



Repetibilidade de medidas da fração de óxido nítrico exalado em crianças em duas ocasiões

Kamil Barański^{1,a}, Jan E. Zejda^{1,b}

1. Department of Epidemiology, School of Medicine in Katowice, University of Silesia, Katowice, Poland.
- a. <http://orcid.org/0000-0002-0106-9662>
b. <http://orcid.org/0000-0002-1619-3463>

Recebido: 25 abril 2017.

Aprovado: 15 outubro 2017.

Trabalho realizado no Department of Epidemiology, School of Medicine in Katowice, University of Silesia, Katowice, Poland.

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar a repetibilidade em curto prazo de medidas da fração de óxido nítrico exalado ($F_{E}NO$) e seus correlatos em crianças de 6-9 anos participantes de uma pesquisa epidemiológica respiratória. A $F_{E}NO$ foi medida em duas sessões, com uma semana de intervalo, em 101 crianças. Os participantes foram divididos em três grupos: assintomático ($n = 76$), sintomático ($n = 14$) e asma ($n = 11$). A repetibilidade foi avaliada por meio de diferenças absolutas e relativas entre as medidas, bem como por coeficientes de correlação de concordância. As duas medidas da $F_{E}NO$ correlacionaram-se fortemente (0,98). Embora as comparações entre as duas medidas em um mesmo grupo não tenham sido significativamente diferentes ($p = 0,2$), as comparações entre os grupos o foram. Medidas da $F_{E}NO$ são reprodutíveis em crianças em cenários epidemiológicos.

Descritores: Óxido nítrico; Expiração; Asma.

A medida da fração de óxido nítrico exalado ($F_{E}NO$) é reconhecida como um método útil para a avaliação clínica e tratamento de doenças respiratórias, inclusive da asma.⁽¹⁻³⁾ Pouco se sabe sobre seu papel em estudos epidemiológicos respiratórios, embora se recomende a $F_{E}NO$ como desfecho suplementar de estudos observacionais.⁽³⁾ A inclusão da $F_{E}NO$ em estudos populacionais sobre a asma pediátrica pode ser útil para a caracterização de fenótipos de asma e sintomas respiratórios crônicos em crianças. Esse tipo de aplicação exige que o teste seja padronizado e que sua repetibilidade seja conhecida e aceitável. Estudos de validação sobre a medida da $F_{E}NO$ mostraram variabilidade intraobservador muito pequena e variação diurna que, em crianças, provavelmente vai de 1 a 2 ppb, em média.^(4,5) Pouco se sabe sobre a repetibilidade da medida da $F_{E}NO$ em ocasiões independentes em crianças saudáveis, sintomáticas e asmáticas examinadas em trabalho de campo. Nesse contexto, realizamos um estudo sobre a variabilidade em curto prazo da $F_{E}NO$ em uma amostra composta por alunos do ensino fundamental participantes de uma pesquisa epidemiológica respiratória. Os objetivos do estudo foram avaliar a repetibilidade da $F_{E}NO$ medida nesse grupo de crianças em duas ocasiões diferentes (com uma semana de intervalo) e analisar seus correlatos antropométricos e respiratórios. O estudo foi realizado na voivódia da Silésia, na Polônia.

Os participantes foram 104 alunos do ensino fundamental, de 6 a 9 anos de idade, selecionados aleatoriamente na cidade de Tychy. Os sintomas respiratórios foram avaliados por meio da versão traduzida do questionário do *International Study of Asthma and Allergies in Childhood*,⁽⁶⁾ que foi preenchido pelos pais. Os pais de todos os participantes do estudo (ou os responsáveis pelos participantes) assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. O protocolo do

estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Médica da Silésia (Protocolo n. KNW/0022/KB1/37/I/14).

Todas as medidas foram obtidas em escolas locais. As variáveis antropométricas (idade, estatura e massa corporal) foram medidas antes das medidas da $F_{E}NO$ e da espirometria. A $F_{E}NO$ foi medida com a criança sentada e com um dispositivo específico (NIOX MINO®; Aerocrine, Solna, Suécia). O teste consistiu em no máximo cinco tentativas até que se obtivesse uma medida aceitável. A segunda medida da $F_{E}NO$ foi realizada uma semana depois da primeira. As variáveis espirométricas — CVF, VEF₁, VEF₁/CVF, FEF_{25%}, FEF_{50%} e FEF_{75%} — foram obtidas de acordo com as recomendações da *American Thoracic Society/European Respiratory Society*, com um espirômetro (EasyOne®; nnd Medizintechnik AG, Zurique, Suíça), e expressas em valores absolutos. A espirometria foi realizada após a medição da $F_{E}NO$.

As análises estatísticas foram realizadas com o programa *Statistical Analysis System*, versão 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). Para calcular a diferença entre as duas ocasiões quanto à $F_{E}NO$, a segunda medida foi subtraída da primeira. A média do valor absoluto foi calculada como a média das diferenças individuais entre a primeira e a segunda medida. A média do valor relativo foi obtida por meio da seguinte fórmula: primeira medida – segunda medida, expressa em %. A significância estatística das diferenças entre os grupos quanto às variáveis quantitativas foi avaliada pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e a significância estatística das diferenças em um mesmo grupo foi avaliada pelo teste dos postos sinalizados de Wilcoxon. A repetibilidade das medidas da $F_{E}NO$ foi avaliada por meio do cálculo do coeficiente de correlação de concordância (r_{cc}). A significância estatística

Endereço para correspondência:

Kamil Barański. School of Medicine in Katowice, University of Silesia, Medyków 18, 40-752, Katowice, Poland.

Fax: 48 32 2088538. E-mail: kbaranski@sum.edu.pl

Apoio financeiro: Este estudo recebeu apoio financeiro de *Medical University of Silesia* (Processo no. KNW-2-020/N/5/K e KNW-1-069/K/6/O).

das diferenças entre os grupos quanto às variáveis qualitativas foi avaliada pelo teste do qui-quadrado ou pelo teste exato de Fisher. O teste de McNemar e o teste de kappa de Cohen foram usados para avaliar a concordância entre dois resultados qualitativos da $F_{E}NO$ (ponto de corte: 35 ppb). Os correlatos da variabilidade da $F_{E}NO$ em um mesmo indivíduo foram avaliados por meio de análise de regressão linear, com a diferença relativa da $F_{E}NO$ como variável dependente. Modelos simples e multivariados foram usados para examinar os efeitos do sexo, idade, índice de massa corporal, estado respiratório e variáveis de função pulmonar. A interpretação dos resultados foi baseada no critério de $p < 0,05$.

Todos os indivíduos incluídos no estudo foram examinados em suas escolas numa manhã de segunda-feira, e os testes foram aplicados após as instruções. Duas crianças não conseguiram realizar os testes, e uma criança não conseguiu realizar medidas repetidas da $F_{E}NO$. Por isso, as análises envolveram dados referentes a 101 crianças (meninos: 63%). A amostra foi dividida em três grupos: assintomático — sem diagnóstico médico de asma, bronquite, doenças alérgicas e sintomas de asma ($n = 76$); sintomático — sem diagnóstico médico de asma, mas com sintomas de sibilância (sem relação com resfriado) ou dispneia no ano anterior ($n = 14$); asma — diagnóstico médico

de asma ($n = 11$). Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos quanto à média de idade ($7,1 \pm 0,7$ anos), estatura ($128,3 \pm 7,3$ cm) e peso ($26,7 \pm 6,4$ kg).

A Tabela 1 mostra as médias de cada uma das medidas da $F_{E}NO$, bem como a variabilidade entre as ocasiões. Na amostra como um todo, a média do valor absoluto foi de 1,4 ppb (11,7%). As comparações realizadas em um mesmo grupo entre as duas medidas não foram significativamente diferentes ($p = 0,2$) e correlacionaram-se fortemente ($r_{cc} = 0,98$; IC95%: 0,98-0,99). A ocorrência de $F_{E}NO > 35$ ppb apresentou repetibilidade muito boa (sem pares discordantes). No entanto, as comparações entre os grupos foram significativamente diferentes quanto à $F_{E}NO$ (Tabelas 1 e 2). As menores e maiores médias dos valores foram observadas nos grupos assintomático e asma, respectivamente. A variabilidade entre os grupos foi semelhante no que tange às médias dos valores absolutos (0,9-1,8 ppb) e relativos (7,5-12,8%). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as duas medidas quanto às médias nos grupos assintomático, sintomático e asma ($p = 0,6$; $p = 0,5$; $p = 0,7$, respectivamente). Os grupos apresentaram fortes correlações entre as medidas: grupo assintomático ($r_{cc} = 0,96$; IC95%: 0,94-0,97); grupo sintomático ($r_{cc} = 0,99$; IC95%: 0,99-0,99);

Tabela 1. Resultados de duas medidas da fração de óxido nítrico exalado e diferenças das medidas em duas ocasiões em crianças, de acordo com o estado respiratório (variáveis quantitativas).^a

Variável	Amostra total (N = 101)	Grupo			p*	
		Assintomático (n = 76)	Sintomático (n = 14)	Asma (n = 11)		
$F_{E}NO$, ppb	Medida 1	15,1 ± 13,5 [10 (7)]	12,6 ± 7,9 [10 (5,5)]	17,3 ± 19,7 [9 (17)]	29,1 ± 24,4 [21 (40)]	0,08
	Medida 2	15,6 ± 14,0 [10 (8)]	13,0 ± 8,1 [10 (7)]	17,7 ± 19,5 [10 (14)]	30,6 ± 25,8 [23 (41)]	0,03
Diferença das medidas em duas ocasiões	Média do valor absoluto, ppb	1,4 ± 1,5	1,4 ± 1,5	0,9 ± 0,9	1,8 ± 1,8	0,4
	Média do valor relativo, %	11,7 ± 14,2 [9,0 (18,1)]	12,8 ± 15,5 [10,0 (19,5)]	8,8 ± 10,0 [8,0 (11,1)]	7,5 ± 6,8 [7,0 (6,7)]	0,5
	Média da diferença	-0,50 ± 2,01	-0,39 ± 2,08	-0,35 ± 1,27	-1,45 ± 2,02	0,1

$F_{E}NO$: fração de óxido nítrico exalado. ^aValores expressos em forma de média ± dp ou [mediana (intervalo interquartil)]. *Teste de Kruskal-Wallis.

Tabela 2. Resultados de duas medidas da fração de óxido nítrico exalado e diferenças das medidas em duas ocasiões em crianças, de acordo com o estado respiratório (variáveis qualitativas).^a

Variável	Amostra total (N = 101)	Grupo			p*	
		Assintomático (n = 76)	Sintomático (n = 14)	Asma (n = 11)		
Medida 1, variação em ppb	0-19	81	66	10	5	0,006
	20-35	14	8	3	3	
	> 35	6	2	1	3	
Medida 2, variação em ppb	0-19	82	67	10	5	0,004
	20-35	13	7	3	3	
	> 35	6	2	1	3	
Diferença relativa > 10%	44	37	5	2	0,1	
Diferença relativa > 20%	19	15	3	1	0,8	

^aValores expressos em forma de n. *Teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher.

grupo asma ($r_{cc} = 0,99$; IC95%: 0,98-0,99). A Tabela 2 mostra as medidas divididas em diferentes faixas de $F_{E}NO$ na amostra como um todo e em cada grupo. A $F_{E}NO > 35$ ppb foi 100% reprodutível em ambas as medidas em cada grupo (sem pares discordantes). Os correlatos da variabilidade da $F_{E}NO$ em um mesmo indivíduo foram avaliados por meio de análise de regressão linear, com a diferença relativa como variável dependente. Nem os modelos simples nem os multivariados revelaram associação entre a diferença relativa e o sexo, idade, estatura, índice de massa corporal, estado respiratório ou variáveis espirométricas.

Nossos achados revelaram muito boa repetibilidade das medidas da $F_{E}NO$ em nossa amostra. Além disso, a repetibilidade foi igualmente boa em crianças saudáveis e em crianças com sintomas respiratórios crônicos ou asma, um achado que corrobora as evidências de variação diurna em crianças saudáveis e com asma.^(4,5) Em nosso estudo, a variabilidade em curto prazo da $F_{E}NO$ medida ao longo de uma semana foi independente das variáveis demográficas ou de função pulmonar. As diferenças entre medidas da $F_{E}NO$ podem ser afetadas por fatores de confusão como teores de gordura, antioxidantes e nitratos em alimentos e o exercício físico.^(3,7) Observou-se que a exposição à poluição do ar exterior também aumenta a variabilidade em curto prazo da $F_{E}NO$.⁽⁸⁾ Não controlamos esses fatores, e nosso estudo foi realizado em condições comuns em pesquisas respiratórias com crianças.

Os resultados corroboram a opinião de que a $F_{E}NO$ medida por meio de dispositivos portáteis é um

método não invasivo bem aceito para a avaliação da inflamação eosinofílica das vias aéreas em epidemiologia respiratória. Outro achado interessante de nosso estudo é um convincente gradiente da $F_{E}NO$ entre os grupos, que reflete o estado respiratório das crianças identificado por meio de um questionário, uma relação que parece aumentar a confiabilidade de nossas medidas.

Poucos estudos examinaram a questão da repetibilidade das medidas da $F_{E}NO$ em crianças. No entanto, as evidências publicadas são principalmente pertinentes para a variação diurna; estudos recentes sobre a repetibilidade da $F_{E}NO$ em indivíduos jovens têm examinado principalmente pequenos grupos de crianças (especialmente crianças com asma) em ambiente hospitalar, com medidas da $F_{E}NO$ obtidas em uma única visita.^(4,5,9,10) Embora tenha envolvido um grupo relativamente pequeno de participantes, nosso estudo é distinto em virtude de seu protocolo de epidemiologia real e do fato de que as medidas foram realizadas em duas sessões diferentes, com uma semana de intervalo. Os resultados de nosso estudo mostram que a medida da $F_{E}NO$ é estável em condições epidemiológicas, corroborando as pequenas variações do dia a dia encontradas em outro estudo.⁽¹¹⁾

Em suma, nossos achados demonstram que medidas da $F_{E}NO$ realizadas com um dispositivo portátil em trabalho de campo são altamente reprodutíveis e parecem corroborar a opinião de que a medida da $F_{E}NO$ é uma ferramenta valiosa em pesquisas de saúde respiratória em crianças e, talvez, em programas de detecção de asma nessa faixa etária.

REFERÊNCIAS

1. Taylor DR, Pijnenburg MW, Smith AD, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation. *Thorax* 2006;61(9):817-27. <https://doi.org/10.1136/thx.2005.056093>
2. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, Irvin CG, Leigh MW, Lundberg JO, 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(5):602-15. <https://doi.org/10.1164/rccm.9120-11ST>
3. Szefer SJ, Wenzel S, Brown R, Erzurum SC, Fahy JV, Hamilton RG, et al. Asthma outcomes: biomarkers. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(3 Suppl):S9-23. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.12.979>
4. Kharitonov SA, Gonio F, Kelly C, Meah S, Barnes PJ. Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. *Eur Respir J*. 2003;21(3):433-8. <https://doi.org/10.1183/09031936.03.00066903a>
5. Buchvald F, Baraldi E, Carraro S, Gaston B, De Jongste J, Pijnenburg MW, et al. Measurements of exhaled nitric oxide in healthy subjects age 4 to 17 years. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115(6):1130-6. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2005.03.020>
6. Asher MI, Weiland SK. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). ISAAC Steering Committee. 1998;28 Suppl 5:52-66; discussion 90-1. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.1998.028s5052.x>
7. Cardinale F, Tesse R, Fucilli C, Loffredo MS, Iacoviello G, Chinellato I, Armenio L. Correlation between exhaled nitric oxide and dietary consumption of fats and antioxidants in children with asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119(5):1268-70. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.01.028>
8. Berhane K, Zhang Y, Linn WS, Rappaport EB, Bastain TM, Salam MT, et al. The effect of ambient air pollution on exhaled nitric oxide in the Children's Health Study. *Eur Respir J*. 2011;37(5):1029-36. <https://doi.org/10.1183/09031936.00081410>
9. Alving K, Janson C, Nordvall L. Performance of a new hand-held device for exhaled nitric oxide measurement in adults and children. *Respir Res*. 2006;7:67. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-7-67>
10. Kapande KM, McConaghy LA, Douglas I, McKenna S, Hughes JL, McCance DR, et al. Comparative repeatability of two handheld fractional exhaled nitric oxide monitors. *Pediatr Pulmonol*. 2012;47(6):546-50. <https://doi.org/10.1002/ppul.21591>
11. Bohadana A, Michaely JP, Teculescu D, Wild P. Reproducibility of exhaled nitric oxide in smokers and non-smokers: relevance for longitudinal studies. *BMC Pul Med*. 2008;8:4. <https://doi.org/10.1186/1471-2466-8-4>