



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**FERNANDA CRUVINEL DE ABREU**

---

---

**A medida da Fração Exalada do Óxido Nítrico (FeNO) como  
marcador do nível de controle da asma.**

---

---

**Goiânia  
2016**

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

**1. Identificação do material bibliográfico:**     **Dissertação**     **Tese**

**2. Identificação da Tese ou Dissertação**

Nome completo do autor: Fernanda Cruvinel de Abreu

Título do trabalho: A medida da Fração Exalada do Óxido Nítrico (FeNO) como marcador do nível de controle da asma.

**3. Informações de acesso ao documento:**

Concorda com a liberação total do documento  SIM     NÃO<sup>1</sup>

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.



Assinatura do (a) autor (a)

Data: 01 / 11 / 16

<sup>1</sup> Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

**FERNANDA CRUVINEL DE ABREU**

---

---

**A medida da Fração Exalada do Óxido Nítrico (FeNO) como  
marcador do nível de controle da asma.**

---

---

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Fouad Rabahi

**Goiânia  
2016**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Cruvinel de Abreu, Fernanda  
A medida da Fração Exalada do Óxido Nítrico (FeNO)  
comomarcador do nível de controle da asma [manuscrito] / Fernanda  
Cruvinel de Abreu. - 2016.  
LXXVIII, 78 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Fouad Rabahi.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás,  
Faculdade de Medicina (FM), Programa de Pós-Graduação em Ciências  
da Saúde, Goiânia, 2016.

Bibliografia. Anexos. Apêndice.

Inclui siglas, abreviaturas, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Asma. 2. FeNO. 3. Óxido Nítrico. 4. Controle da Asma. I. Fouad  
Rabahi, Marcelo, orient. II. Título.

CDU 616.24





**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde  
da Universidade Federal de Goiás**

**BANCA EXAMINADORA DA  
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Aluno(a): Fernanda Cruvinel de Abreu**

---

**Orientador(a): Profº Drº Marcelo Fouad Rabahi**

**Membros:**

**1. Profº Drº Marcelo Fouad Rabahi**

**2. Profª Drª Lusmaia Damaceno Camargo Costa**

**3. Profª Drª Maria Auxiliadora Carmo Moreira**

**OU**

**4. Drª Daniela Graner Schwartz Tannus Silva**

**Data:16/11/2016**

## **Dedicatória**

***Dedico este trabalho a minha filha, Mariana,  
que deu um sentido especial à minha existência.***

## **AGRADECIMENTOS**

---

**A DEUS**, pelas bênçãos concedidas, por guiar-me nessa caminhada e ser minha fortaleza e refúgio perante as dificuldades enfrentadas.

**AO PROFESSOR DR. MARCELO FOUAD RABAHI**, exemplo de dedicação à profissão. Agradeço pela disposição, dedicação, convívio, apoio, paciência e por dar-me a oportunidade de realizar esse trabalho.

**À MINHA FAMÍLIA**, principalmente aos meus pais, Ronaldo (*in memoriam*) e Claudete, pela dedicação em minha formação social, por sempre acreditarem em mim e pelo incentivo à busca do conhecimento.

**À MINHA FILHA**, Mariana, por compreender os dias de ausência, pelo seu amor, carinho e por dar-me forças para seguir adiante.

**AO MEU AMOR**, Marcus, por aconselhar-me nos dias de angústia, pelo apoio concedido, paciência, compreensão, dedicação, carinho e amor.

**À EQUIPE DA CLARE**, pela colaboração e receptividade durante a fase de coleta de dados. Especialmente, agradeço à Helena, essencial na fase de coleta de dados.

**AOS COLEGAS DO INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**, por entenderem os momentos de ausência e por incentivarem na minha busca de conhecimento.

**ÀS AMIGAS**, Lídia e Letícia, por todo apoio e palavras de incentivo ao longo do período de pós-graduação.

**AOS MEMBROS DA BANCA DE QUALIFICAÇÃO**, Prof. Dr. José Laerte, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lídia e Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lusmaia pelos pertinentes apontamentos que engrandeceram esse trabalho.

**À UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**, por oportunizar meu crescimento enquanto pesquisadora.

---

# SUMÁRIO

---

---

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>xii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS E QUADROS</b> .....	<b>xiii</b>
<b>SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS</b> .....	<b>xiv</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>xv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xvi</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>19</b>
2.1 Asma.....	19
2.2 Epidemiologia .....	20
2.3 Diagnóstico da Asma .....	20
2.4 Classificação da asma de acordo com seus níveis de controle.....	24
2.5 O papel da medida exalada da fração de óxido nítrico no diagnóstico da asma .....	26
2.6 A importância da FeNO no monitoramento da asma .....	28
<b>3. JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>30</b>
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	<b>31</b>
4.1 Objetivo geral.....	31
4.2 Objetivos específicos .....	31
<b>5. MÉTODO</b> .....	<b>32</b>
5.1 Tipo do estudo .....	32
5.2 Local do estudo .....	32
5.3 Considerações éticas.....	32
5.4 Período do estudo .....	32
5.5 Medida da Fração Exalada do Óxido Nítrico .....	32
5.6 Espirometria.....	33
5.7 Classificação do nível de controle da asma.....	34
5.8 Classificação quanto ao índice de massa corpórea.....	35
5.9 População do estudo .....	35
5.9.1 Critérios de inclusão .....	35
5.9.2 Critérios de exclusão .....	35

5.10 Desenho do estudo .....	36
5.11 Análise estatística .....	38
<b>6. RESULTADOS .....</b>	<b>39</b>
<b>7. DISCUSSÃO .....</b>	<b>46</b>
<b>8. CONCLUSÃO .....</b>	<b>51</b>
<b>9. CONSIDERAÇÕES GERAIS .....</b>	<b>52</b>
<b>10. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>53</b>
<b>11. ANEXOS .....</b>	<b>59</b>
Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.....	59
<b>12. APÊNDICE .....</b>	<b>63</b>

## LISTA DE TABELAS

---

---

**Tabela 1** - Características clínicas e demográficas dos 81 pacientes asmáticos atendidos em clínica na cidade de Goiânia, Goiás, Brasil no período de junho de 2013 a dezembro de 2014. .... 40

**Tabela 2** - Valores da FeNO distribuídos quanto ao índice de massa corpórea em 71 pacientes asmáticos atendidos em clínica na cidade de Goiânia, Goiás, Brasil no período de junho de 2013 a dezembro de 2014 ..... 45

## LISTA DE FIGURAS E QUADROS

---

<b>Figura 1</b> - Aparelho utilizado para a realização da medida da FeNO .....	33
<b>Figura 2</b> - Fluxograma do estudo .....	37
<b>Figura 3</b> - População incluída no estudo de avaliação da FeNO em relação ao nível de controle da asma .....	39
<b>Figura 4</b> - Valores da FeNO em relação aos pacientes com asma controlada, parcialmente controlada e não controlada. ....	41
<b>Figura 5</b> – Valores do VEF <sub>1</sub> pré BD em relação aos pacientes com asma controlada, parcialmente controlada e não controlada. ....	42
<b>Figura 6</b> - Curva ROC da FeNO como preditora do asmático não controlado. ....	43
<b>Figura 7</b> - Gráficos de dispersão da FeNO e VEF <sub>1</sub> pré-broncodilatador nos pacientes avaliados .....	44
<b>Figura 8</b> - População incluída no estudo de avaliação da FeNO em relação ao índice de massa corpórea.....	45
<b>Quadro 1</b> - Critérios para diagnóstico da asma estabelecidos pelo GINA (2016).....	22
<b>Quadro 2</b> – Critérios para avaliação do nível de controle da asma conforme GINA (2016).....	34

## SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

---

<b>ACT</b>	<i>Asthma Control Test</i>
<b>ACQ</b>	<i>Asthma Control Questionnaire</i>
<b>ACSS</b>	<i>Asthma Control Scoring System</i>
<b>ATAQ</b>	<i>Asthma Therapy Assessment Questionnaire</i>
<b>ATS</b>	<i>American Thoracic Society</i>
<b>CLARE</b>	Clínica do Aparelho Respiratório e Medicina do Sono
<b>CVF</b>	Capacidade Vital Forçada
<b>ERS</b>	<i>European Respiratory Society</i>
<b>FeNO</b>	Fração Exalada de Óxido Nítrico
<b>GINA</b>	<i>Global Initiative for Asthma</i>
<b>IMC</b>	Índice de Massa Corpórea
<b>Kg</b>	Quilogramas
<b>mL</b>	Mililitro
<b>PEF</b>	Peak Expiratory Flow
<b>ppb</b>	Parte Por Bilhão
<b>ROC</b>	Receiver Operating Characteristic
<b>s</b>	Segundo
<b>VEF<sub>1</sub></b>	Volume Expiratório Forçado no Primeiro Segundo

## RESUMO

---

O principal objetivo do tratamento da asma é alcançar e manter o controle clínico da doença. A medida da Fração Exalada do Óxido Nítrico (FeNO) é considerada um biomarcador da inflamação das vias aéreas sendo de extrema importância a realização de pesquisas envolvendo essa medida e a avaliação do nível de controle da asma. **Objetivo:** Verificar se a medida da FeNO discrimina pacientes com asma controlada, parcialmente controlada e não controlada. **Materiais e métodos:** Realizou-se um estudo retrospectivo, transversal analítico por meio da coleta de dados de pacientes asmáticos que foram avaliados em relação a sua história clínica, nível de controle da asma, exame físico, espirometria e FeNO. O nível de controle da asma foi determinado conforme critério da *Global Initiative for Asthma* (GINA), classificados como controlados, parcialmente controlados e não controlados. Os valores da FeNO foram classificados em baixo ou intermediário/alto (baixo <25 ppb e intermediário/elevado  $\geq 25$  ppb), de acordo com as recomendações da American Thoracic Society (ATS). **Resultados:** Foram incluídos 81 pacientes asmáticos classificados em controlados 34 (42%), parcialmente controlados 27 (33,3%) e não controlados 20 (24,7%). A medida da FeNO discriminou o grupo não controlado dos grupos controlado ( $p = 0,01$ ) e parcialmente controlado ( $p = 0,01$ ), mas não discriminou os grupos controlado e parcialmente controlado ( $p = 0,98$ ). FENO >30 estava associado a asma não controlada ( $p < 0,01$ ) com área sob a curva ROC de 0,78 (Intervalo de Confiança 95%, 0.65-0.89). **Conclusão:** A FeNO foi capaz de identificar asmáticos não controlados. Isso sugere que sua medida pode ser útil na determinação do controle da asma.

**Palavras-chave:** Asma, FeNO, Óxido Nítrico, Controle da Asma.

## ABSTRACT

---

The main goal of asthma treatment is to achieve and maintain clinical control of the disease. The exhaled fraction nitric oxide (FeNO) level is considered a biomarker of airways inflammation and its important to conduct researches involving this measured and its relationship in evaluation of asthma control. **Objective:** To determine whether the FeNO level can be used to discriminate between patients with controlled, partially controlled and uncontrolled asthma. **Materials and methods:** The FeNO level and asthma control were evaluated in a retrospective and analytic cross-sectional study through data collected from asthmatic patients who were assessed by clinical history, asthma control, physical examination, spirometry, and FeNO level. Asthma control was determined by the criteria of the Global Initiative for Asthma, and classified as controlled asthma, partially controlled asthma, and uncontrolled asthma. The FeNO values were classified as low (<25 ppb) or intermediate/high ( $\geq 25$  ppb), based on the American Thoracic Society recommendations. **Results:** The symptoms of 81 asthmatic patients were classified as controlled (34 [42%] patients), partially controlled (27 [33,3%] patients), and uncontrolled (20 [24.7%] patients). The FeNO level discriminated between the uncontrolled and controlled groups ( $p = 0,01$ ) and between the uncontrolled and partially controlled groups ( $p = 0,01$ ), but not between the controlled and partially controlled groups ( $p = 0,98$ ). An FeNO level  $>30$  ppb was associated with uncontrolled asthma ( $p = 0,0001$ ) with an area under the receiver operating characteristic curve of 0,78 (95% confidence interval, 0,65-0,89). **Conclusions:** The FeNO level aided the identification of uncontrolled asthma. This measurement may can be helpful in determining asthma control.

**Keywords:** Asthma, FeNO, Nitric Oxide, Asthma Control.

# 1. INTRODUÇÃO

---

A asma é uma doença inflamatória crônica das vias aéreas na qual muitas células e elementos celulares têm participação. A inflamação crônica está associada à hiperresponsividade das vias aéreas, que leva a episódios recorrentes de sibilos, dispneia, opressão torácica e tosse, particularmente à noite ou no início da manhã. Esses episódios são consequência da obstrução generalizada e variável ao fluxo aéreo intrapulmonar, reversível espontaneamente ou com tratamento (KIM, MAZZA, 2011; SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMONOLOGIA E TISIOLOGIA, 2012; GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA, 2016).

As diretrizes atuais consideram como principal objetivo para o tratamento da asma alcançar e manter o controle clínico da doença que se baseia na identificação e no controle de fatores de risco (por exemplo: tabagismo ou medicações associadas) e na terapia medicamentosa (AMERICAN THORACIC SOCIETY, 2009; SBPT, 2012; GINA, 2016). Nesse sentido, considerando que a inflamação tem papel central na patofisiologia da asma e em função da sua efetiva ação antiinflamatória, a medicação mais eficaz para obtenção do controle é o corticosteróide inalatório (EPR, 2007; GINA, 2016).

Considerando o controle da asma o principal objetivo no tratamento da doença o guia *Global Initiative for Asthma* (GINA) recomenda que o controle dos seus sintomas sejam avaliados a cada oportunidade, inclusive durante a rotina médica de prescrição e dispensação de medicamentos. Para essa avaliação é recomendado por essa diretriz que sejam realizadas perguntas relacionadas às últimas quatro semanas: frequência dos sintomas da asma (dias por semana), algum despertar noturno devido à asma, limitação das atividades e necessidade de uso de medicação para alívio dos sintomas. Com base nesses parâmetros a asma pode ser classificada em: asma controlada, asma parcialmente controlada e asma não controlada (SBPT, 2012; GINA, 2016).

Inúmeros instrumentos são utilizados para a avaliação do controle da doença como questionários de qualidade de vida e provas de função pulmonar.

As provas de função pulmonar são parâmetros funcionais importantes na avaliação da gravidade e no monitoramento do curso da doença e das modificações decorrentes da instituição do tratamento (SBPT, 2012). Além disso, o controle da asma definido nas diretrizes atuais não pode ser aplicado para estabelecer o nível de inflamação das vias aéreas porque nem os sintomas nem os resultados das provas de função pulmonar refletem o andamento da inflamação. Sendo assim, pacientes assintomáticos e sintomáticos são, usualmente, classificados como asmáticos controlados mesmo se tiverem inflamação das vias aéreas de forma subclínica (YOON *et al.*, 2012).

Nesse sentido, novos instrumentos para avaliação da asma têm sido desenvolvidos, dentre eles a Fração Exalada de Óxido Nítrico tem atraído interesse por ser uma técnica fácil, rápida e não invasiva diferente de outros métodos considerados invasivos (biópsia brônquica, lavagem broncoalveolar ou pesquisa de eosinófilos no escarro), além da sua reprodutibilidade como biomarcador da inflamação das vias aéreas na asma. O monitoramento do óxido nítrico exalado pode ser útil como marcador inicial da perda de controle da asma. Inúmeros trabalhos têm sido conduzidos para verificar a possibilidade de associar a medida da FeNO aos instrumentos de avaliação do controle da asma e as provas de função pulmonar para assim classificar o nível de controle do paciente asmático (LEBLANC *et al.*, 2013; SAITO *et al.*, 2013; SHIOTA *et al.*, 2011, SOTO-RAMOS, *et al.*, 2013, SCICHILONE *et al.*, 2013).

Apesar de atualmente existirem grandes avanços relacionados ao entendimento do papel da FeNO e sua relação com a inflamação das vias aéreas, ainda não está claro sua capacidade de prever o controle da asma (DWEIK, 2011; GINA, 2016). Deste modo, o presente estudo teve o objetivo de verificar se a medida da FeNO discrimina os pacientes com asma controlada, parcialmente controlada e não controlada.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

---

### 2.1 Asma

Conforme definido pelo documento *The Global Initiative for Asthma* (GINA, 2016) da Organização Mundial de Saúde (OMS) a asma é uma doença heterogênea, geralmente caracterizada por uma inflamação crônica das vias aéreas. É definida pela história de sintomas respiratórios, tais como sibilos (“chiados” no peito), falta de ar, aperto no peito e tosse, que variam ao longo do tempo e em intensidade, juntamente com a limitação variável do fluxo aéreo expiratório. Essas variações são muitas vezes desencadeadas por fatores como exercício, exposição a algum alérgeno ou irritante, mudança climática ou infecções respiratórias virais (GINA, 2016).

Tipicamente a asma brônquica se manifesta por episódios intermitentes de dispneia, muitas vezes acompanhada de sibilos, tosse e “aperto no peito” (LEVY *et al.*, 2006). Essas manifestações podem existir isoladamente ou de forma combinada e tendem a se agravar ao cair da noite, de madrugada ou cedo pela manhã. O desencadeamento dos sintomas devido a exposição a alérgenos, irritantes inespecíficos, exercícios físicos, infecções respiratórias, doença do refluxo gastroesofágico ou fármacos ajudam a firmar o diagnóstico (GINA, 2016). As exacerbações, episódios ou eventos relacionados a asma que ocorrem várias vezes durante a semana ou eventos severos que requerem hospitalização, podem evoluir rapidamente e se tornar grave o bastante, com potencial risco de morte, obrigando o portador da doença a procurar um serviço médico de urgência (GINA, 2016; ATS, 2009; SBPT, 2012).

A inflamação tem papel central na fisiopatologia da asma e como característica imunohistopatológica envolve a interação de muitos tipos de células e múltiplos mediadores com as vias aéreas que eventualmente resultam nas características fisiopatológicas da doença: inflamação brônquica e limitação do fluxo de ar resultando em episódios recorrentes de tosse, respiração ofegante e falta de ar. Dentre as células inflamatórias envolvidas na doença destacam-se os linfócitos T, mastócitos, eosinófilos, neutrófilos, células dendríticas e macrófagos. Entre as células brônquicas envolvidas na patogenia

da asma incluem células epiteliais, células musculares lisas, células endoteliais, fibroblastos, miofibroblastos. Diversos mediadores inflamatórios também participam do processo inflamatório da asma e esses incluem as quimiocinas, citocinas, cisteinil-leucotrienos, óxido nítrico, imunoglobulina E e histamina (EPR, 2007; SBPT, 2012).

## **2.2 Epidemiologia**

Constituindo problema de saúde pública, de acordo com o GINA a asma afeta 1-18 % da população em todo mundo, e cerca de 250.000 morrem anualmente devido a essa doença (UATLD, 2011). Segundo a Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) atualmente as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) constituem o problema de saúde de maior magnitude relevante e respondem por mais de 70 % das causas de mortes no Brasil. As doenças cardiovasculares, câncer, diabetes, enfermidades respiratórias crônicas e doenças neuropsiquiátricas, principais DCNT, têm respondido por um número elevado de mortes antes dos 70 anos de idade e perda de qualidade de vida, gerando incapacidades e alto grau de limitação das pessoas doentes em suas atividades de trabalho e de lazer. Ainda de acordo com a OMS a asma ocupa o primeiro lugar na prevalência de Doenças Respiratórias Crônicas sendo que no Brasil em 2013 a PNS apurou que 4,4 % de pessoas de 18 anos ou mais de idade referiram diagnóstico médico de asma. Considerando a média nacional, a frequência percentual de mulheres (5,1 %) foi maior em relação à proporção de homens (3,6 %). Das pessoas de 18 anos ou mais de idade que referiram diagnóstico médico de asma, 38,2% tiveram alguma crise da doença nos 12 meses anteriores a pesquisa (IBGE, 2013). Dados recentes apontam que somente em 2015 ocorreram 110.552 internações devido à doença originando um custo de R\$ 62,3 milhões para a rede pública de saúde segundo dados do Sistema de Informações Hospitalares (DATASUS, 2016).

## **2.3 Diagnóstico da Asma**

O diagnóstico clínico da asma é realizado a partir da anamnese envolvendo história médica e exame físico. Os achados mais relevantes e que sempre devem ser pesquisados durante a anamnese do paciente são história familiar, história de sintomas respiratórios como chiado, dispneia, tosse crônica, presença de crises de sibilos recorrentes desencadeadas ou não por alérgenos respiratórios ou irritantes respiratórios inespecíficos (como fumaça de cigarro, cheiros fortes ou exercício), presença de rinite alérgica ou dermatite atópica e história de asma na infância (no caso de adultos) além da limitação do fluxo aéreo expiratório variável. Embora o diagnóstico clínico da asma em sua forma clássica de apresentação não seja difícil, a confirmação deve ser feita por um método objetivo para a avaliação da função pulmonar como a espirometria (antes e após o uso de broncodilatador), testes de broncoprovocação e medida de Pico de Fluxo Expiratório (PFE) (GINA, 2016; SBPT, 2012). Além disso, o uso de biomarcadores da inflamação das vias aéreas também são úteis no diagnóstico da doença particularmente quando os testes de função pulmonar estão normais apesar da presença de sintomas (KIM, MAZZA, 2011).

O histórico de sintomas respiratórios na infância, história de rinite alérgica ou eczema, ou uma história familiar de asma ou alergia aumenta a probabilidade de diagnóstico de asma. No entanto, tais sintomas não são específicos para patologia em questão e não são vistos em todos os seus fenótipos. Durante a história médica é importante avaliar possíveis desencadeadores dos sintomas da asma como ácaros, insetos, pêlos de animais, fungos, exercício físico, pólen e exposição ao cigarro e ar frio (KIM, MAZZA, 2011; SBPT, 2012; GINA, 2016).

O exame físico de pessoas com asma geralmente é normal. A mais frequente anormalidade é o chiado, especialmente na ausculta após expiração forçada porém esse sinal também pode estar presente em outras patologias como disfunção das vias aéreas superiores, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), infecções respiratórias, traqueomalácia ou após um corpo estranho inalado (GINA, 2016).

A asma é caracterizada pela variação da limitação do fluxo aéreo expiratório, ou seja, a função pulmonar expiratória varia ao longo do tempo em uma magnitude maior do que em pacientes saudáveis (GINA, 2016). A espirometria é o exame preferencial para avaliar a reversibilidade da obstrução

das vias aéreas (significativa melhora da função pulmonar após a inalação de um broncodilatador de curta ação) e confirmar o diagnóstico funcional da asma. Além do mais, é importante na avaliação da gravidade e no monitoramento do curso da doença e das modificações decorrentes da instituição do tratamento, sendo que fornece medidas importantes para o diagnóstico de limitação ao fluxo de ar das vias aéreas: volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF<sub>1</sub>) e Capacidade Vital Forçada (CVF) (KIM, MAZZA, 2011; SBPT, 2012).

O VEF<sub>1</sub> reduzido pode ser encontrado em muitas outras doenças pulmonares, porém uma redução da relação VEF<sub>1</sub>/CVF indica limitação do fluxo aéreo (valores menores que 0,75-0,80 em adultos e 0,90 em crianças). Sendo assim, uma vez que a obstrução é identificada, a limitação do fluxo aéreo é avaliada pelo VEF<sub>1</sub> ou PEF. O diagnóstico da doença não é confirmado somente pela demonstração da limitação ao fluxo de ar, mas principalmente pela demonstração de significativa reversibilidade, parcial ou completa após a prova broncodilatadora. Dessa forma, o diagnóstico da asma em um paciente com sintomas respiratórios é confirmado quando na prova de função pulmonar ocorre uma melhora do VEF<sub>1</sub> em pelo menos 12 % e pelo menos 200 mL de 15 a 20 minutos após a administração de broncodilatador de curta ação ou ocorre uma melhora do VEF<sub>1</sub> em pelo menos 20% e pelo menos 200 mL após duas semanas de tratamento com anti-inflamatório ou ocorre mudança no PEF em pelo menos 20% (KIM, MAZZA, 2011; SBPT, 2012; GINA, 2016).

O quadro a seguir (Quadro 1) apresenta os critérios para diagnóstico da asma conforme definido na atualização de 2016 do GINA

#### **Quadro 1 – Critérios para diagnóstico da asma estabelecidos pelo GINA (2016)**

<b>1. História de sintomas respiratórios variáveis</b>
<p>Sintomas típicos são sibilos, dispneia, aperto no peito e tosse</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pessoas com asma geralmente apresentam mais de um desses sintomas.</li> <li>• Os sintomas variam ao longo do tempo e variam de intensidade.</li> <li>• Os sintomas frequentemente ocorrem ou pioram durante a noite ou ao acordar.</li> <li>• Sintomas frequentemente pioram pelo exercício, risada, alérgeno ou frio.</li> <li>• Sintomas frequentemente ocorrem com ou pioram com infecções virais.</li> </ul>
<b>2. Evidência de limitação variável do fluxo aéreo expiratório</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pelo menos uma vez durante o processo de diagnóstico quando VEF<sub>1</sub> é baixo, documentar que a relação VEF<sub>1</sub>/ CVF é reduzida. A relação VEF<sub>1</sub>/ CVF é normalmente maior que 0,75 - 0,80 em adultos, e maior que 0,90 em crianças.</li> </ul>

- Documentar que a variação da função pulmonar é maior que em pessoas saudáveis. Por exemplo:
  - O VEF<sub>1</sub> aumenta em mais de 12 % e 200 mL (em crianças, > 12 % do valor previsto) após a inalação de um broncodilatador. Isso é chamado de 'reversibilidade broncodilatadora.
  - A média diária diurna da variabilidade do PEF é > 10 % (em crianças, > 13 %).
- O VEF<sub>1</sub> aumenta em mais de 12 % e 200 mL da linha de base (em crianças, por > 12 % do valor previsto) após 4 semanas de tratamento com anti-inflamatório (fora infecções respiratórias).
- Quanto maior a variação, ou quanto mais vezes o excesso de variação for visto, mais confiante pode ser o diagnóstico.
- Os testes podem ser repetidos durante os sintomas, no início da manhã, ou após a retirada de medicamentos broncodilatadores.
- A reversibilidade broncodilatadora pode estar ausente durante as exacerbações graves ou infecções virais. Se a reversibilidade broncodilatadora não está presente quando é testado pela primeira vez, o próximo passo depende da urgência clínica e disponibilidade de outros testes.
- Outros testes podem auxiliar no diagnóstico, incluindo testes de provocação brônquica.

Fonte: Adaptado de GINA, 2016.

Conforme descrito pela Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia (2012) uma espirometria normal não exclui o diagnóstico de asma já que pacientes com sintomas intermitentes ou asma controlada geralmente têm espirometria normal antes do uso de broncodilatador. Em caso de dúvidas quanto ao diagnóstico, a observação da variabilidade do PEF, a repetição da espirometria, testes alérgicos, testes de broncoprovocação e a medida da Fração Exalada de Óxido Nítrico podem confirmar ou afastar a suspeita de asma. Para essa última o GINA reconhece que seu valor está aumentado na asma eosinofílica, porém apresenta valores aumentados em condições não asmáticas e sua medida ainda não é reconhecida como útil para realizar o diagnóstico da asma (GINA, 2016; SBPT, 2012).

Em resumo, as diretrizes nacionais e internacionais recomendam que, além da anamnese, haja a realização de métodos funcionais para o diagnóstico da asma. Todavia, é importante reconhecer que tais parâmetros de forma isolada não são capazes de refletir a inflamação das vias aéreas por falta de evidências confirmatórias da presença de inflamação podendo, portanto, gerar tratamento inadequado que além de oneroso pode estar associado a eventos adversos sendo que diagnósticos mais adequados relacionados ao grau de inflamação aliados às provas de função pulmonar são necessários para o

melhor manejo do paciente asmático. Assim, nos últimos anos, tem-se buscado outros parâmetros que sejam capazes de refletir a inflamação das vias aéreas, dentre eles, a FeNO tem atraído interesse por ser uma técnica fácil e rápida, além da sua reprodutibilidade como biomarcador da inflamação das vias aéreas (BJERMER *et al.*, 2014; LEBLANC *et al.*, 2013; SENNA *et al.*, 2007; SMITH *et al.*, 2004; ZIETKOWSKI *et al.*, 2006).

## **2.4 Classificação da asma de acordo com seus níveis de controle**

As primeiras diretrizes para asma possuíam como objetivo do tratamento a minimização dos sintomas, otimização da função pulmonar e prevenção de exacerbações. Tendo como base esse objetivo, a função pulmonar foi frequentemente o “*endpoint*” primário para verificação do controle da asma. Posteriormente, reconheceu-se a importância da perspectiva do paciente e da pobre correlação entre a função pulmonar, inflamação e sintomas, e assim, estudos clínicos e a prática clínica tiveram cada vez mais que focar na avaliação do controle da asma (ATS, 2009). Atualmente o objetivo do manejo da asma é a obtenção do controle da doença que refere-se à extensão com a qual as manifestações da asma estão suprimidas, espontaneamente ou pelo tratamento. É determinada pela interação entre o conhecimento da história genética do paciente, processo de doença subjacente, tratamento em curso, fatores ambientais e psicossociais. Compreende, portanto, dois domínios distintos: o controle dos sintomas (previamente chamado de controle clínico corrente) e a redução dos riscos futuros. O controle da asma sempre deve ser expresso considerando tanto o controle clínico atual como o risco de futuras exacerbações. Com base nesses parâmetros a asma pode ser classificada em três grupos distintos, a saber, asma controlada, asma parcialmente controlada e asma não controlada (SPBT, 2012; GINA, 2016).

Entre alguns marcadores disponíveis e validados para avaliação da severidade da asma, os parâmetros funcionais, anamnese, questionários de avaliação dos sintomas, hiperresponsividade das vias aéreas e os biomarcadores da inflamação das vias aéreas são potenciais formas de monitorar o controle da asma, apesar de não haver um padrão ouro reconhecido para mensurar o seu controle clínico. Dentre esses, o GINA

recomenda os questionários de avaliação de sintomas e a espirometria como testes convencionais, pois são de fácil execução e são considerados marcadores indiretos na inflamação (LEBLANC *et al.*, 2013; SAITO *et al.*, 2013). Em relação aos questionários de avaliação dos sintomas atualmente existem vários elaborados e validados com a finalidade de mensurar o controle clínico da doença: Asthma Control Test (ACT) (ROXO *et al.*, 2010; SCHATZ *et al.*, 2006); Asthma Therapy Assessment Questionnaire (ATAQ) (SKINNER *et al.*, 2004), Asthma Control Scoring System (ACSS) (LEBLANC, A. *et al.*, 2007; TAVARES *et al.*, 2010). Os questionários ACQ e ACT são instrumentos de avaliação do controle da asma de forma numérica onde “scores” e ponto de corte são utilizados para distinguir os diferentes níveis de controle da asma. Ambos são validados em diversas línguas, inclusive na língua portuguesa (SPBT, 2012; GINA, 2016).

Além dos instrumentos descritos anteriormente, o nível de controle da asma pode ser avaliado conforme os critérios estabelecidos pelo GINA, onde a avaliação dos sintomas é baseada nas últimas quatro semanas: frequência dos sintomas da asma (dias por semana), algum despertar noturno devido a asma ou limitação das atividades, necessidade de uso de medicação para alívio dos sintomas (GINA, 2016).

Inúmeros instrumentos estão disponibilizados para avaliar o controle da asma, porém nenhum deles pode ser utilizado de forma isolada para definir e determinar o nível de controle da doença. Estabelecer uma clara correlação entre os parâmetros disponíveis para avaliar o controle da asma é extremamente difícil já que cada medida apresenta um aspecto particular da doença e parece ser parcialmente independente uma da outra (LEBLANC *et al.*, 2013).

Nesse contexto, a FeNO tem atraído interesse na avaliação do nível de controle e como marcador inicial da sua perda. Inúmeros trabalhos têm sido conduzidos para verificar a possibilidade de associar a medida da FeNO aos instrumentos de avaliação do controle da asma e as provas de função pulmonar e assim classificar o nível de controle do paciente asmático (LEBLANC *et al.*, 2013; SAITO *et al.*, 2013; SOTO-RAMOS *et al.*, 2013; RICCIARDOLO *et al.*, 2014).

## 2.5 O papel da medida exalada da fração de óxido nítrico no diagnóstico da asma

O óxido nítrico (NO) foi durante muito tempo conhecido como um poluente atmosférico destruidor da camada de ozônio e responsável pela chuva ácida, estando presente na fumaça de veículos e de cigarros (CULOTTA, KOSHLAND, 1992). Mais recentemente o mesmo foi reconhecido como um mediador biológico em animais e humanos apresentando inúmeras funções, sendo que no pulmão o mesmo atua como vasodilatador, broncodilatador e receptor não adrenérgico não colinérgico (NANC) e é um importante mediador na resposta inflamatória. O mesmo é produzido pelo pulmão humano e está presente no ar exalado de inúmeras espécies animais, incluindo os seres humanos (DWEIK *et al.*, 2011; YATES, 2001).

No organismo, o NO é sintetizado pela oxidação do aminoácido L-arginina na presença de uma enzima, conhecida como enzima óxido nítrico sintase (NOS), que se apresenta em três isoformas: NOS induzida (iNOS ou NOS2), a isoforma neuronal (nNOS ou NOS1) e a isoforma endotelial (eNOS ou NOS3). Enquanto as eNOS estão relacionadas a funções fisiológicas e benéficas como vasodilatação e neurotransmissão, a iNOS induz a uma maior produção de NO e relaciona-se ao desenvolvimento e ampliação de processos inflamatórios, como é o caso da asma, além de efeitos citotóxicos (DWEIK *et al.*, 2011; BJERMER *et al.*, 2014; STEWART, KATIAL, 2012).

A presença do óxido nítrico no ar expirado em humanos foi descrita pela primeira vez em 1991 (GUSTAFSSON *et al.*, 1991) e vários trabalhos desde então foram publicados demonstrando seu aumento significativo em doenças respiratórias. Assim, o estudo do papel da medida exalada do NO é importante em enfermidades como asma, tosse, DPOC e fibrose cística (BJERMER *et al.*, 2014; RICCIARDOLO *et al.*, 2004; STEWART, KATIAL, 2012).

Estudos relatam ainda a importância da utilização de um marcador para o grau de inflamação das vias aéreas aliado às provas de função pulmonar como preditivo do diagnóstico da asma (PIJNENBURG, DE JONGSTE, 2007). Um estudo realizado para avaliar a utilidade da FeNO no diagnóstico da asma demonstrou a sua superioridade em relação aos testes convencionais, além disso seus níveis correlacionam com a contagem eosinofílica no escarro ou

teste de fluido de lavagem broncoalveolar mas com a vantagem de ser não invasivo, rápido e fácil de ser realizado (SMITH *et al.*, 2004).

Os níveis da FeNO, expressos em parte por bilhão, podem ser medidos por meio de equipamentos portáteis facilmente e em tempo real utilizando quimioluminescência, detecção eletromagnética ou espectroscópios de laser. Dessa maneira em conjunto com testes de função pulmonar, a avaliação do FeNO promove uma abordagem mais usual e efetiva para a identificação da asma e outras condições inflamatórias das vias aéreas corticóide-responsiva (BJERMER *et al.*, 2014).

Nesse contexto, a medida da Fração de Óxido Nítrico Exalado (FeNO) surge como um potencial biomarcador na avaliação da inflamação das vias aéreas tanto em pacientes não diagnosticados com sintomas respiratórios não específicos, como naqueles com doenças nas vias aéreas já estabelecidas. Pesquisas atuais sugerem que a avaliação da FeNO facilita a identificação de pacientes exibindo inflamação das vias aéreas mediada pela célula TH-2 *Helper*, e efetivamente, naqueles os quais a terapia anti-inflamatória (particularmente com corticosteróides inalados) é benéfica (BJERMER *et al.*, 2014). Trabalhos publicados demonstram que a FeNO aumenta proporcionalmente à inflamação da parede brônquica e sua concentração diminui após o tratamento com drogas antiinflamatórias como os corticosteróides inalatórios (SMITH *et al.*, 2005).

As diretrizes da *American Thoracic Society (ATS)* (DWEIK *et al.*, 2011) recomenda o uso da FeNO no diagnóstico da inflamação eosinofílica das vias aéreas, como preditor da resposta dos corticosteroides em pacientes com sintomas respiratórios crônicos possivelmente devido à inflamação das vias aéreas e como auxílio no diagnóstico da asma em situações em que evidências objetivas são necessárias. A ATS estabeleceu os valores de normalidade para a FeNO sendo que para adultos níveis menores que 25 ppb indica que a presença de inflamação eosinofílica é improvável, níveis entre 25 e 50 ppb deve ser realizada interpretação de acordo com o estado clínico do paciente e valores acima de 50 ppb indica significativa inflamação eosinofílica.

Conforme relatado nos parágrafos anteriores apesar de inúmeros estudos demonstrarem a correlação da FeNO com o grau de inflamação das

vias aéreas, as diretrizes atuais ainda não incluíram a sua utilização como critério de diagnóstico da asma visto que a sua utilização ainda é controversa. Seus valores também estão aumentados em outras condições eosinofílicas não asmáticas (a exemplo: bronquite eosinofílica, rinite alérgica e atopia) (GINA, 2016).

Uma descoberta consistente em crianças é que os níveis da FeNO podem aumentar com a idade, muito provavelmente devido ao aumento da área da superfície da mucosa das vias aéreas. Dados em adultos são inconsistentes, com variações nas faixas etárias de indivíduos normais incluídos nestes estudos (BJERMER *et al.*, 2014). Alguns estudos demonstram que os níveis da FeNO são maiores em indivíduos acima de 60 anos (OLIN *et al.*, 2006; GELB *et al.*, 2011) porém existem divergências como pode ser observado em outro estudo onde não foi demonstrado correlação entre idade e FeNO (OLIVIERI *et al.*, 2006). Olivieri e colaboradores (2006) encontraram diferença significativa para os valores da FeNO e entre os sexos (OLIVIERI *et al.*, 2006). A maioria dos estudos também demonstram uma relação entre a altura e os níveis da FeNO, tanto em crianças quanto em adultos (OLIN *et al.*, 2006; MALMBERG *et al.*, 2006), e indicam que uma interpretação mais precisa e generalizável da FeNO poderia ser derivada tomando fatores individuais em consideração e avaliação dos valores com base na percentagem prevista de valores de referência, ou z-score (MALINOVSKI *et al.*, 2013; SVERRILD *et al.*, 2013).

## **2.6 A importância da FeNO no monitoramento da asma**

Tanto as diretrizes nacionais quanto as internacionais de tratamento da asma propõem formas de estadiamento da doença com o objetivo de inferir o grau de inflamação das vias aéreas a partir da sintomatologia do paciente e de alguns dados espirométricos. (BRITISH THORACIC SOCIETY, 2003; GINA, 2016; SBPT, 2012). Dessa forma, a presença de mais sintomas respiratórios traduziria maior grau de inflamação das vias respiratórias e, conseqüentemente, demandaria maior uso da medicação, em especial da medicação antiinflamatória. Essa abordagem parte da premissa que grupos de pacientes classificados no mesmo estágio de gravidade de doença teriam

graus semelhantes de inflamação brônquica e, conseqüentemente, o mesmo risco de exacerbações clínicas e a mesma resposta terapêutica. Entretanto, tem sido demonstrado que essa abordagem pode não refletir as heterogêneas características presentes nos pacientes portadores de asma. Assim, pacientes com a mesma classificação de asma submetidos ao mesmo tratamento podem ter prognóstico, evolução clínica e resposta terapêutica diferentes (MILLER *et al.*, 2005; WENZEL, 2006; HALDAR *et al.*, 2008).

Um estudo utilizando a FeNO como marcador de infiltração eosinofílica em pacientes com asma demonstrou que o tratamento guiado por esse biomarcador inflamatório resultou em redução na dose de corticóide inalatório administrado sem comprometer o controle da asma (SMITH *et al.*, 2005). Sugere-se que a elevada sensibilidade da FeNO possa ser usada no futuro para ajustar as doses da terapêutica combinada com base no controle da inflamação das vias aéreas. Trata-se de um avanço importante já que os broncodilatadores de longa ação (drogas frequentemente utilizadas para o controle da asma) podem controlar os sintomas, mascarando a inflamação subjacente, que poderá não adequadamente ser suprimida por baixas doses de corticóides, com eventual risco de exacerbações em alguns sub-grupos de doentes. Além disso, o uso da FeNO pode ajudar a demonstrar diferentes fenótipos da asma, podendo dessa maneira permitir um melhor manejo do médico no tratamento do paciente (BJERMER *et al.*, 2014; DWEIK *et al.*, 2011; SMITH *et al.*, 2005).

### 3. JUSTIFICATIVA

---

O principal objetivo do tratamento da asma é alcançar e manter o controle clínico, que baseia na identificação e controle de fatores de risco, além do uso de broncodilatadores e corticosteróides.

A espirometria é útil para o diagnóstico, avaliação da gravidade e no monitoramento da asma, no entanto, a avaliação da atividade inflamatória fica à margem dos exames funcionais. Além disso, os instrumentos disponibilizados para avaliar o controle da asma, por serem marcadores indiretos da inflamação, não podem ser aplicados para estabelecer o nível de inflamação das vias aéreas.

A utilização da FeNO surge como um importante instrumento biomarcador da inflamação das vias aéreas. Trabalhos publicados demonstram que a FeNO aumenta proporcionalmente à inflamação da parede brônquica e sua concentração diminui após o tratamento com drogas anti-inflamatórias como os corticóides inalatórios. Sugere-se que a elevada sensibilidade de FeNO possa ser usada para ajustar as doses da terapêutica combinada com base no controle da inflamação das vias aéreas.

Apesar de atualmente existir grandes avanços e inúmeros trabalhos publicados sobre a FeNO e sua relação com a inflamação das vias aéreas ainda não está bem estabelecido, sendo de extrema importância a realização de pesquisas envolvendo a medida da fração de óxido nítrico exalado (FeNO) e sua relação em diferentes cenários de atendimentos.

## 4. OBJETIVOS

---

### 4.1 Objetivo geral

Verificar se a medida da FeNO discrimina pacientes com asma controlada, parcialmente controlada e não controlada.

### 4.2 Objetivos específicos

- Verificar a relação entre a FeNO e o Índice de Massa Corpórea (IMC).
- Avaliar a correlação entre a medida da FeNO e do VEF<sub>1</sub> pré-broncodilatador em cada grupo de controle da asma.

## **5. MÉTODO**

---

### **5.1 Tipo do estudo**

Estudo de corte transversal analítico e retrospectivo.

### **5.2 Local do estudo**

O estudo foi realizado no Centro de Pesquisa da Clínica do Aparelho Respiratório e Medicina do Sono (CLARE).

### **5.3 Considerações éticas**

O estudo foi conduzido de acordo com o ICH/GCP – Guideline (CMP/ICH/135/65) e de acordo com a Declaração de Helsinque (1964) e suas revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983), Hong Kong (1989), Somerset Oeste (1996), Edimburgo (2000), Washington (2002), Tóquio (2004) e Seul (2008), assim como as regulamentações locais (Resolução 466/12 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás – UFG/GO, aprovou o projeto do estudo em 15 de setembro de 2015 sob número 1.228.483 (Anexo 1).

### **5.4 Período do estudo**

A coleta de dados iniciou em 19 de outubro de 2015 e finalizou em 18 de dezembro do mesmo ano. As análises estatísticas foram realizadas no período de dezembro de 2015 a maio de 2016.

### **5.5 Medida da Fração Exalada do Óxido Nítrico**

A medida da FeNO foi realizada por quimioluminescência com a utilização do analisador portátil NIOX MINO® (Aerocrine AB; Solna, Suécia) e expressa em partes por bilhão (ppb) antes da realização da espirometria. Os

valores da FeNO, embora possam ser expressos como uma variável contínua, foram categorizados numa escala de mensuração ordinal e classificados como normal ou alto de acordo com o Guia da *American Thoracic Society* (DWEIK *et al.*, 2011) que recomenda a utilização de pontos de corte onde valores abaixo de 25 ppb representam pouca probabilidade de inflamação eosinofílica e os valores entre 25 e 50 ppb devem ser considerando a sintomatologia e valores acima de 50 ppb representam a presença de inflamação das vias aéreas. No caso desse estudo em que todos os pacientes apresentavam diagnóstico prévio de asma, foi determinado o ponto de corte de 25 ppb onde valores da FeNO abaixo de 25 ppb foram considerados normais e acima ou igual a 25 ppb foram considerados elevados. O exame foi realizado com a utilização de clipe nasal e o paciente expirou o ar do pulmão durante 10 s em um fluxo constante de 50 mL/s. Todos os pacientes realizaram a medida da FeNO antes da espirometria.

**Figura 1** - Aparelho utilizado para a realização da medida da FeNO



Fonte: acervo pessoal

## 5.6 Espirometria

A espirometria foi realizada no mesmo dia de realização da medida da FeNO. O exame foi realizado com a utilização de espirômetro calibrado Easyone® (ndd Medizintechnik AG) seguindo as recomendações do Guia da

*American Thoracic Society e European Respiratory Society (ATS/ERS, 2005).* O exame foi realizado com o paciente em posição sentada com a utilização de clipe nasal onde o paciente inspirou o ar profundamente com o período de apnéia não superior a três segundos e, sem parar de respirar, foi realizada uma expiração rápida e forçada e ao final dessa foi realizada uma inspiração profunda. Foram efetuadas três medidas aceitáveis conforme normas da ATS e o resultado do VEF<sub>1</sub> foi obtido da melhor manobra.

## 5.7 Classificação do nível de controle da asma

O nível de controle da asma foi avaliado durante a consulta médica antes da realização dos exames da FeNO e espirometria. Foram utilizados os critérios estabelecidos pelo GINA (Quadro 2) onde os pacientes foram avaliados em relação aos sintomas nas últimas quatro semanas: frequência semanal dos sintomas da asma, despertar noturno, limitação de suas atividades devido a asma e necessidade semanal de uso de medicação para alívio dos sintomas. Os pacientes foram classificados em: controlados quando todos os critérios indicavam controle da doença, parcialmente controlados quando havia um ou dois dos quatro critérios indicando controle inadequado e não controlados quando havia três ou mais dos quatro critérios indicando controle inadequado (GINA, 2016).

**Quadro 2** – Critérios para avaliação do nível de controle da asma conforme GINA (2016)

Controle dos sintomas Nas últimas 4 semanas, o paciente teve	Nível de controle dos sintomas da asma		
	Controlado	Parcialmente controlado	Não controlado
Sintomas diurnos de asma mais de duas vezes por semana?	Nenhum desses sintomas	1 a 2 desses sintomas	3 a 4 desses sintomas
Despertar noturno devido à asma			
Necessidade de medicamento para alívio dos sintomas mais de duas vezes por semana?			
Limitação de alguma atividade devido à asma?			

Fonte: Adaptado de GINA, 2016

## **5.8 Classificação quanto ao índice de massa corpórea**

Os pacientes foram classificados quanto a presença ou não de obesidade seguindo os critérios estabelecidos pelas Diretrizes Brasileiras de Obesidade da Associação Brasileira para o Estudos da Obesidade e da Síndrome Metabólica (2009-2010) conforme segue:

- Pacientes com peso normal: IMC entre 18,5 e 24,9 Kg/m<sup>2</sup>.
- Pacientes com sobrepeso: IMC entre 25 e 29,9 Kg/m<sup>2</sup>.
- Pacientes obesos: IMC acima de 30 kg/m<sup>2</sup>.

## **5.9 População do estudo**

Foram incluídos pacientes asmáticos que realizaram a medida da FeNO após atendimento médico em ambulatório especializado em doenças respiratórias na cidade de Goiânia, Goiás, Brasil no período de junho/2013 a dezembro/2014.

### **5.9.1 Critérios de inclusão**

1. Idade acima de 12 anos.
2. Homens e mulheres com sintomas de doença respiratória que procuraram atendimento médico.
3. Ter realizado a FeNO.
4. Ser diagnosticado como asmático.
5. Ter sido classificado quanto ao nível de controle da asma em paciente asmático controlado, parcialmente controlado ou não controlado.
6. Terem recebido atendimento pelo mesmo médico.
7. Terem realizado a medida da FeNO após a consulta médica.

### **5.9.2 Critérios de exclusão**

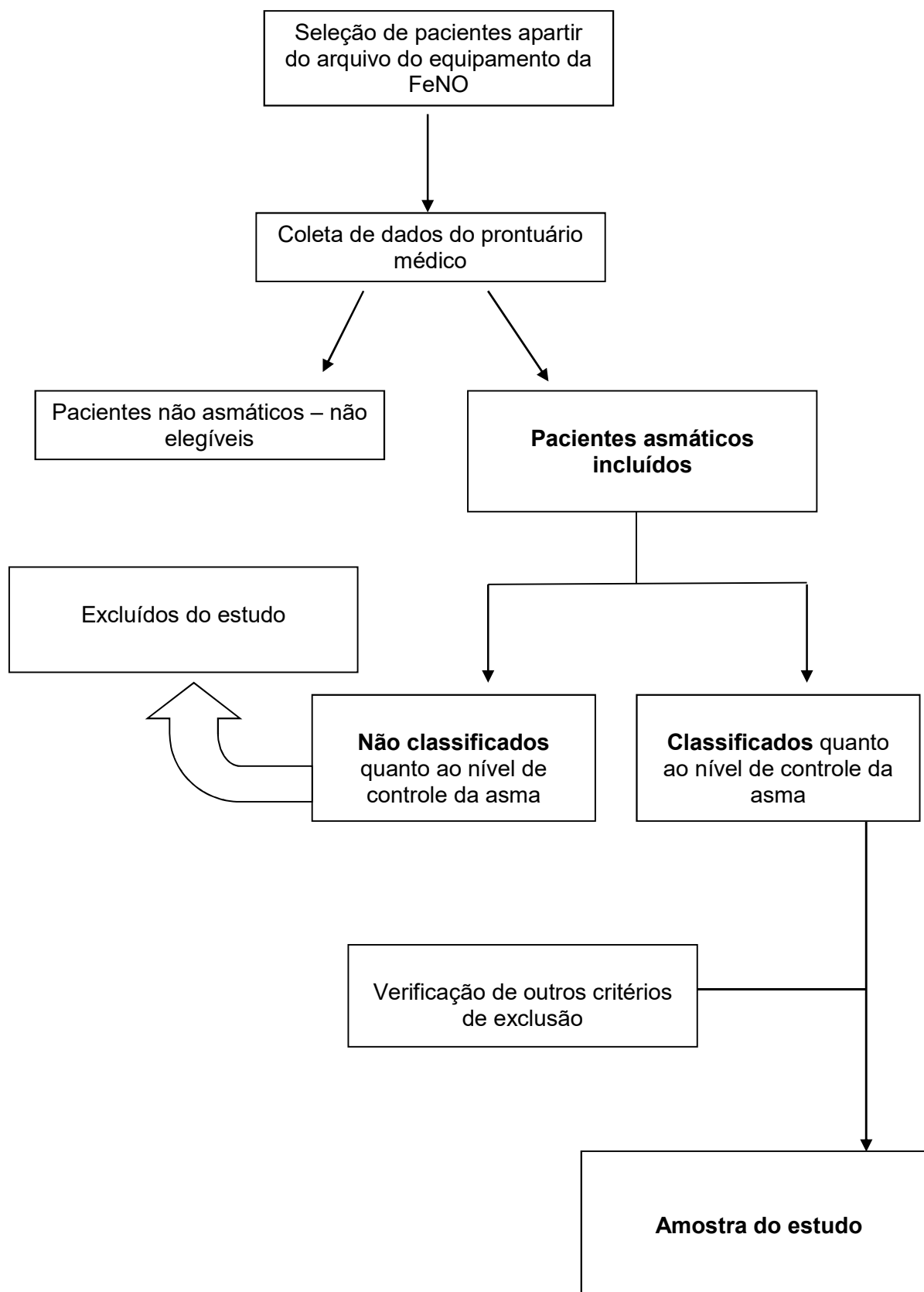
1. Tabagismo atual;

2. Ex-tabagistas com carga tabágica acima de 10 maços/ano.
3. Histórico de doença concomitante respiratória nas 12 semanas anteriores ao atendimento médico (rinite alérgica e atopia, DPOC, bronquite eosinofílica).
4. Mulheres grávidas.
5. Mulheres em período de amamentação.

### **5.10 Desenho do estudo**

Pacientes clinicamente estáveis com idade superior a 12 anos que realizaram dosagem do óxido nítrico exalado entre junho/2013 a dezembro/2014 foram considerados elegíveis para participar do estudo. Após inclusão foram coletados do prontuário médico: sexo, idade, peso, altura, VEF<sub>1</sub> pré prova broncodilatadora (BD) e VEF<sub>1</sub> pós BD, valor da FeNO, status do tabagismo, história de exacerbações e nível de controle da asma. Para padronização do diagnóstico do controle da asma, foram incluídos no estudo somente pacientes que foram atendidos pelo mesmo médico.

A figura 2 representa o fluxograma deste estudo.

**Figura 2 - Fluxograma do estudo**

### 5.11 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Stata/SE® para Windows 64 bits (versão 13.0) e o software SPSS® (versão 23) para Windows 64 bits, utilizando 5% de nível de significância ( $p < 0,05$ ).

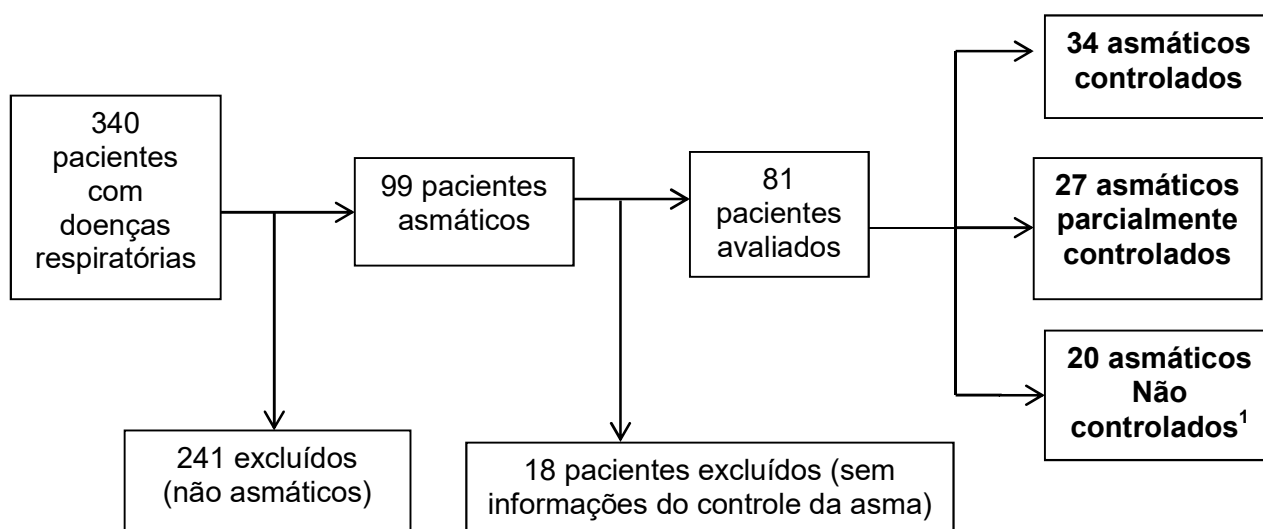
A homogeneidade das variáveis sociodemográficas e antropométricas entre os grupos foi testada com base no teste do Qui-quadrado de Pearson. O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliar a normalidade dos dados. As variáveis quantitativas com distribuição normal foram descritas utilizando média e desvio padrão, as quantitativas que não apresentavam distribuição normal foram descritas utilizando-se mediana e intervalo interquartil e as variáveis qualitativas foram descritas por meio de proporções. As situações em que a hipótese de normalidade dos dados foi satisfeita foram aplicados testes paramétricos (ANOVA) e nas situações em que tal hipótese não foi satisfeita foram realizadas análises não paramétricas (teste de Kruskal-Wallis). Foi realizado teste *post hoc* para todas as comparações estatisticamente significativas e a análise de correlação/regressão linear entre as variáveis FeNO e VEF<sub>1</sub> pré prova broncodilatadora. O ponto de corte da medida do FeNO como preditor de asma não controlada foi calculado usando a curva Receiver Operating Characteristic (ROC).

## 6. RESULTADOS

Foram avaliados para elegibilidade 340 pacientes que realizaram a dosagem do óxido nítrico após atendimento médico devido a sintomas de doença respiratória. Destes 241 (70,8%) não foram incluídos por não apresentar diagnóstico de asma. Dos 99 pacientes incluídos, 18 (18,2%) foram excluídos por não possuírem classificação do controle da asma no prontuário médico. Sendo assim, o estudo para a avaliação da FeNO em relação ao nível de controle da asma foi realizado com a inclusão de 81 pacientes asmáticos classificados quanto ao nível de controle da asma: 34 (42 %) controlados, 27 (33,3 %) parcialmente controlados e 20 (24,7 %) não controlados, sendo 48,1% classificados como baixo (< 25 ppb) e 51,9% classificados como elevado ( $\geq$  25 ppb). Para a avaliação do VEF<sub>1</sub> pré e pós-broncodilatador em relação ao nível de controle da asma foram incluídos 80 pacientes, pois não foram encontrados os dados de espirometria de 1 paciente.

A figura 3 apresenta o desenho da população do estudo.

**Figura 3** - População incluída no estudo de avaliação da FeNO em relação ao nível de controle da asma



1. Para a análise do VEF<sub>1</sub> pré e pós BD 1 paciente não foi incluído nas análises estatísticas devido à ausência dos dados de espirometria.

Seguem na tabela 1 as características clínicas e demográficas dos pacientes incluídos na análise.

**Tabela 1** - Características clínicas e demográficas dos 81 pacientes asmáticos atendidos em clínica na cidade de Goiânia, Goiás, Brasil no período de junho de 2013 a dezembro de 2014.

	<b>Todos Individuos n=81</b>	<b>Grupo Controlado n=34 (42%)</b>	<b>Grupo parcialmente controlado n=27 (33,3%)</b>	<b>Grupo não controlado n=20(24,7%)</b>	<b>p</b>
Sexo (F)	54 (66,7 %)	24 (70,6 %)	17 (63,0 %)	13 (65,0 %)	0,80**
Idade (anos)	48 ±19,4	51,9±18,8	42,5±19,0	48,7±19,8	0,16*
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	27,5±5,9	28,2±5,5	26,6± 5,9	27,5± 6,5	0,60*
FeNO (ppb)	27,0 (14;51)†	18,0 (13;30)†	29,0 (18;44)†	67,5 (33;88)†	0,001***
VEF <sub>1</sub> pré (%)	74,5±19,3	77±16,8	78,4±20,9	64,6 ± 18,7	0,034*
VEF <sub>1</sub> pós (%)	79,2± 18,8	80,9±17,3	82,7±20,1	71,4±18,2	0,105*

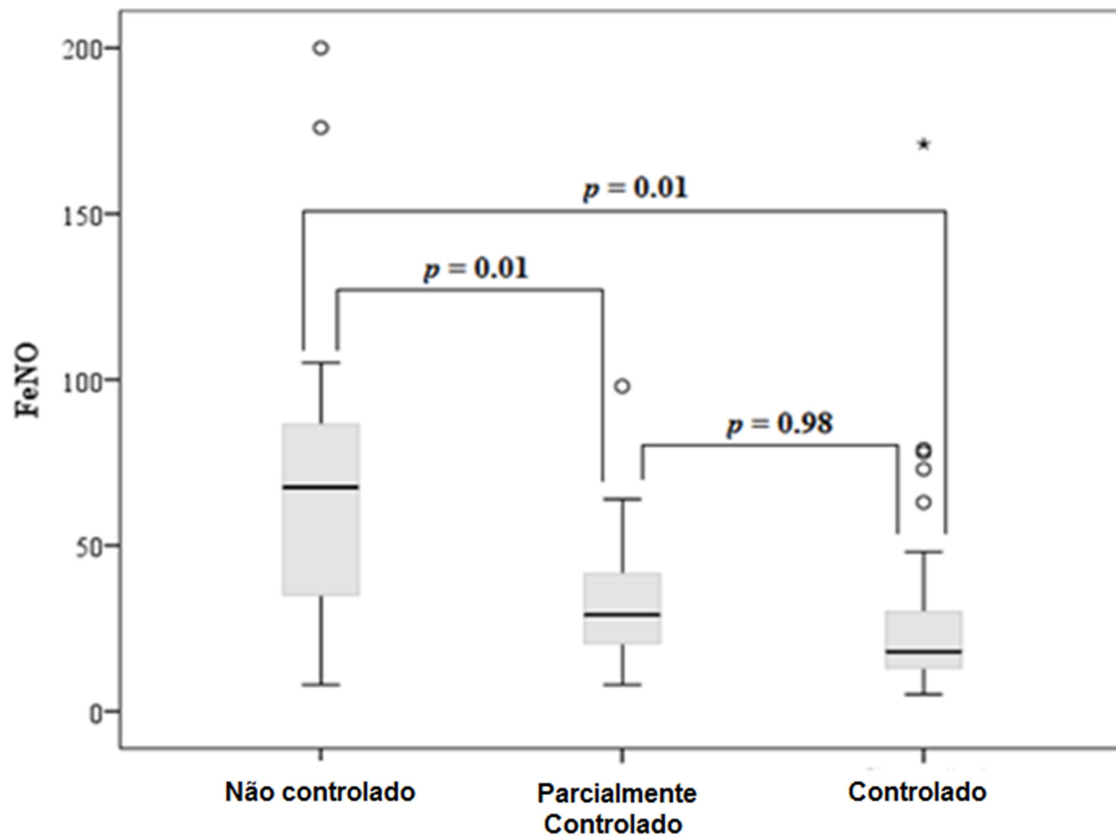
Dados apresentados como n(%), média±DP ou mediana (intervalo interquartil: p25; p75)†. Abreviações: IMC, Índice de Massa Corpórea; FeNO, Fração Exalada de Óxido Nítrico; VEF<sub>1</sub>pre, Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo antes de prova brancodilatadora; VEF<sub>1</sub>pós, Volume Expiratório Forçado após prova brancodilatadora; n, número; ppb, partes por bilhão.

\*ANOVA; \*\*Qui-quadrado; \*\*\*Kruskal-Wallis.

Nível de significância p <0,05.

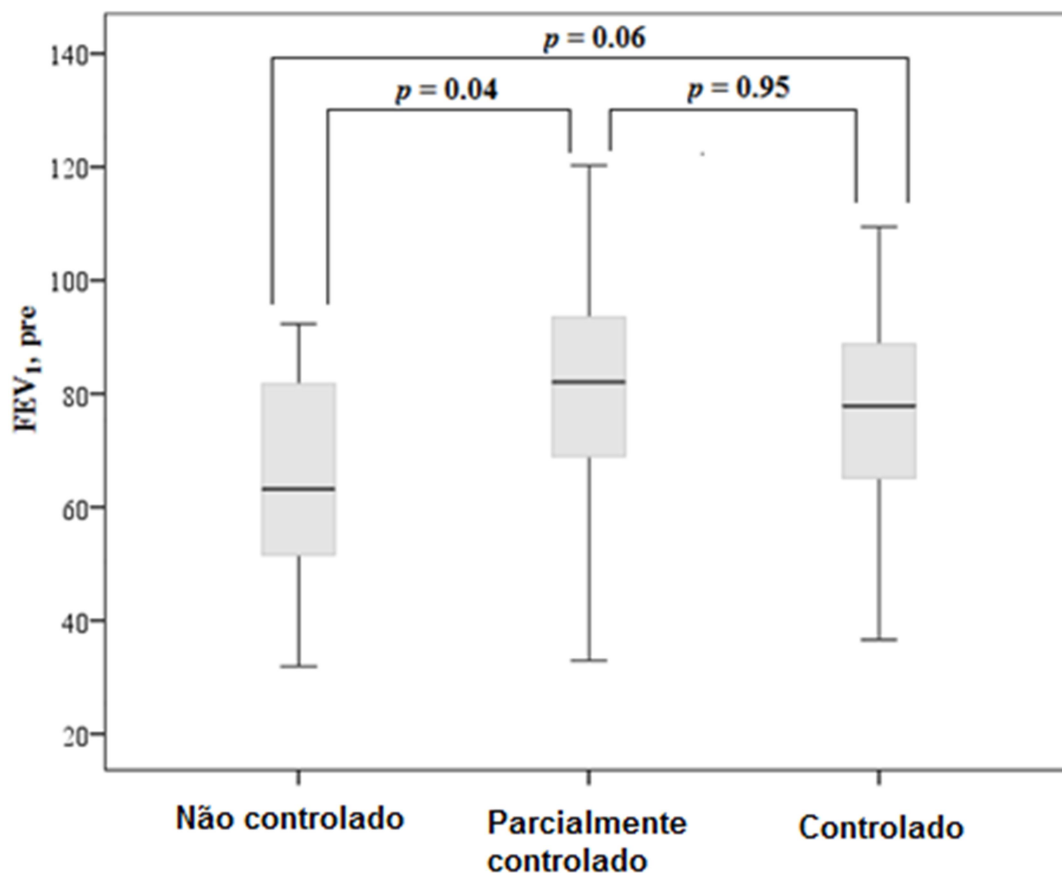
Havia diferença estatisticamente significativa entre os grupos de controle da asma em relação a FeNO e VEF<sub>1</sub> pré BD (Tabela 1). O grupo de pacientes com asma não controlada apresentaram valores da FeNO significativamente maiores que os grupos de asma controlada e parcialmente controlada, porém não foram encontradas diferença dos valores da FeNO entre os grupos de asma controlada e parcialmente controlada (Figura 4). Em relação ao VEF<sub>1</sub> pré BD, somente verificou-se que o grupo não controlado apresentava VEF<sub>1</sub> significativamente menor que o grupo parcialmente controlado, não foram verificadas diferenças estatisticamente significantes entre os valores de VEF<sub>1</sub> em relação aos pacientes com asma controlada quando comparados com aqueles parcialmente controlados ou não controlados (Figura 5). Não foram verificadas diferenças significativas das variáveis VEF<sub>1</sub> pós prova broncodilatadora, idade, IMC e sexo entre os grupos de controle da asma.

**Figura 4** - Valores da FeNO em relação aos pacientes com asma controlada, parcialmente controlada e não controlada.



1. Distribuição dos valores da FeNO em cada nível de controle da asma.
2. Teste de *post hoc* de *Kruskal-Wallis* evidenciou diferença significativa entre os grupos com asma não controlada em relação aos grupos com asma controlada e parcialmente controlada
3. Nível de significância  $p < 0.05$ .

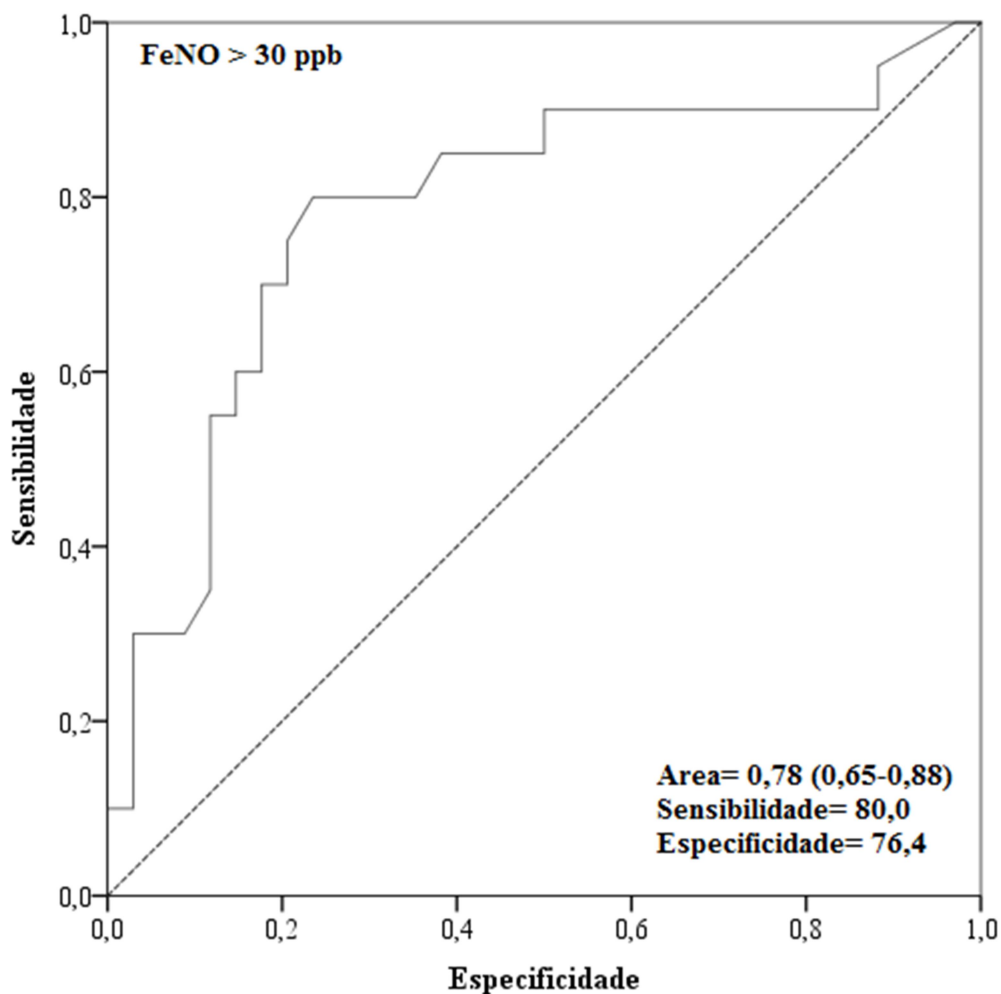
**Figura 5** – Valores do VEF<sub>1</sub> pré BD em relação aos pacientes com asma controlada, parcialmente controlada e não controlada.



1. Distribuição dos valores do VEF<sub>1</sub>pre BD em cada nível de controle da asma.
2. Teste de *post hoc* de Tukey evidenciou diferença significativa entre o grupo com asma não controlada em relação ao grupo com asma parcialmente controlada.
3. Nível de significância  $p < 0.05$ .

Foi gerada a curva Receiver Operating Characteristic (ROC) para prever a identificação de indivíduos não controlados utilizando a medida da FeNO. Comparando a sensibilidade, especificidade, valores preditivos negativo e positivo e a área da curva Receiver Operating Characteristic (ROC), a melhor combinação sem uma significativa perda de sensibilidade foi FeNO > 30ppb. FeNO > 30 ppb apresentou área sob a curva ROC de 0,78 (IC95% 0,65-0,88), especificidade de 76,47% (IC95% 58,8-89,3), sensibilidade de 80% (IC95% 56,3-94,3), LR (+) de 3,40 e LR (-) de 0,26 (Figura 6).

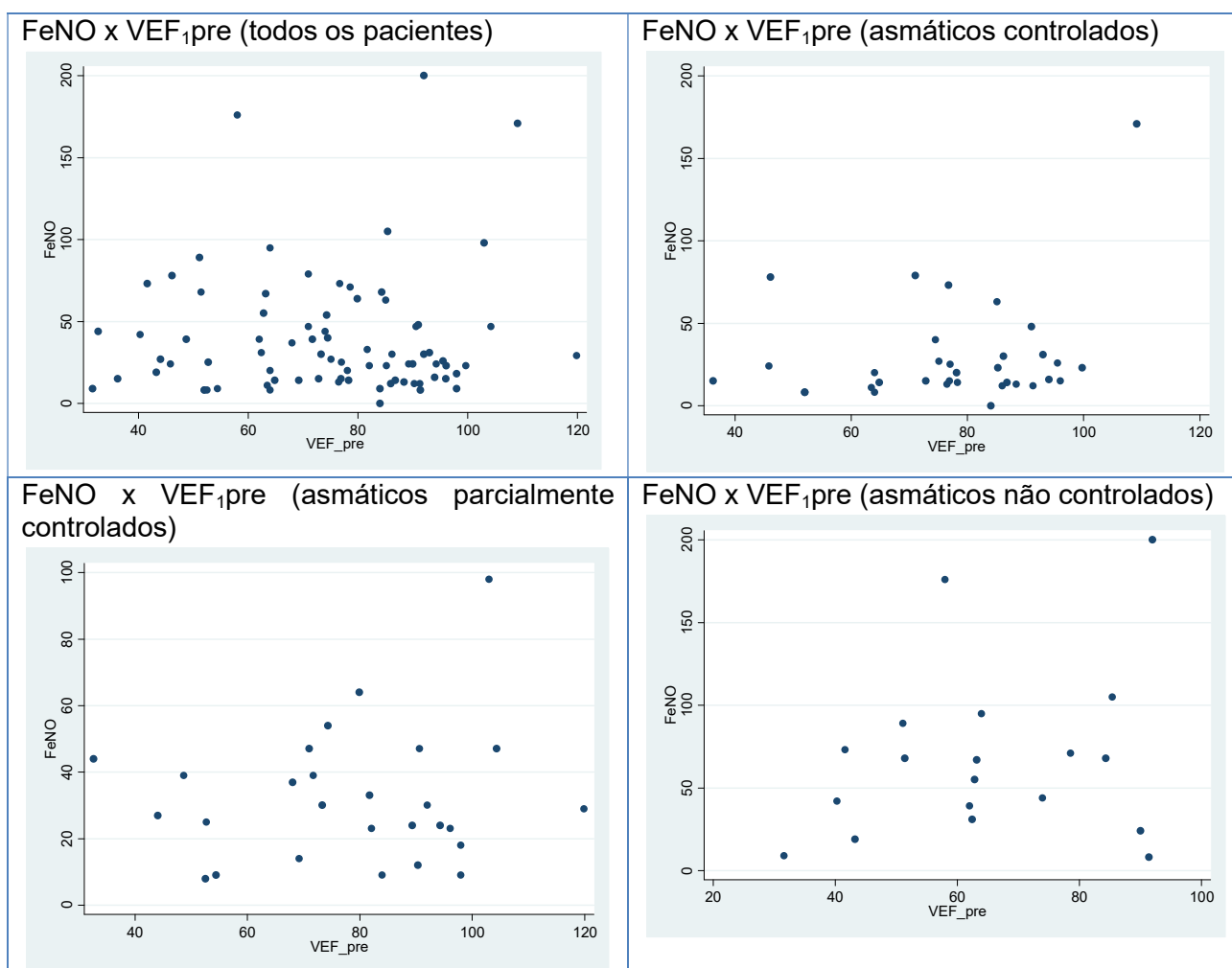
**Figura 6** - Curva ROC da FeNO como preditora do asmático não controlado.



### **Análise de regressão linear entre a FeNO e o VEF<sub>1</sub> pré-broncodilatador**

A análise de regressão foi executada para a FeNO e VEF<sub>1</sub> pré prova broncodilatadora considerando os dados de todos os pacientes independente da situação de controle da asma, e também, para cada um dos grupos considerando o nível de controle da asma. Embora fosse possível supor não haver dependência entre essas variáveis apenas avaliando os gráficos de dispersão (Figura 7), foi avaliada a significância da regressão linear que, além de apresentar baixos valores para os coeficientes de correlação linear ( $r^2 < 6\%$ ), em nenhum dos casos demonstrou significância ( $p\text{-valor} > 17\%$ ). Sendo assim, não foram apresentados os coeficientes da regressão.

**Figura 7** - Gráficos de dispersão da FeNO e VEF<sub>1</sub>pré-broncodilatador nos pacientes avaliados

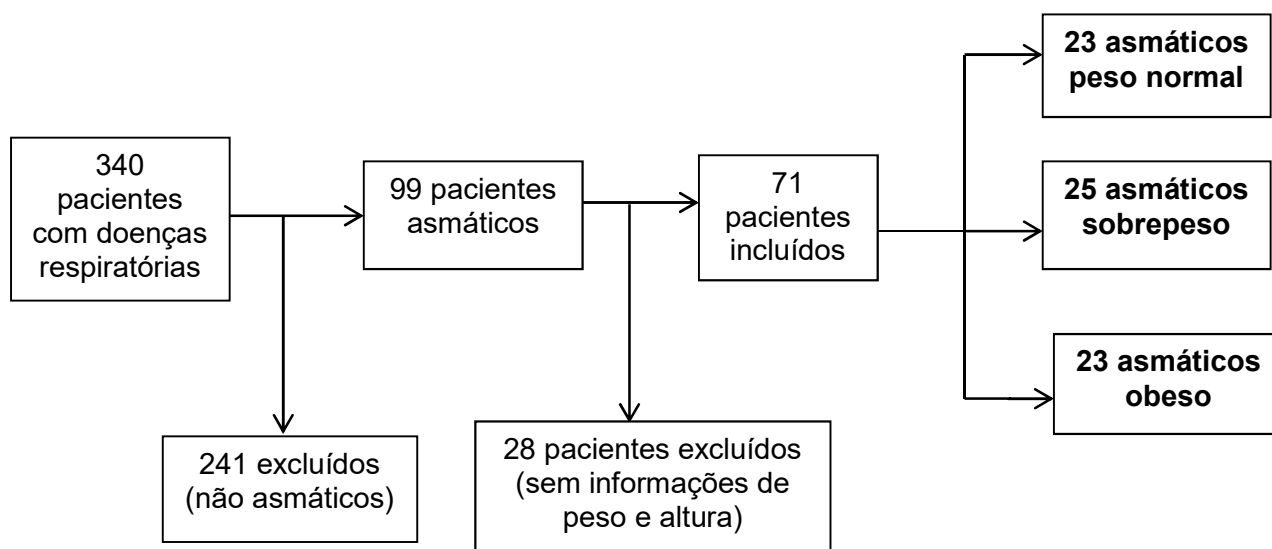


N= 80 pacientes

### FeNO e o Índice de Massa Corpórea

A população incluída na análise estatística para a avaliação da relação entre o IMC e a FeNO foi a mesma utilizada para a avaliação entre a relação da FeNO e o nível de controle da asma, porém apresenta fluxograma diferente do apresentado na figura 2, segue o fluxograma na figura 8. O estudo foi realizado com a inclusão de 71 pacientes asmáticos que apresentaram média de IMC de  $28,00 \pm 5,56 \text{ Kg/m}^2$ . Os pacientes foram classificados quanto ao índice de massa corpórea e apresentaram a seguinte distribuição: 23 (32,4 %) asmáticos com peso normal, 25 asmáticos com sobrepeso (35,2 %) e 23 (32,4 %) asmáticos obesos.

**Figura 8-** População incluída no estudo de avaliação da FeNO em relação ao índice de massa corpórea



Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas para os valores da FeNO entre os grupos de pacientes relacionados ao índice de massa corpórea (tabela 2).

**Tabela 2** - Valores da FeNO distribuídos quanto ao índice de massa corpórea em 71 pacientes asmáticos atendidos em clínica na cidade de Goiânia, Goiás, Brasil no período de junho de 2013 a dezembro de 2014

Grupo	Todos os indivíduos N=71	Média (ppb)	Desvio Padrão	<i>p</i>
Normal	23 (32,4 %)	41,09	46,35	0,680*
Sobrepeso	25 (35,2 %)	36,88	26,57	
Obeso	23 (32,4 %)	32,26	25,62	

\*ANOVA

Nível de significância  $p < 0,05$

## 7. DISCUSSÃO

---

O presente estudo foi motivado pela necessidade da utilização de biomarcadores inflamatórios que garantam uma melhor avaliação do nível de controle da asma baseado no conhecimento da intensidade da inflamação e não somente na sintomatologia do paciente ou nos resultados das provas funcionais podendo, dessa forma, discriminar o paciente controlado, parcialmente controlado e não controlado. A utilização da FeNO como biomarcador inflamatório foi descrita em um estudo que evidenciou correlação positiva em relação a outros marcadores inflamatórios (RAWY, MANSOUR, 2015). Além disso o Guia da ATS (DWEIK *et al.*, 2011) recomenda que tal parâmetro seja utilizado como monitoramento da inflamação das vias aéreas no paciente asmático.

Considerando a FeNO um biomarcador inflamatório das vias aéreas, os resultados do presente estudo confirmam a estreita relação existente entre a inflamação das vias aéreas e o nível de controle da asma onde valores mais altos desse marcador foram associados com o mal controle da doença. Tais resultados corroboram com o achado em um estudo publicado por Ricciardolo e colaboradores (2015) ao verificar se a medida da FeNO poderia ser associada a fatores clínicos e funcionais para avaliação de pacientes asmáticos em uma situação de vida real. Eles também verificaram que a medida da FeNO estava associada com asma não controlada, com um ponto de corte (FeNO > 29,95) e uma área sob a curva ROC (0,70) muito próximo ao encontrado em nossa investigação levantando a possibilidade de que a medida da FeNO pode ser útil para distinguir o paciente não controlado daqueles controlados. Outros autores ao investigar especificamente a associação entre a medida da FeNO e o controle pelo GINA não encontraram associação estatisticamente significativa (MEENA *et al.*, 2016; WAIBEL *et al.*, 2012). Isso poderia ser explicado pela utilização de diferentes grupos de indivíduos, já que esses estudos sem associação utilizaram uma população pediátrica, ao contrário do Ricciardolo e cols que somente incluíram adultos e o presente estudo que incluiu 4% de indivíduos <18 anos. Foi descrito que concordância relacionada ao controle da asma

comparando a informação prestada por adolescentes e seus cuidadores é somente moderada (TIBOSCH *et al.*, 2012), desse modo, é provável que a discrepância entre medidas de controle de asma em crianças decorra de diferenças metodológicas entre os estudos (TIBOSCH *et al.*, 2012; GREEN *et al.*, 2013).

Os resultados desse estudo demonstram que a função pulmonar não é adequada como preditor do controle da asma. Em um estudo que comparou os parâmetros de mudança da FeNO, questionário de controle da asma (ACT) e VEF<sub>1</sub> após a realização de um programa educacional em pacientes asmáticos, demonstrou melhora no controle da asma, diminuição da FeNO e aumento dos “scores” do ACT, porém sem mudança significativa nos valores do VEF<sub>1</sub> (SAITO *et al.*, 2013). A atualização do GINA em 2016 descreve que a função pulmonar não se correlaciona fortemente com sintomas da asma e que a utilização de outros instrumentos de controle são mais importantes do que as provas funcionais (GINA, 2016). Sendo assim, nossos resultados reforçam a superioridade da utilização de marcadores inflamatórios frente às provas funcionais pois essas limitam-se à avaliação do nível de obstrução das vias aéreas, muito importante no diagnóstico da doença, porém de valor questionável na avaliação do controle e decisão da terapia anti-inflamatória.

A utilização da medida do FeNO para o melhor manejo da asma na prática clínica foi evidenciada por vários estudos (DONOHUE, JAIN, 2013; MALINOVCSHI *et al.*, 2014; YOON *et al.*, 2012). Malinovschi e colaboradores em 2014 demonstraram um significativo aumento no controle da doença após o uso de corticosteroides inalatórios durante 6 semanas em pacientes com valores da FeNO elevados ( $\geq 50$  ppb) e intermediários ( $\geq 25$  e  $< 50$  ppb) quando comparados com aqueles com baixo valor da FeNO ( $\leq 25$  ppb) (MALINOVCSHI *et al.*, 2014). Yoon e colaboradores em 2012 em um ensaio randomizado verificou que o tratamento com corticoide inalatório reduz inflamação detectada pela medida da FeNO em pacientes assintomáticos após 6 semanas de tratamento ao contrário do grupo não tratado, em que não houve diferença significativa entre os valores da FeNO pré e pós tratamento (YOON *et al.*, 2012). Uma metanálise verificou que a medida do FeNO tem importância na identificação de pacientes com inflamação das

vias aéreas, que vão, ou não responder aos corticosteroides inalatórios, além de, em conjunto com os parâmetros clínicos, estar associada a redução das taxas de exacerbação no manejo da asma em comparação com o manejo exclusivamente utilizando parâmetros clínicos (DONOHUE, JAIN, 2013). Sua aplicabilidade em situações de vida real é demonstrada por suas características: de muito fácil realização em comparação com biopsia brônquica ou contagem de eosinófilos no escarro, não é invasivo, tem correlação positiva com outros marcadores inflamatórios (RAWY, MANSOUR, 2015). Por esse motivo a ATS recomenda que a medida da FeNO seja utilizada como monitoramento da inflamação das vias aéreas na prática clínica e o American College of Allergy, Asthma and Immunology (ACAAI) e a American Academy of Allergy, Asthma and Immunology (AAAAI) apoiam essas recomendações (Dweik *et al.*, 2011; ACAAI/AAAAI, 2012).

O uso da FeNO na avaliação da inflamação das vias aéreas representa um grande avanço, porém sua utilização na prática médica como instrumento diagnóstico ainda não está bem definida. O GINA (2016) não recomenda a utilização da FeNO como critério de diagnóstico, pois apesar de estar aumentada na asma eosinofílica a mesma também está aumentada em outras condições não asmáticas como na bronquite eosinofílica, na atopia e na rinite alérgica. Além disso, não é recomendada sua utilização como critério de definição de tratamento com corticosteroides inalatórios devido a ausência de estudos de longo prazo que demonstrem a segurança de diminuir ou retirar o tratamento em pacientes asmáticos com baixos valores da FeNO apesar de haver uma boa resposta quando os valores da FeNO estão elevados (acima de 50 ppb). Apesar de diversos estudos evidenciarem a importância do uso da medida da FeNO no manejo do paciente asmático, outros são controversos em relação ao real benefício da sua utilização. Uma metanálise de seis estudos controlados randomizados com o objetivo de avaliar a eficácia do tratamento baseado na medida da FeNO comparado ao tratamento baseado em sintomas clínicos demonstrou que a intervenção baseada na pesquisa de eosinófilos no escarro foi efetivo para a diminuição das exacerbações. Contudo, a intervenção do tratamento baseada na medida da FeNO não demonstrou ser efetivo na melhora dos sintomas clínicos em pacientes adultos e crianças. Nessa meta-análise,

concluiu-se que o uso da FeNO para guiar o tratamento da asma não deve ser usado rotineiramente na prática médica (PETSKY *et al.*, 2012). Outro estudo realizado entre asmáticos e pacientes com rinite demonstrou que os valores da FeNO não foram alterados significativamente após a imunoterapia alérgica, porém foi um estudo conduzido com baixo número de pacientes (COLUMBO *et al.*, 2013). Porém um estudo recente realizado com pacientes asmáticos demonstrou superioridade da FeNO como estratégia de decisão de tratamento reduzindo o uso de medicamentos e mantendo o controle da asma e a qualidade de vida do paciente (HONKOOOP *et al.*, 2014). Assim, é importante a realização de estudos mais robustos relacionados ao uso da FeNO como fator decisório na terapia medicamentosa.

O presente estudo não encontrou diferença significativa nos valores da FeNO em relação ao índice de massa corpóreo (IMC). Apesar da média dos valores da FeNO para os pacientes obesos ter sido menor em relação aos pacientes com peso normal tal valor não foi significativa. Existem muitos resultados conflitantes em relação ao nível inflamatório e o índice de massa corpóreo onde alguns demonstram que a mesma tem sido associada com valores altos da FeNO porém outros estudos demonstram que está associada à valores baixos desse parâmetro (CARPAGNANO, *et al.*, 2008; DEPALO, *et al.*; 2008; MANISCALCO, *et al.*; 2007; BERG, *et al.*, 2011; DE WINTER DE GROOT, *et al.*, 2005). Tais dados precisam ser melhor investigados em estudos multicêntricos, controlados e com maior número de pacientes.

Nossos dados demonstram ainda não haver relação entre a FeNO e o VEF<sub>1</sub>, ou seja, os valores da FeNO foram incapazes de prever a alteração da função pulmonar o que é confirmado em um estudo que demonstrou valores semelhantes da FeNO em pacientes que melhoraram o VEF<sub>1</sub> em pelo menos 5% em comparação com aqueles que não apresentaram melhora (MARTIN *et al.*, 2007). Em outro estudo realizado a medida da FeNO também não correlacionou com as medidas do VEF<sub>1</sub> (LEBLANC *et al.*, 2013). A não dependência dos valores da FeNO e do VEF<sub>1</sub> pode nos levar a inferir que a inflamação seja independente da obstrução das vias aéreas.

Os dados dos estudos publicados vão ao encontro com os resultados apresentados ao longo desse trabalho levando-nos a inferir a extrema

necessidade de utilização de marcadores inflamatórios para a avaliação do nível de controle da asma e sua superioridade frente às provas de função pulmonar. A FeNO demonstrou ser um importante aliado na obtenção desse controle principalmente ao paciente mal controlado visto que nesse grupo de pacientes, apesar dos valores da FeNO estarem alterados de forma significativa em relação aos pacientes controlados, o mesmo não pôde ser observado na prova de função pulmonar, pois nesse caso os valores do VEF<sub>1</sub> não alteraram de forma significativa em relação aos mesmos pacientes controlados. A detecção do descontrole da doença é importante no manejo do paciente asmático sendo que a intervenção precoce pode evitar as exacerbações e, assim, manter o seu controle clínico.

Algumas limitações devem ser consideradas. Seu desenho retrospectivo, realizado em um só centro, com amostra pequena, que está mais propensa à variabilidade, pode ocasionar vieses ocultos, tais como idade, exposição alérgica, dieta, altura e exercícios físicos, além disso não foi avaliada a presença de rinite. Além disso, é possível que outros fatores associados a medida do FeNO (idade, IMC e gênero) poderiam ter sido identificados como influenciadores em um estudo com maior número de indivíduos. No entanto, a capacidade de identificar o “não controle” apesar da amostra relativamente pequena sugere que a inflamação eosinofílica da asma tenha uma magnitude de efeito muito maior que as variáveis antropométricas/demográficas. Outra limitação foi a utilização de uma amostra de ambulatório especializado em doença respiratória, que pode ter introduzido um viés de seleção, já que pacientes atendidos em ambulatórios especializados tendem a apresentar doença mais grave e não representam os pacientes portadores de asma atendidos por um médico generalista.

Os dados apresentados nesse estudo demonstraram a utilidade da FeNO na avaliação do controle da asma e que sua utilização poderia permitir uma caracterização mais completa dos pacientes asmáticos. Estudos prospectivos para determinar e quantificar os benefícios da estratégia de tomada de decisão associando sintomas e medidas da inflamação pela FeNO, e em que subgrupos ou fenótipos essa estratégia seria mais efetiva são necessários para a incorporação da medida do FeNO na prática clínica.

## 8. CONCLUSÃO

---

Esse estudo sinaliza para utilização da medida da FeNO como um biomarcador inflamatório eficiente na discriminação de pacientes com asma controlada, parcialmente controlada e não controlada, sendo que a FeNO foi capaz de identificar asmáticos não controlados. O estudo demonstrou não haver relação entre os valores da FeNO e o índice de massa corpórea e reforçou ainda a falta de correlação entre a função pulmonar e o nível de controle da asma sugerindo que o nível inflamatório das vias aéreas independe da sua obstrução.

## 9. CONSIDERAÇÕES GERAIS

---

- A utilização exclusiva de parâmetros funcionais e clínicos pode não ser suficiente para a avaliação do controle da asma ou da sua perda de controle;
- A utilização da FeNO para guiar o manejo do paciente asmático pode ser útil para evitar tratamentos medicamentosos inadequados;
- A FeNO pode ser utilizada como marcador farmacodinâmico de estudos clínicos de eficácia e segurança de medicamentos.

## 10. REFERÊNCIAS

---

AAAAI/ACAAI Joint Statement of Support of the ATS Clinical Practice Guideline: Interpretation of Exhaled Nitric Oxide for Clinical Applications. <http://www.aaaai.org/Aaaai/media/MediaLibrary/PDF%20Documents/My%20Membership/FeNOJointStatement3-6-12.pdf>. Acesso em: 16 de outubro de 2016.

AMERICAN THORACIC SOCIETY/EUROPEAN RESPIRATORY SOCIETY. ATS/ERS Task force standardisation of lung function testing: Standardisation of spirometry. **Eur. Respir. J.**, v.26, p. 319-338, 2005.

AMERICAN THORACIC SOCIETY/EUROPEAN RESPIRATORY SOCIETY. ATS/ERS Task force standardisation of lung function testing: General considerations for lung function testing. **Eur. Respir. J.**, v.26, p. 153-161, 2005.

AMERICAN THORACIC SOCIETY/EUROPEAN RESPIRATORY SOCIETY. ATS/ERS Task force standardization of lung function testing: interpretative strategies for lung function tests. **Eur. Respir. J.**, v.26, p.948-968, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA - ABESO. Diretrizes brasileiras de obesidade 2009/2010. Disponível em: <http://www.abeso.org.br/>. Acesso em: 10 de julho de 2016.

BJERMER L. *et al.* Current evidence and future reserach needs for FeNO measurement in respiratory diseases. **Respir. Med.**, v. 108, p. 830-841, 2014.

BRASIL. CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Diário Oficial da União, Brasília, 13 de junho de 2013.

BRASIL. CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE. Resolução nº 251, de 07 de agosto de 1997. Diário Oficial da União, Brasília, 23 de setembro de 1997.

[BTS]. British Thoracic Society, Scottish Intercollegiate Guidelines Network. British. Guideline on the Management of Asthma. **Thorax**, v. 58, suppl 1: i1-94, 2003.

CARPAGNANO, G.E. *et al.* Exhaled pH, exhaled nitric oxide, and induced sputum cellularity in obese patients with obstructive sleep apnea syndrome. **Trans. Res.**, v. 151, p. 45-50, 2008.

COLUMBO, M. *et al.* The effect of multiple allergen immunotherapy on exhaled nitric oxide in adults with allergic rhinitis. **Allergy, Asthma & Clinical Immunology.**, v. 9, n. 31, 2013. Disponível em: <http://www.aacjournal.com/content/9/1/31>. Acesso em: 10 de julho de 2016.

CULOTTA E.; KOSHLAND Jr, D.E.. NO News is good News. **Science**, v. 258, n. 5090, p. 1862-1865, 1992. is good news.

DEPALO, A. *et al.* Exhaled NO and iNOS expression. In sputum cells of healthy, obese and OSA subjects. **J. Intern. Med.**, v. 263, p. 70-78, 2008.

DE WINTER DE GROOT, K.M. *et al.* Exhaled nitric oxide: the missing link between asthma and obesity? **J Allergy Clin Immunol**, v. 115, p. 419-420, 2005.

DONOHUE, J.F.; JAIN, N. Exhaled nitric oxide to predict corticosteroid responsiveness and reduce asthma exacerbation rates. **Respir Med.**, v.107, n.7, p. 943—952, 2013.

DWEIK, R.A. *et al.* An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FeNO) for clinical applications. **American Journal of Respiratory Critical Care Medicine**, v. 184, p. 602-615, 2011.

National Asthma Education and Prevention Program. Expert Panel Report 3 (EPR-3): Guidelines for the diagnosis and management of asthma – Summary Report 2007. **J. Allergy Clin Immunol**, v.120, Suppl. 5, S94-S138, 2007.

GELB, A.F. *et al.* Increased nitric oxide concentrations in the small airway of normal subjects. **Chest**, v.139, p. 368-375, 2011.

GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA (GINA): **Global strategy for asthma management and prevention**. Revised 2016, available at: <http://www.ginasthma.org>. Acesso em: 10 de junho de 2016.

GREEN, R.J. *et al.* Disagreement among common measures of asthma control in children. **Chest**, v.143, n.1, p.117-122, 2013.

GUSTAFSSON, L.E. *et al.* Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. **Biochem. Biophys. Res. Commun**, v. 181, n. 2, p. 852-857, 1991.

HALDAR, P. *et al.*, PAVORD ID, SHAW DE, *et al.* Cluster analysis and clinical asthma phenotypes. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 178, p. 218-24, 2008.

HONKOOP, P.J. *et al.* Symptom- and fraction of exhaled nitric oxide-driven strategies for asthma control: A cluster-randomized trial in primary care. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 135, n. 3, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2014.07.016>. Acesso em: 22 de julho de 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Pesquisa Nacional de Saúde 2013: percepção do estado de saúde, estilos de vida e doenças crônicas – Brasil, Grandes Regiões e Unidades da

Federação [Internet]. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; 2014 [acesso em 15 de julho de 2016]. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/PNS/2013/pns2013.pdf>

JONE, S.L.; KITTELSON, J.; COWAN, J.O. The predictive value of exhaled nitric oxide measurement in assessing changes in asthma control. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 164, p. 738-743, 2001.

KIM, H.; MAZZA, J. Asthma. **Allergy, Asthma & Clinical Immunology**, v.7, 2011. Disponível em: <http://www.aacijournal.com/content/7/S1/S2>. Acesso em: 15 de julho de 2016.

LEBLANC, A. *et al.* Quantification of asthma control: validation of the asthma control scoring system. **Allergy**, v. 62, n.2, p.120-125, 2007.

LEBLANC, A. *et al.* Botelho C, Coimvra A, Silva JPM, Castro ED, Cernadas JR. Assessment of asthma control: clinical, functional and inflammatory aspects. **Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.**, v. 45, n. 3, p. 90-96, 2013.

LEVY, M.L., *et al.* International Primary Care Respiratory Group (IPCRG). Guidelines: diagnosis of respiratory diseases in primary care. **Pri Care Respir J**, v. 15, n. 1, p. 20-34, 2006.

MALINOVSKI, A. *et al.* Exhaled nitric oxide levels and blood eosinophil counts independently associate with wheeze and asthma events in National Health and Nutrition Examination Survey subjects. **J Allergy Clin Immunol**, v. 132, n. 4, p. 821-827, 2013.

MALINOVSKI, A. *et al.* FeNO as a predictor of asthma control improvement after starting inhaled steroid treatment. **Nitric Oxide**, v. 40, p. 110-116, 2014.

MALMBERG, L.P. *et al.* Exhaled nitric oxide in healthy nonatopic school-age children: determinants and height-adjusted reference values. **Pediatric Pulmonol**, v. 41, p. 635-642, 2006.

MANISCALCO, M., *et al.* Exhaled nitric oxide in severe obesity: effect of weight loss. **Respir. Physiol. Neurobiol.**, v. 156, p. 370-373, 2007.

MARTIN, R.J. *et al.* The predicting response to inhaled corticosteroid efficacy (Price) trial. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.119, p. 73-80, 2007.

MEENA, R.K. *et al.* Fractional Exhaled Nitric Oxide for Identification of Uncontrolled Asthma in Children. **Indian Pediatr.**, v. 53, n.4, P. 307-310, 2016.

MILLER, M.G. *et al.* National Athletic Trainer's Association position statement: management of asthma in athletes. **J. Athl. Train.**, v. 40, n. 3, p. 224-45, 2005.

[MS] 2016. Ministério da Saúde do Brasil. Departamento de Informática do SUS [homepage on the Internet]. Brasília: DATASUS 2016. Morbidade hospitalar do SUS – por local de internação – Brasil. Consultado em 10 de agosto de 2016 no endereço eletrônico <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/niuf.def>.

OLIN, A.C. *et al.* Height, age, and atopy are associated with fraction of exhaled nitric oxide in a large adult general population sample. **Chest**, v. 130, n. 5, p. 1319-1325, 2006.

OLIVIERI, M. *et al.* Reference values for exhaled nitric oxide (reveno) study. **Respiratory Research**., v. 7, 2006. DOI: 10.1186/1465-9921-7-94.

PAPAKOSTA, D. *et al.* Asthma control test is correlated to FEV<sub>1</sub> and nitric oxide in greek asthmatic patients: influence of treatment. **Journal of Asthma**, v. 48, p. 901-906, 2011.

PETSKY, H.L. *et al.* A systematic review and meta-analysis: tailoring asthma treatment on eosinophilic markers (exhaled nitric oxide or sputum eosinophils). **Thorax**, v. 67, p. 199-208, 2012.

PIJNENBURG, M. W. H.; DE JONGSTE, J.C. Exhaled nitric oxide in childhood asthma: a review. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 38, p. 246-259, 2007.

RAWY, A.M.; MANSOUR, A.I. Fraction of exhaled nitric oxide measurement as a biomarker in asthma and COPD compared with local and system inflammatory maskers. **Egyptioan Journal of Chest Diseases and Tuberculosis**, v. 64, p. 13-20, 2015.

RICCIARDOLO F.L.M. *et al.* Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. **Physiological Reviews**, v. 84, n. 3, p. 731-765, 2004.

RICCIARDOLO, F.L.M. Revisiting the role oxhaled nitric oxide in asthma. **Current Opinion in Pulmonar Medicine**, v. 20, n.1, p.53-59, 2014.

RICCIARDOLO, F.L.M. *et al.* Exhaled nitric oxide in relation to asthma control: a real-life survey. **Allergol Immunopathol (Madr.)**. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.1l1er.2015.05.12>.

ROXO, J. P. F. *et al.* Validação do teste de controle da asma em português para uso no Brasil: validation for use in Brazil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 36, n. 2, p. 159-166, 2010.

SAITO, J. *et al.* Association of asthma education with asthma control evaluated by asthma control test, FEV<sub>1</sub>, and fractional exhaled nitric oxide. **Journal of Asthma**, v. 50, n. 1, p. 97-102, 2013.

[SBPT]. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia para o Manejo da Asma 2012**. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*: 38 (Supl 1): p.S 1-46, 2012.

SCHATZ, M. *et al.* Asthma control test: reliability, validity and responsiveness in patients not previously followed by asthma specialist. **J Allergy Clin Immunol**, v. 117, n. 3, p.549-556, 2006.

SCICHLONE, N. *et al.* Alveolar nitric oxide and asthma control in mild untreated asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 131, n. 6, p. 1513-1517, 2013.

SENNA, G. *et al.* Correlation among FEV<sub>1</sub>, nitric oxide and asthma control test in newly diagnosed asthma. **Allergy**, v. 62, p. 207-212, 2007.

SHIOTA, N. *et al.* Association of airway inflammation with asthma control level evaluated by the asthma control test. **Journal of Asthma**, v. 48, p. 907-913, 2011.

SKINNER, M.S.W. *et al.* The asthma therapy assessment questionnaire (ATAQ) for children and adolescents. **Disease Management**, v.7, n. 4, p.305-313, 2004.

SMITH, A.D. *et al.* Diagnosing asthma: comparison between exhaled nitric oxide measurements and conventional tests. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 169, p 473-478, 2004.

SMITH, A.D. *et al.* Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. **The New England Journal of Medicine**, v. 352, n. 21, p. 2163-2173, 2005.

SOTO-RAMOS, M. *et al.* Fractional exhaled nitric oxide has a good correlation with asthma control and lung function in latino children with asthma. **Journal of Asthma**, v. 50, n.6, p. 590-594, 2013.

STEWART, L.; KATIAL, R.K. Exhaled Nitric Oxide. **Immunol. Allergy Clin. N. Am.**, v. 32, p. 347-362, 2012.

SVERRILD, A. *et al.* Predicting airway hyperreactivity to manitol using exhaled nitric oxide in na unselected sample of adolescentes and young adults. **Respiratory Medicine**, v. 107, p. 150-152, 2013.

TAVARES, M.G.S. Adaptação cultural para a língua portuguesa falada no Brasil do Asthma Control Scoring System – ACSS [dissertação]: um sistema de escore para controle abrangente da asma / Michelle Gonçalves de Souza Tavares; Orientador, Emílio Pizzichini. Florianópolis, SC, 2010. 98 p.

[UATLD]. Union Against Tuberculosis and Lung Diseases. The Global Asthma Report 2011. Paris, France: The International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, 2011.

WAIBEL, V.; ULMER, H.; HORAK, E. Assessing asthma control: symptom scores, GINA levels of asthma control, lung function, and exhaled nitric oxide. **Pediatr Pulmonol.** 2012 Feb;47(2):113-8. doi: 10.1002/ppul.21529. Epub 2011 Aug 24. PubMed PMID: 22241569.

WENZEL, SE. Asthma: defining of the persistent adult phenotypes. **Lancet**, v. 368, n. 9537, p.804-13, 2006;

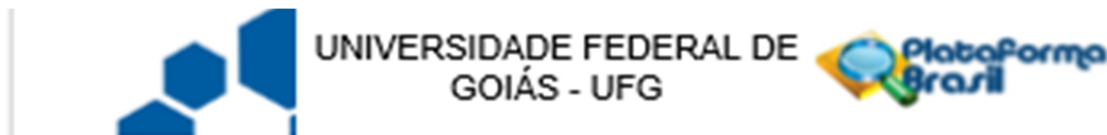
YATES, D.H. Role of exhaled nitric oxide in asthma. **Immunology and Cell Biology**, v. 79, p. 178-190, 2001.

YOON, J.Y. *et al.* Fractional exhaled nitric oxide and forced expiratory flow between 25% and 75% of vital capacity in children with controlled asthma. **Korean J. Pediatr.**, v. 55, p. 330-336, 2012.

ZIETKOWSKI, Z. *et al.* Comparison of exhaled nitric oxide measurement with conventional tests in steroids-naive asthma patients. **J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.**, v. 16, n.4, p. 239-246, 2006.

## 11. ANEXOS

### Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** A associação da medida da fração do óxido nítrico exalado (FeNO) em pacientes asmáticos obesos e não obesos.

**Pesquisador:** Fernanda Cruvinel de Abreu

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 46708815.0.0000.5083

**Instituição Proponente:** Faculdade de Medicina

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.228.483

##### Apresentação do Projeto:

Projeto de Mestrado Intitulado: A associação da medida da fração do óxido nítrico exalado (FeNO) em pacientes asmáticos obesos e não obesos.

CAAE:46708815.0.0000.5083

Pesquisadora Responsável: Fernanda Cruvinel de Abreu

Instituição onde será realizado o estudo: Clínica do Aparelho Respiratório e Medicina do Sono (CLARE)

Data de apresentação ao CEP: 21/08/2015.

Área de conhecimento: Ciências da Saúde.

Financiamento: Próprio

Estudo retrospectivo de caso-controle para comparação dos níveis de FeNO entre indivíduos obesos e não obesos, com idade superior a 12 anos e portadores de tosse (grupo controle) ou asma (grupo de caso) visando determinar se a obesidade pode ser considerada um fator associado a ocorrência de asma, além de seus respectivos níveis de FeNO.

Critérios de Inclusão:

**Endereço:** Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131  
**Cidade:** Campus Samambaia **Cep:** 74.001-970  
**UF:** GO **Município:** GOIÂNIA  
**Telefone:** (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.ppl.ufg@gmail.com



Credenciamento da Pesquisa: 1.228.483

1. Homens e mulheres com sintomas de doença respiratória que procuraram atendimento médico;
2. Ter realizado exame de espirometria;
3. Ter realizado exame de FeNO;
4. Ter sido pesado no dia da realização do FeNO e ter dados do seu índice de massa corpórea (IMC).

**Crerios de Exclusão:**

1. História de doença crônica ou do uso de medicação capaz de alterar a resposta ao estudo;
2. Mulheres grávidas;
3. Pacientes com IMC abaixo de 18 kg/m<sup>2</sup>.

**Objetivo da Pesquisa:**

**OBJETIVO PRIMÁRIO:**

Avaliar o perfil da resposta do FeNO em pacientes asmáticos obesos e não obesos portadores de asma brônquica.

**OBJETIVOS SECUNDÁRIOS:**

- Avaliar o perfil da resposta do FeNO em pacientes asmáticos em uso de corticoides;
- Avaliar o perfil da resposta do FeNO em pacientes asmáticos e em pacientes não asmáticos com espirometria normal (com sintomas de tosse);
- Avaliar o perfil da resposta do FeNO em pacientes não asmáticos fumantes atuais e não fumantes.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**RISCOS:** Esse projeto será realizado por meio de coleta de dados, onde não apresenta riscos aos pacientes.

**BENEFÍCIOS:** Nos últimos anos o uso do FeNO como um potencial biomarcador na avaliação da inflamação das vias aéreas tanto em pacientes com sintomas respiratórios não específicos e aqueles com o diagnóstico de doença respiratória bem estabelecida. Apesar de atualmente existir grandes avanços e inúmeros trabalhos publicados sobre o FeNO e sua relação com as doenças respiratórias, em particular a asma, muito ainda se questiona pois diversos fatores podem interferir nos seus resultados, como peso, altura, uso de tabaco, uso de corticóides inalatórios dentre outros, sendo de extrema importância a realização de pesquisas envolvendo a medida da

**Endereço:** Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131  
**Cidade:** Campus Samambaia **Cel:** 74.001-970  
**UF:** GO **Município:** GOIÂNIA  
**Telefone:** (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** oep.ppi.ufg@gmail.com

fração de óxido nítrico exalado (FeNO) e sua relação em diferentes perfis de pacientes.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Projeto de pesquisa prevê dispensa de TCLE, com a seguinte justificativa: "de acordo com o item IV.8 da Resolução 466/12 a dispensa do TCLE deve ser justificada e solicitada pelo pesquisador responsável pelo estudo. Para o estudo em questão a aplicação de TCLE será dispensada e devidamente justificada ao Comitê de Ética em Pesquisa por tratar de pesquisa retrospectiva através da coleta de dados secundários de prontuários e laudos de exames de pacientes atendidos em clínica. Nessas condições os pesquisadores se comprometem a manter o sigilo e a confidencialidade dos pacientes de forma que nenhuma informação que possa identificá-los. Será divulgada e todas as diretrizes descritas na RE 466/12 e RE 251/97 serão cumpridas".

No primeiro parecer emitido por este CEP, questionou-se o fato de o termo de anuência ser assinado por pesquisador/orientador. A pesquisadora responsável justificou tal fato em função de a Clínica do Aparelho Respiratório e Medicina do Sono (CLARE) ser a única que dispõe de equipamento necessário às análises que serão realizadas no estudo em questão.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O projeto está instruído com os seguintes documentos: Informações Básicas do Projeto; Projeto de Pesquisa; Folha de Rosto; Termo de Anuência; Formulário de Coleta de Dados; Declaração de que a coleta de dados ainda não foi iniciada; Cronograma de Execução; interface REBEC; Justificativa para dispensa de TCLE; Termo de Compromisso dos Pesquisadores; Justificativa de Pendência. O cronograma de execução está adequado e a solicitação de dispensa de TCLE adequadamente justificada.

**Recomendações:**

Conforme pontuado no primeiro parecer, o item benefícios deve refletir de que maneira os indivíduos avaliados e a população em geral poderá se beneficiar com a realização desta pesquisa.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Após análise dos documentos postados somos favoráveis à aprovação smj deste comitê

**Considerações Finais e critério do CEP:**

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa/CEP-UFG considera o presente protocolo APROVADO, o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes. Reiteramos a importância deste Parecer Consubstanciado, e lembramos que o(a) pesquisador(a) responsável deverá encaminhar ao CEP-UFG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência



de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Resolução CNS nº. 466/12. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_22_06_15_.pdf	21/08/2015 12:44:18	Fernanda Crivinel de Abreu	Aceito
Outros	Respostapendencia.pdf	21/08/2015 12:44:42	Fernanda Crivinel de Abreu	Aceito
Folha de Rosto	Folharosto.pdf	21/08/2015 12:43:59	Fernanda Crivinel de Abreu	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_523288.pdf	21/08/2015 12:45:09		Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Aprovação da CONEP:**

Não

GOIANIA, 15 de Setembro de 2015

---

**Assinado por:**  
**João Batista de Souza**  
(Coordenador)

## 12. APÊNDICE

### Apêndice 1 – Cpmprovante de submissão de artigo de periódico ao Jornal Annals of Allergy, Asthma & Immunology

Firefox | Elsevier Editorial SystemTM | ees.elsevier.com/annallergy/default.asp

ANNALS OF Allergy, Asthma & Immunology

Contact us Help ? Alert to Editors: CrossCheck maintenance on Saturday 5 November 2016 ... more

home | main menu | submit paper | guide for authors | register | change details | log out

Username: fernandacruvinel@hotmail.com  
Switch To: Author | Go to: My EES Hub

Version: EES 2016.7

**Submissions Being Processed for Author Fernanda Cruvinel de Abreu, Jr**

Page: 1 of 1 (1 total submissions) Display 10 results per page.

Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Current Status
<a href="#">View Submission</a> <a href="#">Send E-mail</a>		The Fraction Exhaled Nitric Oxide (FeNO) as a biomarker of asthma control	10/30/2016	Submitted to Journal

Page: 1 of 1 (1 total submissions) Display 10 results per page.

<< Author Main Menu

Help | Privacy Policy | Terms and Conditions | About Us

Copyright © 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.  
Cookies are set by this site. To decline them or learn more, visit our Cookies page.

07:44  
01/11/2016

**Apêndice 2 – Artigo de periódico submetido ao Jornal Annals of Allergy, Asthma & Immunology**

**The Fraction Exhaled Nitric Oxide (FeNO) as a biomarker of asthma control**

**Abreu, FC;<sup>1</sup> Silva Júnior, JLR;<sup>2</sup> Rabahi MF<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Faculty of Medicine Universidade Federal de Goiás/UFG, Goiânia, Goiás, Brazil.

<sup>2</sup>University Center Medical School UniEVANGÉLICA, Anápolis, Brazil

Corresponding author:

Fernanda Cruvinel de Abreu

Affiliation: Faculty of Medicine Universidade Federal de Goiás/UFG, Goiânia, Goiás.

Postal address: Rua S-5, n. 581, apt, 303, Setor Bela Vista, Goiânia, Goiás, Brazil

Phone number: +55 62 981026664

Fax number: +55 62 32408700

Email address: fernandacruvinel@hotmail.com

**Keywords:** asthma; FeNO; Nitric Oxide; Asthma Control

**Abbreviations/Acronyms:**ATS, American Thoracic Society

FeNO, fraction exhaled nitric oxide; ROC, receiver operating characteristic.

**Abstract**

**Background:** The main goal of asthma treatment is to achieve and maintain clinical control of the disease. The exhaled fraction nitric oxide (FeNO) level is a biomarker of T-helper cell type (Th2) inflammation of the airways.

**Objective:** To determine whether the FeNO level can be used to discriminate between patients with controlled, partially controlled and uncontrolled asthma.

**Methods:** The FeNO level and asthma control were evaluated in a retrospective and analytic cross-sectional study through data collected from asthmatic patients who were assessed by clinical history, asthma control, physical examination, spirometry, and FeNO level. Asthma con

trol was determined by the criteria of the Global Initiative for Asthma, and classified as controlled asthma, partially controlled asthma, and uncontrolled asthma. The FeNO values were classified as low (<25 ppb) or intermediate/high ( $\geq 25$  ppb), based on the American Thoracic Society recommendations.

**Results:** The symptoms of 81 asthmatic patients were classified as controlled (34 [42%] patients), partially controlled (27 [33.3%] patients), and uncontrolled (20 [24.7%] patients). The FeNO level discriminated between the uncontrolled and controlled groups ( $P = 0.01$ ) and between the uncontrolled and partially controlled groups ( $p = 0.01$ ), but not between the controlled and partially controlled groups ( $P = 0.98$ ). An FeNO level  $>30$  ppb was associated with uncontrolled asthma ( $P = 0.0001$ ) with an area under the receiver operating characteristic curve of 0.78 (95% confidence interval, 0.65-0.89).

**Conclusion:** The FeNO level aided the identification of uncontrolled asthma. This measurement may can be helpful in determining asthma control.

## Introduction

The primary goal of asthma treatment is to achieve control of the disease so that its manifestations are suppressed spontaneously or by treatment.<sup>1,2</sup> There is no gold standard to measure the clinical management of asthma. However, functional parameters, evaluation questionnaires of symptoms, airway hyperresponsiveness, and biomarkers of airway inflammation are among the available and validated markers used to evaluate the severity of asthma and are potential ways to monitor disease control. The Global Initiative Guide for Asthma (GINA) recommends symptom assessment questionnaires and spirometry as conventional tests for asthma management because of the ease of implementation and because they are indirect markers of inflammation.<sup>3,4</sup> Besides these instruments, the level of asthma control can be assessed by the following four GINA criteria, based on symptoms experienced in the preceding 4 weeks: frequency of asthma symptoms, nighttime awakenings due to asthma, limitation of activities, and the need to use drugs for symptom relief. These factors allow asthma to be classified into three distinct groups: controlled asthma, partially controlled asthma, and uncontrolled asthma.<sup>2</sup>

In recent years, new tools for asthma assessment have been developed. Among them, measurement of the fraction exhaled nitric oxide (FeNO) level has attracted interest because it is an easy technique to use, it provides immediate results, it is noninvasive, and it is a reproducible biomarker of airway inflammation in asthma. Many studies have been conducted to verify the possibility of using the FeNO level as an evaluation tool of asthma control and pulmonary function tests for the management of asthmatic patients.<sup>3-9</sup>

There are major developments related to FeNO and its relationship with airway inflammation; however, its ability to predict asthma control remains unclear.<sup>10</sup> For this reason, this study aimed to verify whether the FeNO level discriminates between patients with uncontrolled asthma, partially controlled asthma, and uncontrolled asthma.

## **Methods**

### **Study Population**

Eighty-one asthmatic patients were included in the study. Their FeNO levels were measured after they underwent a medical evaluation at an outpatient clinic specializing in respiratory diseases in the city of Goiânia, Goiás, Brazil. They were evaluated in the clinic from June 2013 to December 2014. The consent form was not required by the Research Ethics Committee because it is a retrospective study.

### **Study Design**

The present study is an analytical and retrospective cross-sectional study. Patients were eligible to participate if they had their levels of exhaled nitric oxide measured from June 2013 to December 2014. The inclusion criteria were as follows: (1) patients who had a clinical diagnosis of asthma and (2) patients who had undergone pulmonary function tests. After inclusion in the study, the following data were collected from the medical records: sex, age, weight, height, forced expiratory volume after 1 sec (FEV<sub>1</sub>) prebronchodilator (pre-BD) and FEV<sub>1</sub>postbronchodilator (post-BD), FeNO level, clinical diagnosis, smoking status, exacerbation history, and level of asthma control before the doctor had access to the FeNO results. The following factors were the exclusion criteria: smoking activity, presence of respiratory viral infection or other acute respiratory concomitant disease in the 12 weeks before medical care, pregnancy, or breastfeeding. To standardize the diagnosis of asthma control,

only patients who were treated by the same physician were included in the study.

### **Measurement of the Fraction Exhaled Nitric Oxide Levels and Pulmonary Function Test**

Before a patient underwent any forced expiratory maneuvers, the FeNO level was measured using a daily calibrated chemiluminescence portable analyzer (NIOX MINO; Aerocrine AB, Solna, Sweden) and expressed in parts per billion (ppb). The values of FeNO were categorized by an ordinal measurement scale and classified as low or intermediate/high (low, <25ppb; intermediate/high, ≥25ppb), based on the American Thoracic Society (ATS) criteria.<sup>10</sup> The procedure was performed using a nose clip. The patient exhaled air from the lungs for 10 seconds at a constant flow rate of 50 mL/s. Spirometry was performed using a calibrated spirometer (Easyone; nddMedizintechnik AG, Zurich, Switzerland), based on the American Thoracic Society and European Respiratory Society criteria.<sup>11-13</sup>

### **Asthma Control**

The level of asthma control was assessed by a medical evaluation before a patient underwent FeNO level measurements and spirometry tests. The GINA criteria were used in which patients were evaluated for symptoms they experienced in the preceding four weeks by the following factors: weekly frequency of asthma symptoms, nocturnal awakening, limitation in their activity due to asthma, and weekly need of medication for symptom relief. The patients' asthma symptoms were classified as controlled when they had none of the four criteria; as partially controlled when they had one or two of the four criteria, and as uncontrolled when they had three or more of the four criteria.<sup>2</sup>

### **Statistical Analysis**

Statistical analyses were performed using Stata/SE software for 64-bit Windows (version 13.0; StataCorp, College Station, TX, USA) and SPSS software (version 23) for Windows 64-bit. A significance level of  $P < 0.05$  was used.

The Pearson's chi-square test was used to assess homogeneity of the sociodemographic and anthropometric variables between groups. The Shapiro–Wilk test was used to assess the normality of the data. Quantitative variables

with normal distribution were expressed as the mean and standard deviation, quantitative variables with non-normal distribution were expressed as the median and interquartile range, and qualitative variables were expressed using proportions. For situations in which this hypothesis was satisfied, parametric tests were applied (i.e., analysis of variance [ANOVA]). For situations in which the hypothesis was not satisfied, nonparametric tests (e.g., the Kruskal–Wallis test) were performed. A *post-hoc* test was conducted for all statistically significant comparisons and a correlation/regression analysis was conducted between the variables, FeNO level, and FEV1pre-BD. The cutoff point of the FeNO measurement as the uncontrolled asthma predictor was calculated using the receiver operating characteristic (ROC) curve.

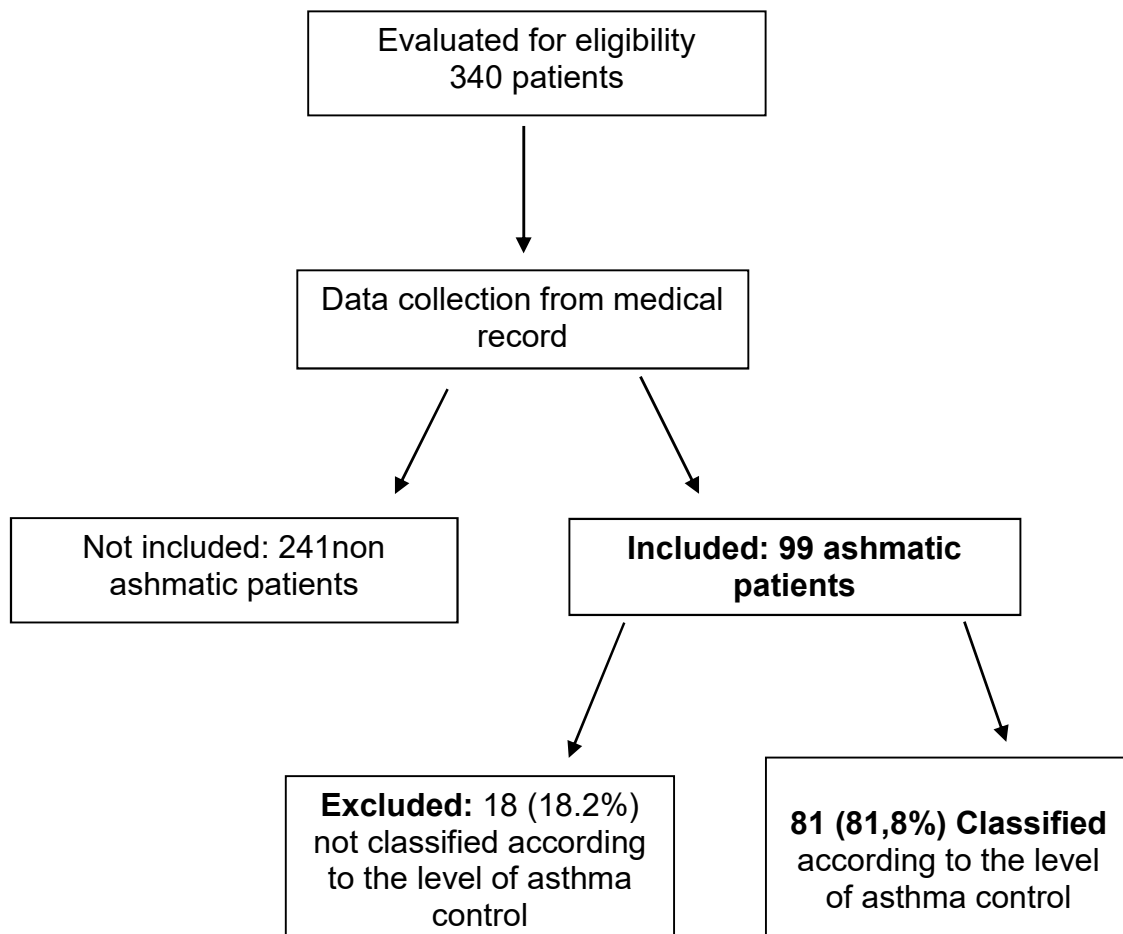
### **Ethical Aspects**

The study was conducted in accordance with the Good Clinical Practice (ICH-G6; ICH, Geneva, Switzerland) and was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Goiás (Goiânia, Brazil) under approval number 1228483.

### **Results**

From June 2013 to December 2014, 340 patients performed FeNO level measurements in the outpatient clinic specializing in respiratory diseases, and were assessed for eligibility. Of these patients, 241 (70.8%) patients were excluded for not presenting with a diagnosis of asthma. Of the 99 included patients, 18 (18.2%) patients were excluded for not having the asthma classification described in their medical records (Figure 1).

**Figure 1 - Flowchart**



The 81 asthmatic patients included in the study were  $48.0 \pm 19.4$  years old. There was a predominance of female patients (54 [66.7%] women) in the patient sample, and a predominance of women in the partially controlled and uncontrolled groups (54 [66.7%]) (Table1). The values for the FeNO level was low (i.e., <25 ppb) for 39 (48.1%) individuals and intermediate/high (i.e.,  $\geq 25$  ppb) for 42 (51.9%) individuals.

**Table 1.** Clinical and Demographic Characteristics of 81 Asthmatic Patients Evaluated in an Outpatient Clinic in the City of Goiânia, Goiás, Brazil from June 2013 to December 2014

	All participants n=81	Controlled group n=27(33.3%)	Partially controlled group n=34(42%)	Uncontrolled group n=20(24.7)	<i>p</i>
<b>Sex</b>					
Female	54 (66.7 %)	24 (70.6 %)	17 (63.0 %)	13 (65.0 %)	0.80**
Male	27 (33.3 %)	10 (29.4 %)	10 (37.0 %)	7 (35,0 %)	
Age (Y)	48 ±19.4	51.9±18.8	42.5±19.0	48.7±19.8	0.16*
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.5±5.9	28.2±5.5	26.6± 5.9	27.5± 6.5	0.60*
FeNO (ppb)	27.0 (14;51)†	18.0 (13;30)†	29.0 (18;44)†	67.5 (33;88)†	0.001***
FEV <sub>1,pre</sub> (%)	74.5±19.3	77±16.8	78.4±20.9	64.6 ± 18.7	0.034*
FEV <sub>1,post</sub> (%)	79.2± 18.8	80.9±17.3	82.7±20.1	71.4±18.2	0.105*

The values are expressed as the mean ± the standard deviation, unless otherwise indicated.

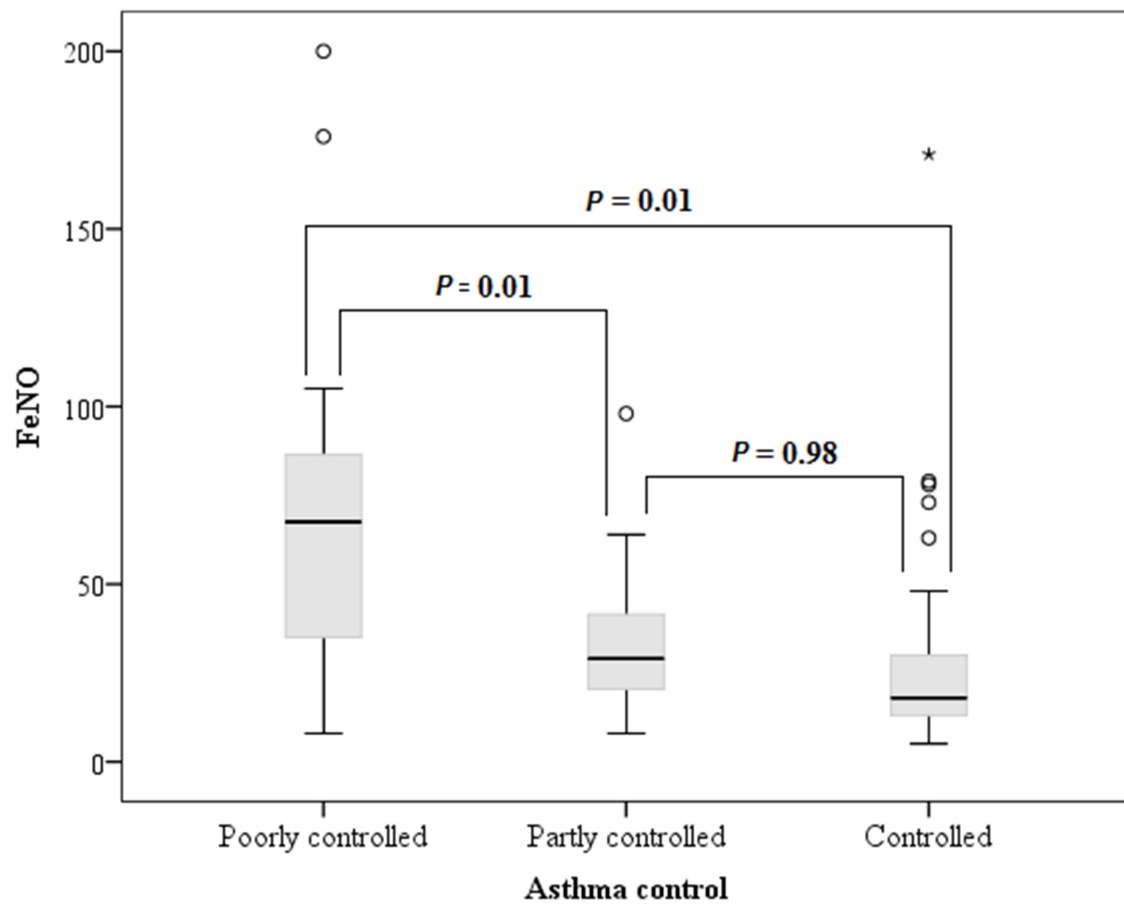
†The values are expressed as the median (interquartile range: p25, p75).

\* Indicates statistical significance ( $P < 0.05$ ).

Abbreviations: BMI, body mass index; FeNO, fraction exhaled nitric oxide; FEV<sub>1,post</sub>, forced expiratory volume in 1 second after bronchodilator treatment; FEV<sub>1,pre</sub>, forced expiratory volume in 1 second before bronchodilator treatment; n, number; ppb, parts per billion.

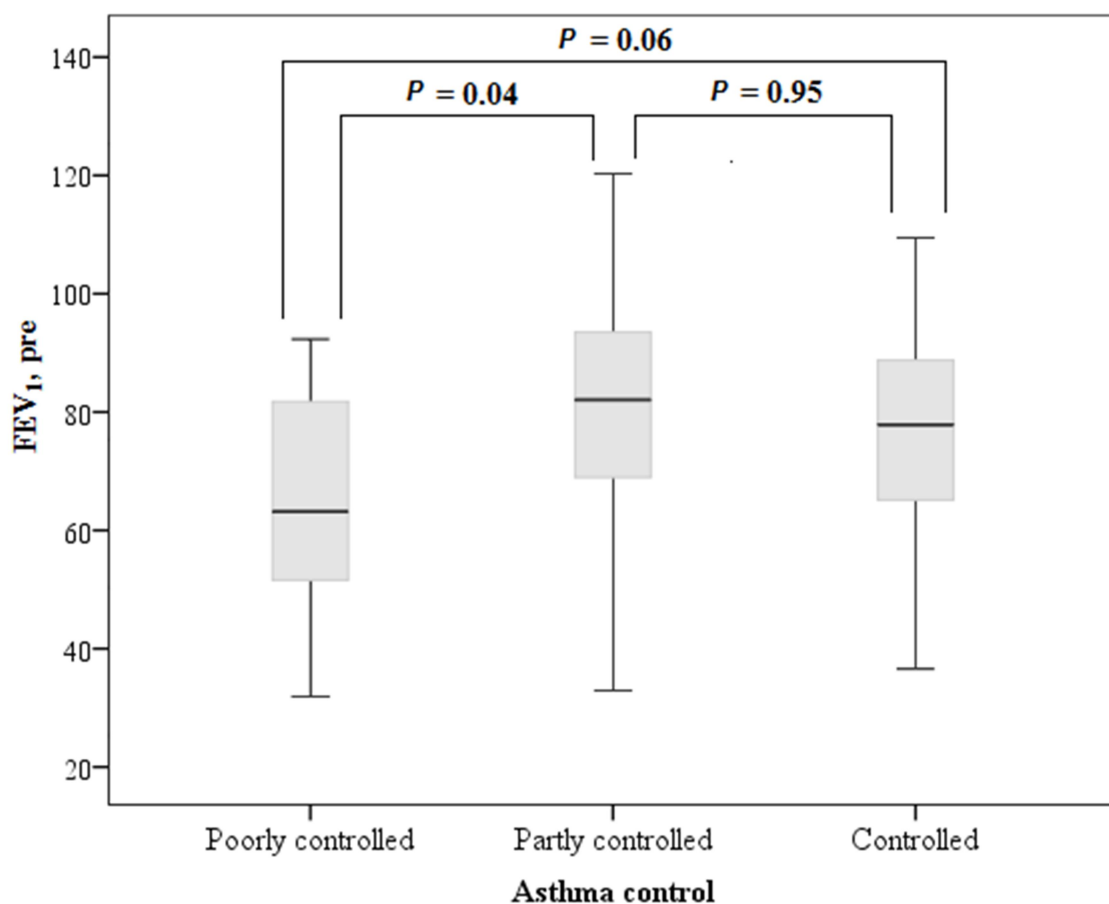
There was a statistically significant difference between the groups with regard to the FeNO level and FEV<sub>1</sub> pre-BD values (Table 1). The uncontrolled asthma group had significantly higher FeNO levels than the controlled asthma and partially controlled groups. However, there was no difference in the FeNO values between the controlled asthma group and the partially controlled asthma group (Figure 2). With regard to FEV<sub>1</sub> pre-BD, only the uncontrolled group had a significantly lower FEV<sub>1</sub>, compared to the partially controlled group (Figure 3). There were no significant differences in age, sex, and body-mass index between groups.

**Figure 2.** Comparison of the fraction exhaled nitric oxide (FeNO) values of patients with controlled, partially controlled, and uncontrolled asthma.



The significance level is  $P < 0.05$

**Figure 3.** Comparison of the FEV<sub>1</sub> pre-BD between patients with controlled, partially controlled and uncontrolled asthma.



$P < 0.05$  indicates significance.

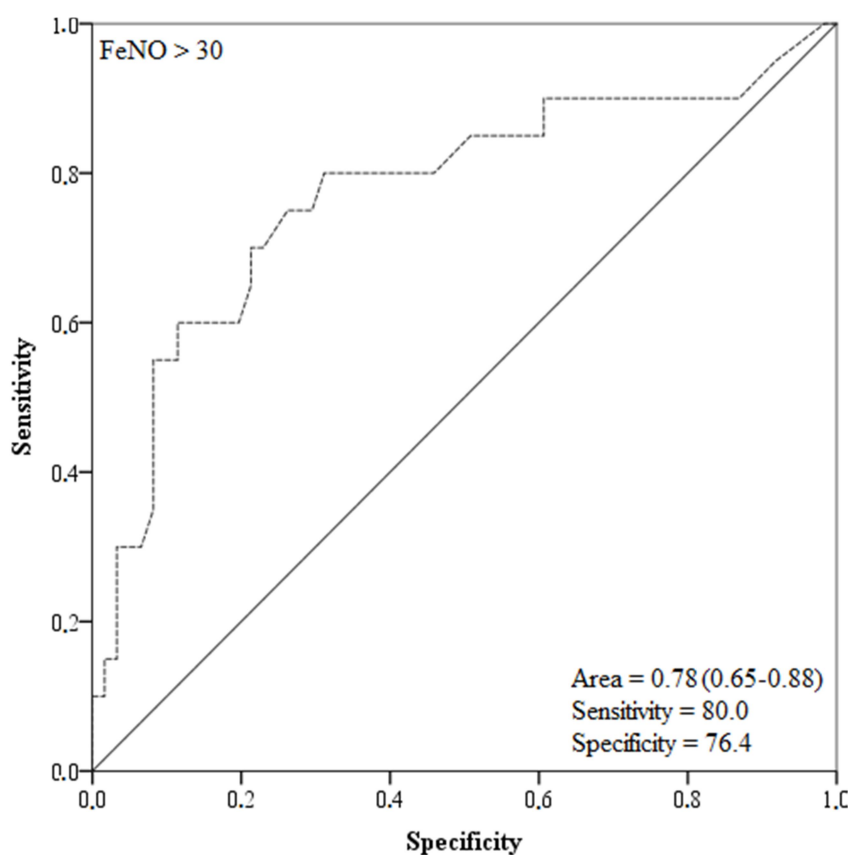
FEV<sub>1</sub> pre-BD, forced expiratory volume (1 second) before bronchodilator administration.

To evaluate the relationship between FeNO and FEV<sub>1</sub>, regression analysis was performed for all patients with and without regard to their level of asthma control. The analysis showed low linear correlation coefficient values ( $r^2 < 6\%$ ), which were not statistically significant.

An ROC curve was generated to predict the identification of uncontrolled individuals using the measurement of exhaled nitric oxide. On comparing the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values, and area of the ROC curve, the best combination without a significant loss of sensitivity was an FeNO level  $>30$ ppb. The FeNO value of  $>30$ ppb presented an area under the ROC curve of 0.78 (95% confidence interval [CI], 0.65-0.88), specificity of

76.47% (95% CI, 58.8-89.3), sensitivity of 80% (95% CI, 56.3-94.3), positive likelihood ratio (+) of 3.40 and negative likelihood ratio of 0.26 (Figure 4).

**Figure 4** - The receiver operating characteristic curve of the fraction exhaled nitric oxide (FeNO) level as a predictor of uncontrolled asthma.



## Discussion

This study indicated that, as a predictor of uncontrolled asthma, the FeNO level can be used to identify the level of asthma symptom control, based on the GINA recommendations. Inadequate symptom control is strongly associated with a high risk of exacerbation<sup>2</sup>; therefore, this finding corroborated that the asthma control measured by symptoms reflects the level of eosinophilic airway inflammation.

However, this management-based approach toward symptoms recommended by GINA, which focuses on a direct relationship between eosinophilic inflammation and respiratory symptoms, may be insufficient to manage asthma. There may be a discrepancy between these two factors because of inaccurate reporting of symptoms and because of different types of

phenotypes.<sup>14,15</sup> Within this gap of different asthma phenotypes and the implications for treatment,<sup>16</sup> exhaled nitric oxide level measurements can be used. When considered in the overall evaluation of control for treatment and management of asthmatic patients, this value could identify discordant subgroups that the GINA criteria would inadequately identify. Better identification of these patients would result in better asthma control and would reduce costs by the withdrawal of unnecessary asthma control medications<sup>17</sup> and by reducing exacerbations.<sup>18</sup> The proportion of individuals who would benefit by including the measurement of FeNO can be raised. In an observational study<sup>19</sup> with a small sample, the estimation of airway inflammation, based on clinical data, was correct in only 50% of patients, and the FeNO results altered the therapeutic decision in more than one-third of patients.

Ricciardolo and colleagues verify whether the FeNO measurement could be associated with clinical and functional factors for the evaluation of asthmatic patients in a real-life situation. They also verified that the measurement of FeNO was associated with uncontrolled asthma at the cutoff point of FeNO>29.95 ppb and an area under the ROC curve of 0.70.<sup>20</sup> This value was very close to the value in our investigation. Other authors that specifically investigated the association between the FeNO measurement and asthma control, based on the GINA criteria, found no statistically significant difference.<sup>21,22</sup> This discrepancy could be explained by the use of different groups of individuals: these unassociated studies used a pediatric population, whereas Ricciardolo and colleagues<sup>15</sup> included only adult patients and the present study included only 4% of individuals who were younger than 18 years. The agreement with regard to asthma control is only moderate when the information provided by adolescents and their caregivers are compared<sup>23</sup>; therefore, it is likely that the discrepancy between asthma control measures in children results from methodological differences between studies.<sup>24</sup>

The results of this study demonstrated that lung function is an inadequate tool for predicting asthma control. A study<sup>4</sup> that compared the change in FeNO parameters, asthma control questionnaire (ACT) score, and FEV<sub>1</sub> levels after completion of an educational program in asthmatic patients showed improved asthma control, decreased FeNO levels, and increased ACT scores. However,

there was no significant change in the FEV<sub>1</sub> values. The updated GINA guidelines in 2016 report that lung function is not strongly correlated with symptoms of asthma and that the use of other instruments of control are more important than the functional tests. Thus, our results reinforce the superiority of using inflammatory markers with functional tests. Functional tests are limited to assessing the level of airway obstruction and are very important in the diagnosis of the disease; however, they are of questionable value in asthma control evaluation and decision anti-inflammatory therapy.<sup>2</sup>

The use of FeNO measurement for improving the management of asthma in clinical practice has been evidenced in several studies.<sup>25,26,27</sup> In 2014, Malinowski and colleagues<sup>26</sup> demonstrated a significant increase in disease control after the use of inhaled corticosteroids for 6 weeks in patients with high FeNO values ( $\geq 50$  ppb) and intermediate FeNO values ( $\geq 25$  ppb and  $< 50$  ppb), compared to patients with low FeNO values ( $\leq 25$  ppb). Yoon and colleagues<sup>27</sup> in a randomized trial found that inhaled corticosteroid treatment reduced inflammation, as detected by the measurement of FeNO, in asymptomatic patients after 6 weeks of treatment, compared to the untreated group; they found no significant difference between the pretreatment and post treatment values of FeNO. A meta-analysis study<sup>25</sup> found that the measurement of exhaled nitric oxide was important in identifying patients with airway inflammation, who did or did not respond to inhaled corticosteroids, and with the clinical parameters to be associated with reducing the exacerbation rates, compared to management using exclusively clinical parameters. The measurement of exhaled nitric oxide is applicable in real-life situations because of the following features: the measurement is very easily performed, compared to bronchial biopsy or eosinophil counts in sputum; it is noninvasive; and it is positively correlation with other inflammatory markers.<sup>28</sup> For this reason, the ATS recommends measuring the FeNO level to monitor airway inflammation in clinical practice,<sup>10</sup> and the American College of Allergy, Asthma and Immunology (Arlington Heights, IL, USA) and the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology (Milwaukee, WI, USA) support these recommendations.<sup>29</sup>

The study had several limitations. Hidden biases may have been caused by its retrospective design; by having been conducted at only one center; and

its small sample, which is more prone to variability. Another limitation was the use of a specialized clinic sample in respiratory disease, which may have introduced a selection bias because patients at specialized outpatient clinics tend to have more severe disease and do not represent patients with asthma evaluated by a general practitioner.

The data presented in this study demonstrate the utility of FeNO level measurements in assessing asthma control and that using this measurement would allow a more complete characterization of asthmatic patients. Prospective studies are needed to determine and quantify the benefits of a decision-making strategy incorporating symptom assessment and measures of inflammation, based on the FeNO level, and to determine which subgroups or phenotypes this strategy would be more effective in clinical practice.

## References

1. [SBPT]. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia para o Manejo da Asma 2012. J Bras Pneumol: 38 (Supl 1): p.S 1-46, 2012.
2. Global Initiative for Asthma (GINA): Global strategy for asthma management and prevention. Revised 2016, available at: <http://www.ginasthma.org>. Accessed June 10, 2016.
3. Leblanc A, Botelho C, Coimvra A, Silva JPM, Castro ED, Cernadas JR. Assessment of asthma control: clinical, functional and inflammatory aspects. Eur Ann Allergy Clin Immunol. 2013; 45: 90-96.
4. Saito J, Sato S, Fukuhara A, et al. Association of asthma education with asthma control evaluated by asthma control test, FEV<sub>1</sub>, and fractional exhaled nitric oxide. J Asthma. 2013; 50: 97-102.
5. Soto-Ramos M, Castro-Rodríguez JA, Hinojos-Gallardo LC, et al. Fractional exhaled nitric oxide has a good correlation with asthma control and lung function in latino children with asthma. J Asthma. 2013; 50: 590-594.
6. Shiota N, Yokoyama A, Haruta Y, Hattori N, Kohno N. Association of airway inflammation with asthma control level evaluated by the asthma control test. J Asthma. 2011; 48: 907-913.
7. Ricciardolo FLM. Revisiting the role oxhaled nitric oxide in asthma. Curr Opin Pulm Med. 2014; 20: 53-59.

8. Papakosta D, Latsios D, Manika K, Porpodis K, Kontakioti E, Gioulekas D. Asthma control test is correlated to FEV<sub>1</sub> and nitric oxide in greek asthmatic patients: influence of treatment. *J Asthma*. 2011; 48: 901-906.
9. Scichilone N, Battaglia S, Taormina S, Modica V, Pozzecco E, Bellia V. Alveolar nitric oxide and asthma control in mild untreated asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; 131: 1513-1517.
10. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, et al. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FeNO) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011; 184: 602-615.
11. American Thoracic Society/European Respiratory Society. ATS/ERS Task force standardisation of lung function testing: Standardisation of spirometry. *Eur Respir J*. 2005; 26: 319–338.
12. American Thoracic Society/European Respiratory Society. ATS/ERS Task force standardisation of lung function testing: General considerations for lung function testing. *Eur Respir J*. 2005; 26: 153–161.
13. American Thoracic Society/European Respiratory Society. ATS/ERS Task force standardization of lung function testing: interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J*. 2005; 26: 948–968.
14. Haldar P, Pavord ID, Shaw DE, et al. Cluster analysis and clinical asthma phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008; Aug 1;178(3):218-24. doi: 10.1164/rccm.200711-1754OC. Epub 2008 May 14. PubMed PMID: 18480428; PubMed Central PMCID: PMC3992366.
15. Desai M, Oppenheimer J. Elucidating asthma phenotypes and endotypes: progress towards personalized medicine. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2016; May;116(5):394-401. doi: 10.1016/j.anai.2015.12.024. Review. PubMed PMID: 27153739.
16. Borish L. The immunology of asthma: Asthma phenotypes and their implications for personalized treatment. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2016; Aug;117(2):108-14. doi: 10.1016/j.anai.2016.04.022. Review. PubMed PMID: 27499537; PubMed Central PMCID: PMC4977430.
17. Smith, A.D., Cowan, J.O., Brassett, K.P. et al. Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. *N Engl J Med*. 2005; 352: 2163–2173.

18. Peirsman EJ, Carvelli TJ, Hage PY, et al. Exhaled nitric oxide in childhood allergic asthma management: a randomised controlled trial. *Pediatr Pulmonol.* 2014; Jul;49(7):624-31. doi: 10.1002/ppul.22873. Epub 2013 Sep 4. PubMed PMID: 24039119.
19. LaForce C, Brooks E, Herje N, Dorinsky P, Rickard K. Impact of exhaled nitric oxide measurements on treatment decisions in an asthma specialty clinic. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2014; Dec;113(6):619-23. doi: 10.1016/j.anai.2014.06.013. Epub 2014 Jul 22. PubMed PMID: 25060819.
20. Ricciardolo FLM, Sorbello V, Fontana RB, Schiavetti I, Ciprandi G. Exhaled nitric oxide in relation to asthma control: a real-life survey. *Allergol Immunopathol.* 2015; <http://dx.doi.org/10.1016/j.11er.2015.05.12>.
21. Meena RK, Raj D, Lodha R, Kabra SK. Fractional Exhaled Nitric Oxide for Identification of Uncontrolled Asthma in Children. *Indian Pediatr.* 2016; Apr;53(4): 307-310. PubMed PMID: 27156543.
22. Waibel V, Ulmer H, Horak E. Assessing asthma control: symptom scores, GINA levels of asthma control, lung function, and exhaled nitric oxide. *Pediatr Pulmonol.* 2012; Feb;47(2):113-8. doi: 10.1002/ppul.21529. Epub 2011 Aug 24. PubMed PMID: 22241569.
23. Tibosch M, de Ridder J, Landstra A, et al. Four of a kind: asthma control, FEV1, FeNO, and psychosocial problems in adolescents. *Pediatr Pulmonol.* 2012; Oct;47(10):933-40. doi: 10.1002/ppul.22514. Epub 2012 Feb 10. PubMed
24. Green RJ, Klein M, Becker P, et al. Disagreement among common measures of asthma control in children. *Chest.* 2013; Jan;143(1):117-22. PubMed PMID: 22878380.
25. Donohue JF, Jain N. Exhaled nitric oxide to predict corticosteroid responsiveness and reduce asthma exacerbation rates. *Respir Med.* 2013; Jul;107(7):943-52. doi: 10.1016/j.rmed.2013.02.018. Epub 2013 Apr 17. Review. PubMed PMID: 23601567.
26. Malinowski A, Muylem AV, Michiels S, Michils A. FeNO as a predictor of asthma control improvement after starting inhaled steroid treatment. *Nitric Oxide.* 2014; 40: 110-116.
27. Yoon JY, Woo S, Kim H, Sun YH, Hahn YS. Fractional exhaled nitric oxide and forced expiratory flow between 25% and 75% of vital capacity in children with controlled asthma. *Korean J Pediatr.* 2012; 55: 330-336.

28. RAWY, A.M.; MANSOUR, A.I. Fraction of exhaled nitric oxide measurement as a biomarker in asthma and COPD compared with local and system inflammatory markers. Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis.2015; v. 64, p. 13-20.

29. AAAAI/ACAAI Joint Statement of Support of the ATS Clinical Practice Guideline: Interpretation of Exhaled Nitric Oxide for Clinical Applications.<http://www.aaaai.org/Aaaai/media/MediaLibrary/PDF%20Documents/My%20Membership/FeNOJointStatement3-6-12.pdf>. Accessed July 10, 2014.