir Dis* 1988; 138: 321-326.
28. MACKLEM PT - Mechanical factors determining maximum bronchoconstriction. *Eur Respir J* 1989; 2 Suppl 6: 516-519s.
29. MACKLEM PT - A hypothesis linking bronchial hyperreactivity and airway inflammation: implications for therapy. *Ann Allergy* 1990; 64:113-117.
30. STERK PJ, DANIEL EE, ZAMEL N, HARGREAVE FE - Limited maximal narrowing in nonasthmatic subjects. Role of neural control and prostaglandin release. *Am Rev Respir Dis* 1985;132: 865-870.
31. BEL EH, TIMMERS MC, HERMANS JO, DIJKMAN JH, STERK P - The long-term effects of nedocromil sodium and beclomethasone dipropionate on bronchial responsiveness to methacholine in nonatopic asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 21-28.
32. BEL EH, TIMMERS MC, ZWIDERMANN H, DIJKMAN, STERK PJ - The effect of inhaled corticosteroids on the maximal degree of airway narrowing to methacholine in asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143: 109-113.
33. PRIETO L, BERTÓ JM, GUTIÉRREZ V, TORNERO C - Effect of inhaled budesonide on seasonal changes in sensitivity and maximal response to methacholine in pollen-sensitive asthmatic subjects. *Eur Respir J* 1994; 7:1845-1851.
34. NEUPARTH N, MORAIS DE AIMEIDA M, ABREU NOGUEIRA JM, TAVARES C, VIEIRA LOPES D, SOUSA SANTOS J, ROSADO PINTO JE - Validation of an asthma questionnaire to be applied in population studies in Africa. *Europ J Allergy Clin Immunol* 1993; 48 (16): 46.
35. MADSEN F, FROLUND L, NIELSEN NH, SVENDSEN UG, WEEKE B - Bronchial challenge: ventilation during tidal volume breathing' inhalation is not constant. *Bull Eur Physiopathol Respir* 1986; 22: 517-522.
36. CHINN S, BURNEY PGJ, BRITTON JR, TATTERSFIELD AE, HIGGINS BG - Comparison of PD₂₀ with two alternative measures of response to histamine challenge in epidemiological studies. *Eur Respir J* 1993; 6: 670-679.
37. TOELLE BG, PEAT JK, SALOME CM, CRANE J, McMILLAN D, DERMAND J, D SOUZA, WOOLCOCK AJ - Comparison of two epidemiological protocols for measuring airway responsiveness and allergic sensitivity in adults. *Eur Respir Dis* 1994; 7:1798-1804.
38. RODWELL LT, ANDERSON SD, SEALE JP - Inhaled steroids modify bronchial responses to hyperosmolar saline.

- Eur Respir Dis* 1992; 5: 953-962.
39. BIRNIE D, SCHWARTZENBERG GWS, HOP WCJ, ESSEN-ZANDVLIET EEM, KERREBIJN - Does the outcome of the tidal breathing and dosimeter methods of assessing bronchial responsiveness in children with asthma depend on age? *Thorax* 1990; 45:199-202.
40. DOLOVICH MB, COCKCROFT DW, COATES G - Aerosols in diagnosis: ventilation, airway penetrance, epithelial permeability, mucociliary transport and airway responsiveness. in: *Aerosols in Medicine: principles, diagnosis and therapy* ed: Moren F, Dolovich MB, Newhouse MT, Newman SP 1995: 218-222 Elsevier Science Publishers Bv.