



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM MEDICINA E SAÚDE**



ALINE SILVA LIMA MATOS

**EOSINOFILIA SANGUÍNEA, GRAVIDADE E CONTROLE DA ASMA NA
COORTE DE ASMA GRAVE DO PROAR**

TESE DE DOUTORADO

Salvador
2018



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM MEDICINA E SAÚDE**



ALINE SILVA LIMA MATOS

**EOSINOFILIA SANGUÍNEA, GRAVIDADE E CONTROLE DA ASMA NA
COORTE DE ASMA GRAVE DO PROAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina e Saúde da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Medicina e Saúde.

Orientador: Dr. Álvaro A. Cruz
Titulação: Prof. Titular da UFBA

Salvador
2018

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Lima-Matos, Aline Silva

Eosinofilia sanguínea, gravidade e controle da asma
na coorte de asma grave do ProAR / Aline Silva Lima-
Matos. -- Salvador, 2018.
128 f.

Orientador: Prof. Dr. Alvaro A. Cruz.

Coorientador: Eduardo V Ponte.

Tese (Doutorado - Pós-graduação em Medicina e Saúde)
-- Universidade Federal da Bahia, Universidade
Federal da Bahia, 2018.

1. Fenótipos de asma. 2. Eosinofilia sanguínea. 3.
Asma grave. 4. Biomarcador. I. Cruz, Prof. Dr. Alvaro
A.. II. Ponte, Eduardo V. III. Título.

ALINE SILVA LIMA MATOS

**EOSINOFILIA SANGUÍNEA, GRAVIDADE E CONTROLE DA ASMA NA
COORTE DE ASMA GRAVE DO PROAR**

Salvador, 28 de Junho de 2018

Tese de autoria de Aline Silva Lima Matos intitulada Eosinofilia sanguínea, gravidade e controle da asma na coorte de asma grave do ProAR, apresentada a Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de doutora em Medicina e Saúde.

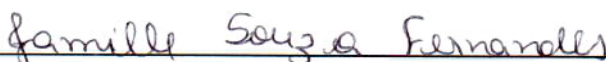
BANCA EXAMINADORA



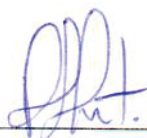
Professora Doutora Luane Marques de Mello
Doutora em Ciências da Saúde – USP Ribeirão Preto



Professor Doutor Pablo Moura Santos
Doutor em Medicina e Saúde - UFBA



Professora Doutora Jamille Souza Fernandes
Doutora em Imunologia - UFBA



Professor Doutor Ryan dos Santos Costa
Doutor em Imunologia - UFBA



Professor Doutor Paulo Augusto Moreira Camargos
Doutor em Infectologia e Medicina Tropical - UFMG

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Jesus Cristo, razão de todo meu viver. Parafraseando Ana Paula Valadão, tudo que tenho, tudo que sou e o que vier a ser, vem de Ti, Senhor. Fonte das minhas forças para chegar até aqui. Meu amor maior!!!

Ao meu esposo, José Matos Junior, meu grande incentivador e companheiro. Obrigada por compreender as minhas ausências, obrigada por toda ajuda, motivação, amizade e amor demonstrado todos os dias. Obrigada por acreditar quando nem eu acreditava. Amo você!

A minha mãe, Girlene Lima, pelo imenso incentivo, pela grande ajuda, cuidado diário e por um amor incondicional e sacrificial. Obrigada por me lembrar que não somos de desistir. Como eu amo a senhora!

Ao meu pai, Carlos Alberto, pelo incentivo e por me dar a possibilitar estudar.

Aos meus irmãos que seguraram as cordas de sustento tantas vezes. Obrigada pela ajuda e incentivo sempre constantes.

Aos meus cunhados e sobrinhos, pelo amor e companheirismo. Todos sempre na torcida.

A toda minha família, por sempre acreditar que seria possível;

As meninas do ministério de dança, pela compreensão nas minhas ausências e principalmente por levarem tudo adiante enquanto eu estava concentrada neste trabalho.

Ao Professor Doutor Álvaro Cruz, pelo incentivo, ensinamentos e oportunidades. Foram seis anos de muito crescimento profissional e pessoal, obrigada por abrir a porta para mim. Serei sempre grata.

Ao farmacêutico Doutor Pablo Moura, por todas as oportunidades e confiança. Você me apresentou o mundo da pesquisa e, se eu cheguei até aqui foi por que você esteve nos meus primeiros passos.

Aos médicos Doutor Eduardo Ponte e Doutora Luane Mello, não tenho palavras para agradecer tamanha parceria, vocês foram fundamentais para a construção desse trabalho, muito obrigada.

Aos autores do artigo original, pelas experiências e considerações compartilhadas

durante a elaboração;

Aos profissionais do ProAR e do Núcleo de Excelência em Asma pelo apoio e ajuda prestada na realização deste trabalho. Eu saio do ProAR, mas o ProAR nunca sairá de mim, foram anos inesquecíveis.

Aos pacientes do ProAR que tanto me ensinaram. Não me ensinaram apenas a ciência, mas me ensinaram sobre a vida!

À aqueles que em algum momento abriram as portas das suas casas para me acolherem em Salvador, Ana Tereza, Juliana Viana, Luane Mello, Paula Almeida, Valmar Bião, Gabriela Pimentel, Daiane Souza.

Um agradecimento especial à Ana Tereza Campos e Juliana Viana por que não abriram apenas as suas casas, mas abriram um lugar em suas famílias, em suas vidas cotidianas, que se tornaram mais que colegas de trabalho, se tornaram amigas para a vida. Não tenho palavras para agradecer o cuidado, a amizade e o carinho, sentirei saudades!

A todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho, a todos e a cada um, meu muito obrigado!

RESUMO

Introdução: Asma é uma síndrome heterogênea com múltiplos fenótipos. A asma eosinofílica é considerada um fenótipo de resposta do tipo T2. Desta forma, a contagem de eosinófilos em sangue periférico pode ser um biomarcador ideal para identificar indivíduos com este fenótipo na rotina clínica. É amplamente disponível, de baixo custo, fácil de coletar e está associado com a eosinofilia do escarro induzido, que tem sido considerado o indicador de asma eosinofílica, um fenótipo do tipo T2. **Objetivo:** O objetivo desse estudo foi avaliar a eosinofilia sanguínea está relacionada à gravidade de asma e avaliar se a eosinofilia sanguínea está associada com a falta de controle dos sintomas de asma e obstrução das vias aéreas. **Metodologia:** Este é um estudo caso-controle. Os participantes do grupo caso foram recrutados de uma coorte de pacientes com asma grave, de um centro de referência público em Salvador (Brasil), que demandam corticosteroide inalado associado a broncodilatador de longa ação de forma contínua. Foram dois grupos controles: 1) indivíduos com asma leve/moderada; 2) indivíduos sem asma. Os participantes responderam a questionários, incluindo o ACQ₆, tiveram amostras de sangue e de fezes coletadas, realizaram espirometria e teste alérgico cutâneo para aeroalérgenos locais relevantes. Foi considerada eosinofilia sanguínea a contagem de eosinófilos em sangue periférico ≥ 260 cel/mm³. **Resultados:** Foram avaliados 544 indivíduos no grupo caso, 452 com asma leve/moderada e 450 sem asma. O grupo caso teve mais chance de apresentar asma eosinofílica quando comparado ao grupo leve/moderado [OR 1.60 IC 95 (1.19-2.16)] e quando comparado ao grupo sem asma [OR 3.93; 95 CI (2.90-5.33)]. O fenótipo eosinofílico, de acordo com a eosinofilia de sangue periférico, está associado com asma não controlada [OR 1.56; 95 CI (1.06-2.28)], mas não está associado à obstrução das vias aéreas [OR 0.87; 95 CI (0.61-1.24)]. **Conclusão:** Em conclusão, uma contagem elevada de eosinófilos em sangue periférico é um biomarcador associado com gravidade de asma e falta de controle da doença em adultos brasileiros, mas não está associada à redução da função pulmonar.

Descritores: fenótipos de asma, eosinofilia sanguínea, asma grave, biomarcador

ABSTRACT

Background: Asthma is a heterogeneous syndrome with multiple phenotypes. Peripheral blood eosinophil counts might be the ideal biomarker to identify subjects with eosinophilic asthma in the routine health care. It is widely available, inexpensive, easy to collect and it is associated with eosinophilia in induced sputum, which has been considered the indicator of eosinophilic asthma, a T2 type phenotype.

Objective: The primary aim of this study was to evaluate whether asthma severity is associated with blood eosinophilia. The secondary objectives were to evaluate whether blood eosinophilia is associated with lack of control of asthma symptoms and airway obstruction. **Methods:** This is a case control study. The cases were subjects recruited from a cohort of patients with severe asthma, from a public reference center in Salvador (Brazil), demanding continuous inhaled corticosteroids and long acting beta 2 agonists. There were two control groups: 1) subjects with mild to moderate asthma, 2) subjects with no asthma. Subjects enrolled in the study answered several questionnaires, including the ACQ₆, had their blood and stool samples collected, performed spirometry and skin prick tests (SPT) to relevant local aeroallergens. We classified subjects according to the peripheral blood eosinophil count using the cutoff ≥ 260 cells/mm³. **Results:** We evaluated 544 subjects in the case group, 452 subjects with mild to moderate asthma and 450 subjects with no asthma. The subjects of the case group had higher odds of presenting the eosinophilic phenotype in comparison to subjects with mild to moderate asthma [OR 1.60 95 CI (1.19-2.16)] and no asthma [OR 3.93; 95 CI (2.90-5.33)]. The eosinophilic phenotype, according to blood count, is associated with uncontrolled symptoms of asthma [OR 1.56; 95 CI (1.06-2.28)], but it is not associated with airway obstruction [OR 0.87; 95 CI (0.61-1.24)]. **Conclusion:** We conclude that the peripheral blood eosinophil count is a biomarker associated with asthma severity and poor symptom control also in among underprivileged Brazilian adults, but we found no association with reduced lung function.

Key words: asthma phenotypes, blood eosinophilia, severe asthma, biomarker

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	-
2	OBJETIVOS.....	13
3	ARTIGO DE REVISÃO.....	14
4	METODOLOGIA	26
5	RESULTADOS	36
	5.1 Artigos originais.....	36
6	DISCUSSÕES.....	92
7	CONCLUSÃO	94
8	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	95
9	REFERÊNCIAS.....	96
10	ANEXOS.....	100

1 INTRODUÇÃO

A asma é uma doença respiratória, crônica, heterogênea, usualmente caracterizada por inflamação das vias aéreas, cujos sintomas são sibilos, tosse, dispneia, opressão torácica que podem variar em frequência, em intensidade e que pode apresentar variável limitação do fluxo aéreo (GINA, 2018).

A Organização Mundial da Saúde estima que 235 milhões de pessoas sofram com asma e que 80% das mortes por asma ocorrem em países de baixa e média renda (WHO, 2018). No Brasil, os óbitos por asma estão diminuindo desde 2009, mas os números absolutos ainda são altos. Em 2013, 2.047 pessoas morreram por asma no país e as hospitalizações por asma custaram 170 milhões de dólares aos cofres públicos, de 2008 a 2013 (CARDOSO et al., 2017). Um caso-controle identificou que o sexo masculino, a falta de controle da doença e o volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1) abaixo de 60% foram os fatores associados aos óbitos entre asmáticos (FERNANDES et al., 2010).

As metas para manejo da asma são controle dos sintomas e diminuição de exacerbações futuras e diminuição dos efeitos adversos ao tratamento. A escolha do medicamento e sua dose são estabelecidas pela intensidade e frequência dos sintomas apresentados. O uso do corticosteroide inalado (CI) levou a uma melhora substancial nos sintomas e as taxas de mortalidade e exacerbação diminuíram. No entanto, mesmo com o uso do CI, alguns pacientes permanecem sintomáticos necessitando de associação com broncodilatadores de longa-ação, ou ainda, anti-leucotrienos, metilxantinas, corticosteroide oral ou imunobiológicos para alcançar o controle da doença (GINA, 2018).

Ao longo dos anos as classificações de gravidade e controle da asma sofreram muitas mudanças. Neste estudo, consideramos a classificação de gravidade que Organização Mundial da Saúde uniformizou em 2010, onde asma grave é definida como asma não controlada com risco de exacerbações graves e frequentes e/ou reações adversas aos medicamentos. Essa classificação é subdividida em três grupos, são eles: asma grave não tratada, para pacientes sem

tratamento estabelecido; asma grave de difícil tratamento, para pacientes que estão sendo tratados com altas doses de medicamento, mas não atingem o controle por questões, não necessariamente, relacionadas à asma; e a asma grave resistente ao tratamento, para os indivíduos que não tem resposta adequada ao tratamento mesmo com o uso de doses altas de medicamento e sem outro fator que possa contribuir para a falta de controle da doença (BOUSQUET et al., 2010).

Diante da heterogeneidade da asma muitos pesquisadores tem se dedicado a classificar os indivíduos em subgrupos chamados de fenótipos. Fenótipos são as características apresentadas por indivíduos, resultantes da interação entre a genética e o meio ambiente. Os fenótipos da asma podem ser clínicos, inflamatórios ou baseados em desencadeantes, mas ainda existe muita controvérsia no estabelecimento desses fenótipos (WENZEL, 2006).

A Idade modifica a resposta imunológica de indivíduos saudáveis. Imunossenescência e exposições ambientais podem possivelmente modificar o fenótipo de doenças imunomediadas. Pode levar a diferenças na frequência de fenótipos de asma entre grupos etários. Essa é uma questão importante, já que a população está envelhecendo, a asma está se tornando comum em idades mais avançadas e os tratamentos recentemente desenvolvidos para asma são guiados por fenótipos (MOORE et al., 2013).

Como a idade, a obesidade é outra condição que interfere no manejo da asma, isso pode ser decorrente de fatores mecânicos bem como por diferentes tipos de inflamação nas vias aéreas (GINA, 2018). Há evidências de que a obesidade aumenta o processo inflamatório nos pulmões de pacientes com asma. Mediadores pró-inflamatórios se correlacionam diretamente com a gordura visceral abdominal e podem predispor a uma maior hiperresponsividade brônquica e broncoespasmo. Estudos transversais também sugerem que os asmáticos obesos possuem uma inflamação mais neutrofílica do que eosinofílica em vias aéreas (SCOTT et al, 2011; VAN VEEN et al., 2008).

Biomarcadores estão sendo pesquisados com o objetivo de ajudar a caracterizar esses fenótipos. São medidas substitutas projetadas para caracterizar

e/ou quantificar um processo de doença subjacente (SCHLEICH; DEMARCHE; LOUIS, 2015). Para a asma eosinofílica estão sendo avaliadas e validadas a contagem de eosinófilos, por citologia, no escarro induzido, no lavado broncoalveolar, no lavado nasal e a contagem de eosinófilos em sangue periférico. Além da dosagem do óxido nítrico exalado (FeNO), de IgE total e específica e de periostina (SCHLEICH; DEMARCHE; LOUIS, 2015; WESTERHOF et al., 2015). Alguns biomarcadores estão sendo estudados para asma neutrofilica, a citologia do lavado broncoalveolar ou do escarro induzido são os métodos validados para identificação da neutrofilia nas vias aéreas inferiores. Biomarcadores substitutos estão sendo avaliados, mas nenhum validado até o presente momento (HASTIE et al., 2013; SCHLEICH; DEMARCHE; LOUIS, 2015).

A contagem de células no escarro demanda a indução e o processamento dessa amostra. Este procedimento está disponível apenas em clínicas especializadas, pois demanda tempo e profissional especializado para leitura da citologia. Por essa razão, há uma busca por biomarcadores substitutos que sejam menos invasivos (YAP et al., 2013).

O FeNO pode ser útil como biomarcador. A literatura tem demonstrado boa correlação com a eosinofilia do escarro, no entanto, tem um custo alto para países em desenvolvimento e perde a especificidade em fumantes e em indivíduos com outras condições alérgicas (BERRY et al., 2005; WESTERHOF et al., 2015). Também existe uma suspeita de que o FeNO e os eosinófilos estejam relacionados a vias imunológicas distintas. Um ensaio clínico com anti-IL5 demonstrou a diminuição dos eosinófilos sem diminuição do FeNO e outro ensaio clínico, com anti-IL-13 demonstrou diminuição de FeNO sem diminuição significativa dos eosinófilos (COUMOU; BEL, 2016). A medida de IgE não foi identificada como bom biomarcador para tratamento ou desfecho clínico e a periostina tem baixa disponibilidade e seus resultados sofrem interferência durante a infância, a gestação e na presença de doenças dentárias (PAVORD et al., 2017).

Por outro lado, a contagem de células em sangue periférico é uma prática rotineira, está disponível nos centros de saúde, tem custo acessível e sua coleta

causa pouco desconforto. Tornando-se uma boa possibilidade para substituir a citologia do escarro induzido (ZHANG et al., 2014).

No entanto, não está tão claramente estabelecido se o fenótipo eosinofílico da asma, de acordo com um critério de sangue periférico, está relacionado à gravidade da doença, falta de controle dos sintomas e obstrução das vias aéreas, e se isso é verdadeiro também para países em desenvolvimento, onde a população pode estar mais exposta à infecção por helmintos. Diante disso, o principal objetivo deste estudo foi avaliar se a asma grave está associada à eosinofilia sangüínea e avaliar se a eosinofilia sangüínea está associada à falta de controle dos sintomas de asma e obstrução das vias aéreas, em pacientes com as formas mais graves de asma sob tratamento regular.

2 OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar associação entre gravidade da asma e eosinofilia sanguínea, em pacientes sob tratamento regular em uma coorte de asmáticos de Salvador-BA.

Objetivos secundários

1. Avaliar se a eosinofilia sanguínea está associada à falta de controle da doença em pacientes sob tratamento regular.
2. Avaliar se a eosinofilia sanguínea está associada à obstrução das vias aéreas em pacientes sob tratamento regular

3 ARTIGO DE REVISÃO

Eosinófilos e neutrófilos sanguíneos como biomarcadores para fenótipos inflamatórios da asma: uma revisão de literatura

Aline Lima-Matos¹; Luane Marques Melo²; Álvaro A. Cruz³.

1 Doutoranda em Medicina e Saúde - Universidade Federal da Bahia – UFBA. Farmacêutica do Núcleo de Excelência em Asma/Programa para o Controle da Asma na Bahia (ProAR)

2. Professora do departamento de Medicina Social da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

3. Professor Titular da Faculdade de Medicina da Bahia da UFBA. Diretor do Núcleo de Excelência em Asma da UFBA.

Autor correspondente: Aline Silva Lima Matos. NEA/ProAR – UFBA. Rua Carlos Gomes, Edf. Multicentro de Saúde Carlos Gomes, 7º andar, 40060-330, Salvador – Bahia, Brasil. Telfax: +55 (71) 3013-8462. E-mail: alinelima.farma@gmail.com

RESUMO

A asma é uma doença respiratória, crônica e heterogênea. Por ser heterogênea, há uma busca por classificá-la em fenótipos. O fenótipo inflamatório é caracterizado pelo tipo de célula (eosinófilos e/ou neutrófilos) encontrado na mucosa pulmonar. A contagem de células no escarro demanda a indução e o processamento dessa amostra, logo biomarcadores substitutos, menos invasivos e mais fáceis de ser obtidos estão sendo avaliados. O objetivo desse trabalho é fazer uma revisão da literatura para reunir os artigos que validam as células sanguíneas (eosinófilos e neutrófilos) como biomarcadores substitutos da citologia do escarro induzido. Este estudo trata-se de uma revisão de literatura onde foram incluídos os artigos de validação diagnóstica que apresentaram dados de sensibilidade, especificidade, acurácia ou pontos de cortes de eosinofilia e/ou neutrofilia sanguínea em pacientes asmáticos. Os estudos que avaliaram os eosinófilos sanguíneos como biomarcadores de asma eosinofílica apresentaram uma mediana da sensibilidade de 70%, a mediana da especificidade de 74,5% e a mediana da acurácia foi de 79%. Dos sete trabalhos encontrados, apenas quatro avaliaram os neutrófilos. Entre esses estudos a mediana de sensibilidade foi de 49%, a mediana da especificidade foi de 70% e a mediana da acurácia foi de 60%. Em conclusão, o eosinófilo de sangue periférico é um bom candidato a biomarcador substituto da citologia do escarro.

Descritores: asma eosinofílica, biomarcador substituto, acurácia

INTRODUÇÃO

A asma é uma doença respiratória, crônica e heterogênea, cujos sintomas são sibilos, tosse, dispneia, opressão torácica que podem variar em frequência e intensidade e que levam desde limitações das atividades diárias até a crises que necessitem de atendimento de emergência e que podem ser fatais (GINA, 2018). Por ser uma síndrome heterogênea, pesquisadores estão buscando classificá-la em fenótipos que possam auxiliar o diagnóstico e orientar o tratamento. Fenótipos são as características apresentadas por indivíduos, resultante da interação entre a genética e o meio ambiente. Os fenótipos da asma podem ser clínicos, inflamatórios ou baseados em desencadeantes, mas ainda existe muita controvérsia no estabelecimento desses fenótipos (WENZEL, 2006).

O fenótipo inflamatório é caracterizado pelo tipo de célula predominantemente envolvido, ou seja, os eosinófilos e/ou neutrófilos funcionam como biomarcadores. A asma eosinofílica tem sido mais bem estudada, e está relacionada a uma resposta imune do tipo 2. É caracterizada pela presença de eosinófilos em uma proporção maior que dois por cento na citologia do escarro induzido (WENZEL, 2012). Estudos mostram que a asma está mais frequentemente associada à eosinofilia no escarro, essa eosinofilia pode diminuir com o uso de corticosteroides, porém 50% dos indivíduos tratados permanecem eosinofílicos (PAVORD et al., 1997; LOUIS et al., 2000).

Indivíduos asmáticos com inflamação neutrofílica apresentam as formas mais graves da doença e uma função pulmonar mais precária (WENZEL, 2006, 2012). A presença de maior quantidade de eosinófilos no escarro está associada com pior função pulmonar, mais exacerbações e, conseqüentemente, pior qualidade de vida (JATAKANON et al., 2000; LOUIS et al., 2000; SCHLEICH et al., 2014). A neutrofilia pode coexistir com a eosinofilia, isto enfatiza a complexidade imunobiológica da asma grave (WENZEL, 2012). Existem tratamentos que tem como alvo a asma eosinofílica, o anticorpo Anti-IL5 reduz o número de eosinófilos na citologia do escarro induzido, previne exacerbações e promove o controle da doença (GREEN et

al., 2002; JAYARAM et al., 2006).

A contagem de células no escarro demanda a indução e o processamento dessa amostra. Este procedimento está disponível apenas em clínicas especializadas, demanda tempo e profissional especializado para leitura da citologia, por essa razão, há uma busca por biomarcadores substitutos que sejam menos invasivos (YAP et al., 2013).

A medida da concentração do óxido nítrico exalado (FeNO) pode ser útil como biomarcador, a literatura tem demonstrado boa correlação com a eosinofilia do escarro, no entanto, tem um custo alto para países em desenvolvimento e perde a especificidade em fumantes e em indivíduos com outras condições alérgicas (BERRY et al., 2005; WESTERHOF et al., 2015). Também existe uma suspeita de que o FeNO e os eosinófilos estejam relacionados a vias imunológicas distintas, um ensaio clínico com anti-IL5 demonstrou a diminuição dos eosinófilos sem diminuição do FeNO e outro ensaio clínico, com anti-IL-13 demonstrou diminuição de FeNO sem diminuição significativa dos eosinófilos (COUMOU; BEL, 2016). A medida de IgE não foi identificada como bom biomarcador para tratamento ou desfecho clínico e a periostina tem baixa disponibilidade e seus resultados são confundidos durante a infância, a gestação e doenças dentárias (PAVORD et al., 2017).

Por outro lado, a contagem de células em sangue periférico é uma prática rotineira, está disponível nos centros de saúde, tem custo acessível e sua coleta causa pouco desconforto. Tornando-se uma boa possibilidade para substituir a citologia do escarro induzido.

O objetivo desse trabalho é fazer uma revisão da literatura para reunir os artigos que validam as células sanguíneas (eosinófilos e neutrófilos) como biomarcadores substitutos da citologia do escarro induzido.

METODOLOGIA

Este estudo trata-se de uma revisão de literatura do tipo narrativa onde se reuniu artigos de validação diagnóstica que avaliaram a eosinofilia e/ou neutrofilia

sanguínea como biomarcador substituto da citologia do escarro induzido. Foi realizada uma busca nos seguintes bancos de dados, *MEDLINE (PUBMED)*, *SCIELO* e *LILACS*, considerando um período de cinco anos, de 2013 a 2018. Foram utilizados como buscadores os termos: *eosinophilic asthma*, *blood eosinophilia asthma*, *eosinophilia surrogate biomarker*, *counts blood eosinophil*, *serum eosinophil count*, *serum neutrophil count*, *accuracy*, *sensibility*, *specificity*, *neutrophilic asthma*, *blood neutrophilia asthma*, *neutrophilia surrogate biomarker* e *count blood neutrophil*.

Foram incluídos os artigos de validação diagnóstica que apresentaram dados de sensibilidade, especificidade, acurácia ou pontos de cortes de eosinofilia e/ou neutrofilia sanguínea em pacientes asmáticos de qualquer gravidade. Erro metodológico foi considerado critério de exclusão, também foram excluídos artigos duplicados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Oito artigos satisfizeram os critérios de inclusão onde pelo menos um dos objetivos era avaliar a potencialidade de células sanguíneas (eosinófilos e/ou neutrófilos) como biomarcadores para citologia de escarro induzido. Um artigo foi excluído por duplicidade, logo sete estudos foram avaliados.

A tabela 1 mostra os resultados para os estudos diagnósticos que avaliaram os eosinófilos sanguíneos como biomarcadores substitutos. E a tabela 2 mostra a avaliação de neutrófilos sanguíneos como biomarcadores.

Tabela 1. Estudos que avaliaram a contagem de eosinófilos no sangue como biomarcadores substitutos para a citologia do escarro induzido em asmáticos

Estudos	Metodologia	Ponto de Corte	Sensibilidade	Especificidade	Acurácia
YAP et al., 2013 Nova Zelândia Internal Medicine Journal	Estudo transversal, 80 pacientes asmáticos	---	63,2%	77,4%	69,2%
SCHLEICH et al., 2013 Bélgica BMC Pulmonary Medicine	Estudo retrospectivo, 508 indivíduos asmáticos	220mm ³	77%	70%	79%
HASTIE et al., 2013 Estados Unidos J Allergy Clin Immunol	Estudo transversal, 254 asmáticos	300mm ³	59%	65%	63%
ZHANG et al., 2014 China Clinical & Experimental Allergy	Estudo transversal, 164 asmáticos tratados, mas não controlados	260mm ³	83,1%	82,8%	89,8%

Cont. Tabela 1. Estudos que avaliaram a contagem de eosinófilos no sangue como biomarcadores substitutos para a citologia do escarro induzido em asmáticos

Estudos	Metodologia	Ponto de Corte	Sensibilidade	Especificidade	Acurácia
WESTERHOF et al., 2015 Holanda European Respiratory Journal	Estudo de seguimento, 336 com asma de início adulto	90mm ³ 410mm ³	96% 36%	26% 95%	83%
WAGENER et al., 2015 Holanda Thorax	Estudo transversal, 110 asmáticos leves/moderados e 37 asmáticos graves	270mm ³	78%	91%	89%
DE FARIAS et al., 2017 Brasil Respirology	Estudo transversal, 121 asmáticos moderados/graves	234mm ³	36,73%	72,2%	65%

Tabela 2. Estudos que avaliaram a contagem de neutrófilos no sangue como biomarcadores substitutos para a citologia do escarro induzido em asmáticos

Estudos	Metodologia	Ponto de Corte	Sensibilidade	Especificidade	Acurácia
SCHLEICH et al., 2013 Bélgica BMC Pulmonary Medicine	Estudo retrospectivo, 508 indivíduos asmáticos	4960mm ³ 66%	49% 37%	70% 90%	59% 63%
HASTIE et al., 2013 Estados Unidos J Allergy Clin Immunol	Estudo transversal, 254 asmáticos	3000mm ³	77%	37%	55%
ZHANG et al., 2014 China Clinical & Experimental Allergy	Estudo transversal, 164 asmáticos tratados, mas não controlados	61,52%	61,5%	63,2%	62,3%
DE FARIAS et al., 2017 Brasil Respirology	Estudo transversal, 121 asmáticos moderados/graves	59,8%	29,73%	78,26%	60%

Schleich e colaboradores (2013) realizaram um estudo retrospectivo na Bélgica com 508 participantes. A asma foi diagnosticada pela presença de dispneia, tosse, aperto no peito, sibilos e reversibilidade das vias aéreas. Esse estudo encontrou como ponto de corte para eosinofilia sanguínea o valor de 220 cel/mm^3 , com uma sensibilidade de 77%, uma especificidade de 70% e uma acurácia de 79%. A neutrofilia sanguínea também foi avaliada e o ponto de corte estabelecido foi 4960 cel/mm^3 , no entanto a sensibilidade e a acurácia foram baixa, não sendo um bom parâmetro para detectar verdadeiros positivos.

Na China, Zhang e colaboradores (2014) conduziram um corte transversal com 164 participantes. O objetivo foi verificar se a circulação sanguínea refletia a inflamação das vias aéreas. A amostra foi composta por asmáticos não controlados, os autores consideraram asma não controlada um resultado de $\text{ACQ6} > 0.7$. Este estudo mostrou que a contagem de eosinófilos no sangue pode detectar com precisão a asma eosinofílica em pacientes com asma não controlada, com um ponto de corte de 260 cel/mm^3 . No entanto, as contagens de neutrófilos no sangue estão pouco relacionadas às porcentagens de neutrófilos no escarro e têm menor utilidade.

Wagener e colaboradores (2015) desenvolveram uma análise transversal para quantificar a relação entre eosinófilos sanguíneos e os eosinófilos do escarro em asmáticos leves a moderados. E chegou a conclusão que com um ponto de corte de 270 cel/mm^3 é possível avaliar a inflamação das vias aéreas pelo sangue periférico.

Os estudos que avaliaram os eosinófilos sanguíneos como biomarcadores de asma eosinofílica, considerando a citologia do escarro induzido como padrão-ouro, apresentaram uma mediana da sensibilidade entre os estudos de 70%, a mediana da especificidade de 74,5% e a mediana da acurácia foi de 79%. Mostrando que a contagem das células em sangue periférico se correlaciona bem com a contagem das células na citologia do escarro e há possibilidades de se tornar um bom biomarcador.

Os estudos de Zhang (2014) e Wagener (2015) foram os que mais se

aproximaram em valores de pontos de corte e em acurácia para a análise do eosinófilo sanguíneo.

Ao analisar o estudo de Westerhof (2015), observa-se que pontos de cortes muito altos aumentam a sensibilidade, porém diminui consideravelmente a especificidade. Ou seja, certamente classificará de forma correta os indivíduos com asma eosinofílica, mas incluirá como eosinofílico quem não é. O contrário também acontece, quando diminui o valor do ponto de corte, aumenta a especificidade em detrimento da sensibilidade.

Dos sete trabalhos encontrados, apenas quatro avaliaram os neutrófilos como método diagnóstico substituto para asma neutrofílica. Entre esses estudos a mediana de sensibilidade foi de 49%, a mediana da especificidade foi de 70% e a mediana da acurácia foi de 60%, evidenciando que a contagem de neutrófilos em sangue periférico não se correlacionou bem com o escarro. Foram poucos os trabalhos que avaliaram a neutrofilia, não houve padrão ou semelhança entre os pontos de corte estabelecidos ou encontrados e por essas questões não é possível unificar um resultado. De acordo com a literatura, ainda não há um biomarcador validado para identificar a asma neutrofílica (SCHLEICH; DEMARCHE; LOUIS, 2015).

Diagnosticar a presença de eosinófilos em indivíduos asmáticos é importante por que inicialmente esses indivíduos podem responder bem ao corticosteroide e posteriormente a manutenção dos eosinófilos após o tratamento pode indicar exacerbações e falta de controle da doença (COUMOU; BEL, 2016). Diante do exposto, mais pesquisas são necessárias, não apenas para avaliar o sangue periférico com relação ao escarro, mas avaliando a associação deste biomarcador com padrões clínicos da asma em diferentes cenários.

REFERÊNCIAS

BERRY, M. A.; SHAW, D. E.; GREEN, R. H.; BRIGHTLING, C. E.; WARDLAW, A. J.; PAVORD, I. D. The use of exhaled nitric oxide concentration to identify eosinophilic airway inflammation: An observational study in adults with asthma. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 35, n. 9, p. 1175–1179, 2005.

COUMOU, H.; BEL, E. H. Improving the diagnosis of eosinophilic asthma. **Expert Review of Respiratory Medicine**, v. 10, n. 10, p. 1093–1103, 2016.

GINA. GLOBAL STRATEGY FOR Global Strategy for Asthma Management and Prevention. p. <http://ginasthma.org/2018-gina-report-global-strat>, 2018. Disponível em: <<http://ginasthma.org/2018-gina-report-global-strategy-for-asthma-management-and-prevention/>>

GREEN, R. H.; BRIGHTLING, C. E.; MCKENNA, S.; HARGADON, B.; PARKER, D.; BRADDING, P.; WARDLAW, A. J.; PAVORD, I. D. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: A randomised controlled trial. **Lancet**, v. 360, n. 9347, p. 1715–1721, 2002.

HASTIE, A. T.; MOORE, W. C.; LI, H.; RECTOR, B. M.; ORTEGA, V. E.; PASCUAL, R. M.; PETERS, S. P.; MEYERS, D. A.; BLEECKER, E. R. Biomarker surrogates do not accurately predict sputum eosinophil and neutrophil percentages in asthmatic subjects. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 132, n. 1, p. 72–80.e12, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2013.03.044>>.

JATAKANON, A.; LIM, S.; BARNES, P. J. Changes in sputum eosinophils predict loss of asthma control. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 161, n. 1, p. 64–72, 2000.

JAYARAM, L.; PIZZICHINI, M. M.; COOK, R. J.; BOULET, L. P.; LEMIÈRE, C.; PIZZICHINI, E.; CARTIER, A.; HUSSACK, P.; GOLDSMITH, C. H.; LAVIOLETTE, M.; PARAMESWARAN, K.; HARGREAVE, F. E. Determining asthma treatment by monitoring sputum cell counts: Effect on exacerbations. **European Respiratory Journal**, v. 27, n. 3, p. 483–494, 2006.

LOUIS, R.; LAU, L. C. K.; BRON, A. O.; ROLDAAN, A. C.; RADERMECKER, M.; DJUKANOVIĆ, R. The relationship between airways inflammation and asthma severity. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 161, n. 1, p. 9–16, 2000.

PAVORD, I. D.; BEASLEY, R.; AGUSTI, A.; ANDERSON, G. P.; BEL, E.; BRUSSELLE, G.; CULLINAN, P.; CUSTOVIC, A.; DUCHARME, F. M.; FAHY, J. V.; FREY, U.; GIBSON, P.; HEANEY, L. G.; HOLT, P. G.; HUMBERT, M.; LLOYD, C. M.; MARKS, G.; MARTINEZ, F. D.; SLY, P. D.; VON MUTIUS, E.; WENZEL, S.; ZAR, H. J.; BUSH, A. After asthma: Redefining airways diseases. **The Lancet**, v. 6736, n. 17, p. 1–51, 2017.

PAVORD, I. D.; PIZZICHINI, M. M.; PIZZICHINI, E.; HARGREAVE, F. E. The use of

induced sputum to investigate airway inflammation The use of induced sputum to investigate airway inflammation. **Access**, n. June 2006, p. 498–501, 1997.

SCHLEICH, F.; DEMARCHE, S.; LOUIS, R. Biomarkers in the management of difficult asthma. **Current topics in medicinal chemistry**, p. 1561–1573, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26467509>>.

SCHLEICH, F. N.; CHEVREMONT, A.; PAULUS, V.; HENKET, M.; MANISE, M.; SEIDEL, L.; LOUIS, R. Importance of concomitant local and systemic eosinophilia in uncontrolled asthma. **European Respiratory Journal**, v. 44, n. 1, p. 97–108, 2014.

WAGENER, A. H.; DE NIJS, S. B.; LUTTER, R.; SOUSA, A. R.; WEERSINK, E. J. M.; BEL, E. H.; STERK, P. J. External validation of blood eosinophils, FE_{NO} and serum periostin as surrogates for sputum eosinophils in asthma. **Thorax**, v. 70, n. 2, p. 115–120, 2015.

WENZEL, S. E. Asthma : defi ning of the persistent adult phenotypes. **Lancet**, v. 368, p. 804–13, 2006.

WENZEL, S. E. Asthma phenotypes: The evolution from clinical to molecular approaches. **Nature Medicine**, v. 18, n. 5, p. 716–725, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nm.2678>>.

WESTERHOF, G. A.; KOREVAAR, D. A.; AMELINK, M.; DE NIJS, S. B.; DEGROOT, J. C.; WANG, J.; WEERSINK, E. J.; TEN BRINKE, A.; BOSSUYT, P. M.; BEL, E. H. Biomarkers to identify sputum eosinophilia in different adult asthma phenotypes. **European Respiratory Journal**, v. 46, n. 3, p. 688–696, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1183/09031936.00012415>>.

WHO. **Chronic respiratory diseases - Asthma**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.who.int/respiratory/asthma/en/>>.

YAP, E.; CHUA, W. M.; JAYARAM, L.; ZENG, I.; VANDAL, A. C.; GARRETT, J. Can we predict sputum eosinophilia from clinical assessment in patients referred to an adult asthma clinic? **Internal Medicine Journal**, v. 43, n. 1, p. 46–52, 2013.

ZHANG, X. Y.; SIMPSON, J. L.; POWELL, H.; YANG, I. A.; UPHAM, J. W.; REYNOLDS, P. N.; HODGE, S.; JAMES, A. L.; JENKINS, C.; PETERS, M. J.; LIN, J. T.; GIBSON, P. G. Full blood count parameters for the detection of asthma inflammatory phenotypes. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 44, n. 9, p. 1137–1145, 2014.

4 METODOLOGIA

Desenho do estudo

Este estudo é um caso-controle. Os casos foram selecionados no ambulatório do Programa para Controle da Asma Grave na Bahia (ProAR) iniciado em 2003 em Salvador, Bahia, Brasil. O critério para admissão no programa foi ter asma grave de acordo com as classificações de gravidade da época. (NIH, 1997; GINA, 2002). Os critérios de admissão estão de acordo com a classificação de asma grave da organização mundial da saúde (BOUSQUET, 2010). Após admissão no programa, esses indivíduos passaram a ser tratados com corticosteroide inalado em associação com broncodilatador de longa ação.

Foram recrutados dois grupos controles, um grupo controle 1 composto por indivíduos com asma leve/moderada e um grupo controle 2 de indivíduos sem asma. Os participantes foram avaliados entre janeiro de 2013 e julho de 2015 no Núcleo de Excelência em Asma-ProAR, em Salvador, Bahia.

Critérios de inclusão e exclusão

Para o grupo caso, os critérios de inclusão foram ter diagnóstico de asma, estar em tratamento regular no ProAR por pelo menos seis meses e ter mais que dezoito anos e os critérios de exclusão foram gravidez e ter qualquer doença que interferisse na avaliação da asma.

Para o grupo controle 1, os critérios de inclusão foram ter diagnóstico de asma, com baixa frequência de sintomas, sem uso contínuo ou em doses baixas de corticosteroide inalado e ter mais que dezoito anos. Os critérios de exclusão foram gravidez e ter qualquer doença que interferisse na avaliação da asma.

Para o grupo controle 2, os critérios de inclusão foram não ter diagnóstico de asma e ter mais que dezoito anos. Os critérios de exclusão foram gravidez e ter qualquer sintoma de asma.

Recrutamento

Para inclusão no estudo, o diagnóstico de asma foi validado por dois especialistas. A validação consistiu na revisão dos prontuários com o objetivo de verificar a presença de sintomas de asma como sibilos, tosse, dispneia, aperto no peito e melhora dos sintomas com o uso do broncodilatador e/ou corticosteroide inalado. Em caso de discordância um terceiro especialista era consultado. A validação do diagnóstico foi realizada de acordo com os critérios da GINA de 2012, uma ficha padronizada era preenchida e a existiam quatro tipos de conclusão:

- A) Asma confirmada - sinais e sintomas típicos de asma e obstrução brônquica com reversibilidade, confirmada pela espirometria com obstrução reversível;
- B) Asma provável – sinais e sintomas típicos de asma sem obstrução brônquica reversível;
- C) Suspeita de asma – o quadro clínico não é típico de asma e não há obstrução reversível;
- D) Não é asma – os sintomas possuem outras causas

Foram considerados elegíveis aqueles classificados como A ou B. Foram analisados 977 prontuários e desses 949 foram considerados elegíveis. O convite para participar do estudo foi feito por contato telefônico e 553 concordaram em participar.

DIAGRAMA DE RECRUTAMENTO

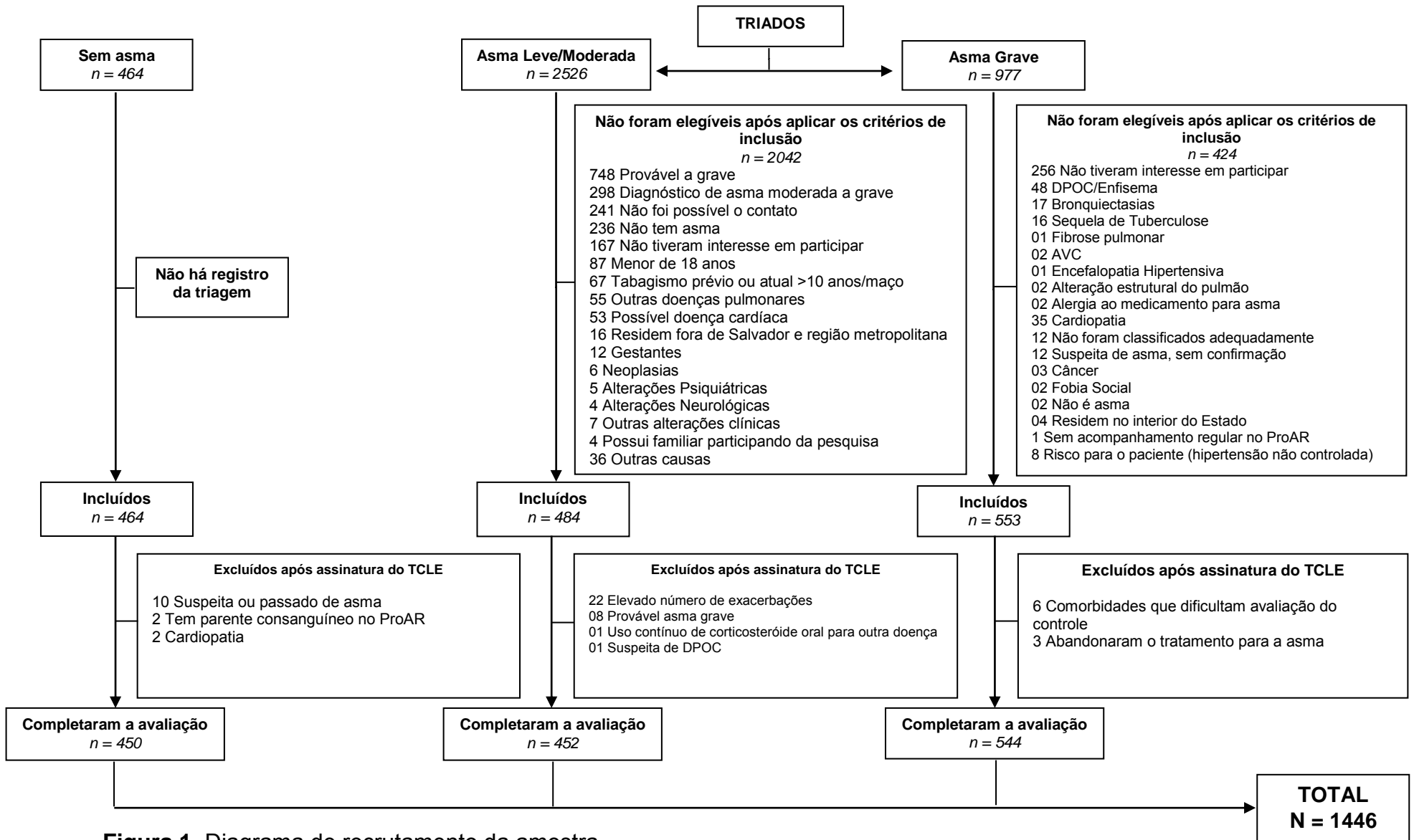


Figura 1. Diagrama de recrutamento da amostra

Os participantes dos grupos controles 1 e 2 foram oriundos da comunidade, eram usuários do Sistema Único de Saúde e faziam parte da mesma população dos pacientes do ProAR. Estes foram recrutados por indicação dos pacientes do grupo caso, por demanda espontânea, por divulgação em locais públicos e por transporte de massa. Eles foram contatados por telefone e neste momento eram verificados os critérios de inclusão e exclusão, caso fossem elegíveis, eram convidados para participar do estudo.

Um *call center* foi montado para recrutar e realizar uma pré-triagem com os participantes dos grupos controles. No grupo controle 1 foram contatados 2526 indivíduos e desses 484 foram considerados elegíveis e aceitaram participar do estudo, mas no momento da avaliação clínica foram detectados critérios de exclusão em 32 participantes. 22 tinham elevados números de exacerbações, 08 tinham asma grave, 01 utilizava corticosteroide sistêmico para outra doença, o que interferia na avaliação da asma e 01 tinha DPOC. 452 indivíduos realizaram a coleta dos dados. No grupo sem asma, 464 foram contatados e 450 completaram a avaliação.

Procedimentos do estudo

Os elegíveis foram convidados para a pesquisa por meio de contato telefônico. Aqueles que aceitaram participar, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foram orientados a comparecerem no dia agendado.

No dia da visita foram submetidos aos seguintes procedimentos:

- Análises sanguíneas: coleta de sangue (hemograma completo, IgE Total); O hemograma foi obtido pelo método automatizado Cell-Dyn Ruby (através de coleta à vácuo em tubo com o anticoagulante K2EDTA) e o IgE total foi realizado em amostra de soro, obtida por coleta à vácuo em tubo seco com gel separador, pelo método de quimioluminescência.
- Coleta de medidas antropométricas (altura, peso, IMC e circunferência abdominal) e dados vitais;

- Coleta de fezes; As amostras foram avaliadas pelo método de sedimentação espontânea.

- Teste alérgico cutâneo de hipersensibilidade imediata: Foi realizado na região do antebraço do paciente. O teste contou com controle negativo, controle positivo (histamina) e avaliou os seguintes alérgenos: *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Aspergillus flavus*, *Dermatophagoides farinae*, *Aspergillus fumigatus*, *Blomia tropicalis*, *Aspergillus niger*, *Epitélio de Gato*, *Alternaria alternata*, *Epitélio de Cachorro*, *Blatella germânica*, *Cladosporium herbarum*, *Periplaneta americana*, *Paspalum notatum* e *Cynodon dactylon*. Foi feita uma pequena punctura na pele no local de contato com cada alérgeno. O diâmetro das pápulas foi medido depois de 15 minutos. O teste foi considerado positivo se a média dos maiores diâmetros perpendiculares (excluindo pseudópodos) foi ao menos três milímetros maior que o controle negativo. Esse procedimento foi realizado por um profissional da área de saúde devidamente treinado.

- Espirometria: Os pacientes realizaram teste de função pulmonar em espirômetro Koko® (PDS Instrumentation Inc., Louisville, CO, EUA), segundo o protocolo da *American Thoracic Society* (ATS, 1995) usando os padrões de normalidade para a população brasileira (PEREIRA et al., 2007).

- Questionários: Os pacientes responderam aos Questionários para Controle da Asma (ACQ6) e Questionário sobre Qualidade de Vida em Asma (AQLQ). Devido ao baixo nível de escolaridade da amostra a aplicação foi realizada por entrevistador previamente treinado da área de saúde em uma sala reservada e mantendo-se imparcial às respostas.

- Avaliação clínica com especialista para verificação de comorbidades, histórico e condição de saúde atual.

Variáveis analisadas e sua caracterização

1. Variáveis sociodemográficas e antropométricas: idade, sexo, escolaridade, peso corporal, altura, índice de massa corpórea (IMC), bioimpedância, circunferência abdominal:

- Nas análises categorizamos a variável de escolaridade. Foi considerado baixo nível de escolaridade participantes analfabetos ou com fundamental 1 incompleto.

- Classificação de obesidade foi de acordo com o Índice de Massa Corpórea (IMC) segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2000): baixo $<18,5$; $18,5 \leq \text{IMC} \leq 24,9$ normal, $25 \leq \text{IMC} \leq 29,9$ sobrepeso, $\text{IMC} \geq 30$ obeso.

- Classificação de obesidade abdominal de acordo com a mensuração circunferência abdominal (CA). Em 2005, a Federação Internacional de Diabetes avaliou ponto de corte para circunferência abdominal de acordo com as etnias e concluíram que os sul-americanos equivalem às mesmas medidas sul-asiáticas, sendo ponto de corte para mulheres ≥ 80 cm e homens ≥ 90 cm (IDF, 2005).

Analizamos também a bioimpedância no intuito de ter uma melhor precisão sobre a composição corporal. Nós classificamos de acordo com a gordura corporal: baixa, saudável, alta e obeso baseado na norma *NIH/WHO BMI* conforme reportado por Gallagher e colaboradores (GALLAGHER et al. 2000).

2. Histórico clínico: comorbidades, idade do início dos sintomas, resposta ao broncodilatador e teste alérgico cutâneo de hipersensibilidade imediata positivo:

- A descrição de comorbidades foi pela presença do diagnóstico de hipertensão, dislipidemias ou diabetes.

- O critério de resposta ao broncodilatador foi dado pela reversibilidade apresentada no VEF_1 . Foi considerado reversível uma variação $\geq 12\%$ e acima de 200ml no VEF_1 , 15 minutos após inalação de 400 mcg de salbutamol;

- A definição de atopia foi por meio do teste cutâneo de hipersensibilidade imediata,

considerado positivo quando a pápula ≥ 3 mm que o controle negativo para qualquer aeroalérgeno testado. (BOUSQUET et al., 2012).

3. Foi considerado histórico de tabagismo positivo para aqueles que tinham uma carga tabágica prévia ≥ 10 maços/ano;
4. Foi considerada exposição a fogão à lenha positiva para aqueles que tinham uma exposição prévia > 10 anos;
5. Definiu-se eosinofilia sanguínea pela contagem de células ≥ 260 cel/mm³. (ZHANG et al., 2014). A literatura propõe outros pontos de corte, mas este foi o melhor em sensibilidade, especificidade e acurácia. Além de ter sido estabelecido em uma amostra semelhante à amostra deste estudo.
6. Definiu-se neutrofilia sanguínea pela contagem de células ≥ 5.000 cél/mm³ (NADIF et al., 2009).
7. Classificação do controle da asma de acordo com o *ACQ₆* e escore de qualidade de vida dos pacientes de acordo com o *AQLQ*:

- O *ACQ₆* é composto de 6 perguntas para avaliação do controle dos sintomas de asma, onde 5 questões são relacionadas a sintomas de asma e limitações de atividades nos últimos sete dias e a última questão avalia o uso de medicação broncodilatadora para alívio dos sintomas, também em relação aos últimos sete dias. A asma é considerada controlada ou parcialmente controlada com escores $< 1,5$ e não controlada para escore $\geq 1,5$ (LEITE et. al, 2008).

- O *AQLQ* é um questionário sobre qualidade de vida em asma com 32 itens que avalia os problemas funcionais dividido em quatro domínios físicos, emocionais, sociais e profissionais. Cada domínio é avaliado por meio da média das respostas e uma média geral é obtida dos quatros domínios. Quanto maior a pontuação (máximo de 7,0) melhor a qualidade de vida do indivíduo (JUNIPER et al., 1999).

8. Diagnóstico da rinite foi feito através da avaliação clínica por um médico especialista. A gravidade da rinite foi classificada de acordo com os critérios da iniciativa *ARIA* (Allergic Rhinitis and Its Impact on Asthma-Rinite Alérgica e seu impacto sobre a Asma) em leve ou moderada/grave levando em consideração as respostas às perguntas: a rinite atrapalha o sono, impacta nas atividades diárias, do lazer, no esporte, na escola ou no trabalho? Se a resposta for “*sim*” é considerada como rinite leve e se for “*não*” é classificada como rinite moderada/grave. Nas análises levamos em consideração somente rinite moderada/grave (BOUSQUET et al., 2008).

9. Consideramos o diagnóstico de Doença do Refluxo Gastroesofágico realizado por um médico e identificado pela prescrição de inibidor de bomba de prótons diante de sintomas característicos. A gravidade do problema foi avaliada por meio do Questionário de sintomas na doença do refluxo gastroesofágico (QS-DRGE), quanto maior pontuação mais grave são os sintomas de refluxo gastroesofágico (FORNARI et al, 2004).

10. Classificação de depressão grave de acordo com o Inventário Beck de Depressão (*BDI*):
 - O *BDI* é um inventário de auto relato composto por 21 alternativas para avaliação da intensidade de depressão. Para cada item há quatro afirmações. Cada uma delas pode obter valores de 0 a 3 pontos, indicando de forma crescente o grau de gravidade dos sintomas. Serão considerados depressivos graves os indivíduos com escore igual ou acima de 20 (CUNHA, 2001).

11. Alta dose diária de corticosteroide inalatório foi classificada de acordo com a GINA (2015): Budesonida >800 mcg, Fluticasona > 500 mcg, Beclometosona > 1000mcg e Mometasona > 440) (GINA, 2015).

12. Obstrução das vias aéreas: quando o $VEF_1 < 80\%$ e a relação VEF_1/CVF está abaixo do limite inferior de normalidade (PEREIRA et al., 2014).

13. Classificação de asma grave. Os participantes do grupo caso foram admitidos no programa com a classificação de asma grave do período de admissão, (GINA, 2002; NIH, 1997). Esses critérios estão de acordo com a classificação de asma grave da OMS. (BOUSQUET et al., 2010).

14. A classificação de asma grave de difícil tratamento foi de acordo com a OMS. (BOUSQUET et al., 2010).

15. Asma de início tardio: utilizamos a faixa etária ≥ 18 anos.

Análise estatística

Foi utilizado o software estatístico Statistical Package for the Social Sciences para Windows na versão 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). Foi aplicado o teste de Mann-Whitney para as variáveis contínuas, o teste de Kruskal-wallis para comparar os grupos e o teste de qui-quadrado para as variáveis categóricas.

Para responder se a gravidade da asma estava associada à eosinofilia sanguínea foi realizada uma análise de regressão logística binária para determinar se o grupo caso (asma grave) tinha mais chance de apresentar fenótipo eosinofílico em comparação com o grupo controle 1 (asma leve/moderada). Também comparamos o grupo caso ao grupo controle 2 (sem asma) para explorar a associação entre asma e eosinofilia em nossa população.

Para responder se osinofilia sanguínea estava associada a falta de controle e à obstrução das vias aéreas, dentro do grupo caso, os indivíduos foram agrupados de controlados ou não-controlados (ACQ6) e em com obstrução e sem obstrução (PEREIRA, 2007). Foi realizada uma análise de regressão logística binária para determinar se o fenótipo de asma eosinofílica está associado com falta de controle da asma e presença de obstrução nas vias aéreas quando comparados com asmáticos sem asma eosinofílica.

As análises foram ajustadas pela idade, presença de comorbidades,

histórico de tabagismo, exposição a fogão à lenha e altas doses de corticosteroide inalado.

Adicionalmente, realizamos análise de regressão logística binária para avaliar a associação entre neutrofilia sanguínea e falta de controle da asma e obstrução das vias aéreas.

Devido à frequência de indivíduos mais velhos e obesos durante a coleta, realizamos análises de subgrupo para verificar a influência da idade e da obesidade nessa amostra de asmáticos.

Aspectos éticos

Este estudo está de acordo com as normas preconizadas na Resolução 466/2012, do Conselho Nacional de Saúde para pesquisa em seres humanos. Este estudo é parte de um projeto mais abrangente intitulado —“Fatores de risco, biomarcadores e endofenotipos da asma grave” que foi aprovado pelo CONEP pelo Parecer/Resolução nº 450/2010 e por resolução aditiva do Comitê de Ética da Maternidade Climério de Oliveira da UFBA pelo PARECER/RESOLUÇÃO N.º 095/2012.

Instituição Financiadora

O estudo —“Fatores de risco, biomarcadores e endofenotipos da asma grave” foi financiado pela CNPq e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) em Edital PRONEX. Termo de Outorga nº PNX0018/2009.

5 RESULTADOS

5.1 ARTIGOS ORIGINAIS

Artigo nº 1

Eosinophilic asthma, according to a blood eosinophil criterion, is associated with disease severity and lack of control among underprivileged urban Brazilians

Respiratory Medicine

Submetido

Thank you for your submission to Respiratory Medicine

1 message

Respiratory Medicine Editorial Office" <eeserver@eesmail.elsevier.com>

19 de maio de 2018

11:08

Responder a: "Respiratory Medicine Editorial Office!" <respiratorymedicine@elsevier.com>

Para: alineilma.farma@gmail.com

Dear Professor Lima-Matos,

Thank you for sending your manuscript Eosinophilic asthma, according to a blood eosinophil criterion, is associated with disease severity and lack of control among underprivileged urban Brazilians for consideration to Respiratory Medicine. Please accept this message as confirmation of your submission.

When should I expect to receive the Editor's decision?

For Respiratory Medicine, the average editorial time (in weeks) from submission to final decision is: 9.

What happens next?

Here are the steps that you can expect as your manuscript progresses through the editorial process in the Elsevier Editorial System (EES).

1. First, your manuscript will be assigned to an Editor and you will be sent a unique reference number that you can use to track it throughout the process. During this stage, the status in EES will be "With Editor".

2. If your manuscript matches the scope and satisfies the criteria of Respiratory Medicine, the Editor will identify and contact reviewers who are acknowledged experts in the field. Since peer-review is a voluntary service, it can take some time but please be assured that the Editor will regularly remind reviewers if they do not reply in a timely manner. During this stage, the status will appear as "Under Review".

Once the Editor has received the minimum number of expert reviews, the status will change to "Required Reviews Complete".

3. It is also possible that the Editor may decide that your manuscript does not meet the journal criteria or scope and that it should not be considered further. In this case, the Editor will immediately notify you that the manuscript has been rejected and may recommend a more suitable journal.

For a more detailed description of the editorial process, please see Paper Lifecycle from Submission to Publication: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/160/p/8045/

How can I track the progress of my submission?

You can track the status of your submission at any time at <http://ees.elsevier.com/YRMED>

Once there, simply:

1. Enter your username: Your username is: alineilma.farma@gmail.com

If you need to retrieve password details, please go to: http://ees.elsevier.com/YRMED/automail_query.asp

2. Click on [Author Login]. This will take you to the Author Main Menu

3. Click on [Submissions Being Processed]

Many thanks again for your interest in Respiratory Medicine.

Kind regards,

Professor J Virchow

Dear Professor Lima-Matos,

Thank you for sending your manuscript Eosinophilic asthma, according to a blood eosinophil criterion, is associated with disease severity and lack of control among underprivileged urban Brazilians for consideration to Respiratory Medicine. Please accept this message as confirmation of your submission.

When should I expect to receive the Editor's decision?

For Respiratory Medicine, the average editorial time (in weeks) from submission to final decision is: 9.

What happens next?

Here are the steps that you can expect as your manuscript progresses through the editorial process in the Elsevier Editorial System (EES).

1. First, your manuscript will be assigned to an Editor and you will be sent a unique reference number that you can use to track it throughout the process. During this stage, the status in EES will be "With Editor".

2. If your manuscript matches the scope and satisfies the criteria of Respiratory Medicine, the Editor will identify and contact reviewers who are acknowledged experts in the field. Since peer-review is a voluntary service, it can take some time but please be assured that the Editor will regularly remind reviewers if they do not reply in a timely manner. During this stage, the status will appear as "Under Review".

Once the Editor has received the minimum number of expert reviews, the status will change to "Required Reviews Complete".

3. It is also possible that the Editor may decide that your manuscript does not meet the journal criteria or scope and that it should not be considered further. In this case, the Editor will immediately notify you that the manuscript has been rejected and may recommend a more suitable journal.

For a more detailed description of the editorial process, please see Paper Lifecycle from Submission to Publication: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/160/p/8045/

How can I track the progress of my submission?

You can track the status of your submission at any time at <http://ees.elsevier.com/YRMED>

Once there, simply:

1. Enter your username: Your username is: alinelima.farma@gmail.com

If you need to retrieve password details, please go to:

http://ees.elsevier.com/YRMED/automail_query.asp

2. Click on [Author Login]. This will take you to the Author Main Menu
3. Click on [Submissions Being Processed]

Many thanks again for your interest in Respiratory Medicine.

Kind regards,

Professor J Virchow

If you require further assistance, you are welcome to contact our Researcher Support team 24/7 by live chat and email or 24/5 by phone: <http://support.elsevier.com>

**Eosinophilic asthma, according to a blood eosinophil criterion, is associated
with disease severity and lack of control among underprivileged urban
Brazilians**

Authors:

Aline Lima-Matos
Academic degree: MSc

alinelima.farma@gmail.com
ProAR - Núcleo de Excelência em Asma
Universidade Federal da Bahia - Brazil

Eduardo Vieira Ponte
Academic degree: MD

evponte@yahoo.com.br
Departamento de Clínica Médica
Faculdade de Medicina de Jundiaí - Brazil

Juliana Pires Viana de Jesus
Academic degree: MSc

juliana.neasma@gmail.com
ProAR - Núcleo de Excelência em Asma
Universidade Federal da Bahia - Brazil

Paula Cristina Andrade Almeida
Academic degree: PhD

fisioterapia.proar@gmail.com
ProAR - Núcleo de Excelência em Asma
Universidade Federal da Bahia - Brazil

Valmar Bião Lima
Academic degree: BMath

valmarbiao@gmail.com
ProAR - Núcleo de Excelência em Asma
Universidade Federal da Bahia - Brazil

Namhee Kwon
Academic degree: MD, PhD

namhee.n.kwon@gsk.com
Global Medical Affairs, GSK, Brentford, UK

John Riley
Academic degree: MD, PhD

john.h.riley@gsk.com
Global Medical Affairs, GSK, Brentford, UK

Luane Marques de Mello
Academic degree: MD

luane@fmrp.usp.br
Departamento de Medicina Social
Universidade de São Paulo - Brazil

Álvaro A. Cruz
Academic degree: MD

cruz.proar@gmail.com
ProAR - Núcleo de Excelência em Asma
Universidade Federal da Bahia, Brazil

Corresponding author: Aline Silva Lima Matos. ProAR – UFBA. Rua Carlos Gomes, Edf. Multicentro de Saúde Carlos Gomes, 7º andar, 40060-330, Salvador – Bahia, Brasil. Telfax: +55 (71) 3013-8462. E-mail: alinelima.farma@gmail.com

Founding: CNPq e FAPESB (Edital PRONEX 020/2009, auxílio 6353 PNX 0018/2009), Brazil and GlaxoSmithKline "investigator initiated grant" in the Trust in Science program, from 2012 to 2015.

ABSTRACT

Background: Asthma is a syndrome with multiple phenotypes. Peripheral blood eosinophil counts might be the ideal biomarker to identify subjects with eosinophilic asthma. It is available, inexpensive, and it is associated with eosinophilia in sputum.

Objective: The aim of this study was to evaluate whether blood eosinophilia is associated with asthma severity and to evaluate whether blood eosinophilia is associated with lack of control of asthma symptoms and airway obstruction.

Methods: Case control study. The cases were subjects recruited from a cohort of patients with severe asthma, in Salvador-BR, demanding continuous inhaled corticosteroids and LABA. There were two control groups: 1) subjects with mild/moderate asthma, 2) subjects with no asthma. Subjects enrolled in the study answered questionnaires, had their blood and stool samples collected, performed spirometry and SPT. We used a cutoff ≥ 260 cells/mm³ to blood eosinophilia.

Results: We evaluated 544 subjects in the case group, 452 subjects with mild to moderate asthma and 450 subjects with no asthma. The subjects of the case group had higher odds of presenting the eosinophilic phenotype in comparison to subjects with mild to moderate asthma [OR 1.60 95CI(1.19-2.16)] and no asthma [OR 3.93; 95CI(2.90-5.33)]. The eosinophilic phenotype, according to blood count, is associated with uncontrolled asthma [OR 1.56; 95CI(1.06-2.28)], but it is not associated with airway obstruction [OR 0.87; 95CI(0.61-1.24)]. **Conclusion:** We conclude that the blood eosinophilia is a biomarker associated with asthma severity and poor symptom control, but we found no association with reduced lung function.

Key words: asthma phenotypes, blood eosinophilia, severe asthma, biomarker

INTRODUCTION

Asthma is a heterogeneous syndrome with multiple phenotypes (Moore WC 2010). The presence of increased number of eosinophils in the lower airways of subjects with asthma, as detected in examining induced sputum, has been described as the eosinophilic phenotype, is associated with more respiratory symptoms, exacerbations of asthma and airway obstruction (Schleich FN 2014, Jatakanon A 2000). Furthermore, induced sputum eosinophilia has been successfully used to guide the treatment of asthma (Green RH 2002).

IL-5 is a key cytokine that regulates the survival and effector function of eosinophils in the airway (Kouro T 2009). Anti-IL5 monoclonal antibody is a treatment option for the eosinophilic phenotype of asthma, when resistant to the conventional therapy including high doses of inhaled corticosteroids. Clinical trials demonstrated that anti-IL5 antibody improves respiratory symptoms and prevents asthma exacerbations among subjects with eosinophilic asthma (Powel C 2015).

The usual means to identify the eosinophilic phenotype of asthma is eosinophil count in induced sputum (Brightling CE 2006). However, to induce and analyze sputum of subjects with asthma is time consuming, uncomfortable and is not available in most settings (Yap E 2013). It is necessary to identify an accessible biomarker to discriminate the eosinophilic from the non-eosinophilic phenotype of asthma. Exhaled nitric oxide correlates with airway eosinophil measurement, but it is an expensive biomarker for low-resource settings, as it demands specific devices, and it is not available in most settings either (Westerhof GA 2015).

The peripheral blood eosinophil counts might be the ideal biomarker to identify subjects with eosinophilic asthma in the routine health care. It is available in most centers, it is inexpensive, obtaining samples of peripheral blood causes little discomfort and is associated with eosinophilia in induced sputum (Westerhof GA 2015). Retrospective analysis of a large database from the United Kingdom suggests blood eosinophilia is associated with worse clinical outcomes in patients with most severe forms of asthma (Kerkhof M 2018, Price 2015). However, it is not so clearly established whether the eosinophilic phenotype of asthma, according to a peripheral

blood criterion, is related to disease severity, lack of control of symptoms and airway obstruction, and whether this is true also for low-resource settings. Thus, we hypothesize that subjects with eosinophilic asthma, according to the peripheral blood eosinophil criterion, have more severe disease, more symptoms of asthma and worse airway obstruction in comparison to subjects without eosinophilic asthma also in a sample of the population of Brazil. The primary aim of this study was to evaluate whether severe asthma is associated with blood eosinophilia. The secondary objectives were to evaluate whether blood eosinophilia is associated with lack of control of asthma symptoms and airway obstruction, in patients with most severe forms of asthma under regular treatment.

METHODS

Study population

This is a case-control study. The cases were subjects selected from the outpatient clinic cohort of Program for Control of Asthma in Bahia (ProAR) established from 2003 in the City of Salvador, Brazil, with an individual follow up ranging from 10 years to 6 month (minimal). ProAR is the main public secondary care outpatient reference center specialized in asthma in Salvador and receives subjects with uncontrolled asthma, usually demanding emergency visits and hospital admissions. The criteria for admission in the clinic was having severe asthma, according to classifications available prior to 2003 by NIH and GINA. As these individuals are underprivileged users of the public health system and had no access to adequate treatment before admission, they meet the criteria proposed to WHO of untreated severe asthma (Bousquet J 2010). The patients from the group case (severe asthma) have been treated with continuous inhaled corticosteroids and long acting beta 2 agonists (LABA). There were two control groups: 1) subjects with mild to moderate asthma, most of them controlled without current inhaled corticosteroids and a few of them using low-dose with no other controller, and 2) subjects with no asthma. The enrollment period for the case-control study was from January 2013 to July 2015. An Institutional Review Board of the Federal University of Bahia and the National Review Board approved the study (CONEP 450/10) and all subjects signed informed consent.

Inclusion and exclusion criteria

The inclusion criteria of the two groups of subjects with asthma were a medical diagnosis of asthma and age ≥ 18 years. The group case had two additional inclusion criteria: at least six month of follow up in ProAR reference clinic and impossibility to taper down the dose of inhaled corticosteroids to less than medium dose of budesonide or equivalent in combination with LABA during the follow-up.

Exclusion criteria for the two groups of subjects with asthma, the group case and the control group with mild to moderate asthma, were other lung or systemic illness that could interfere with the evaluation of asthma control, and pregnancy. The inclusion criteria of the control group of subjects with no asthma were age ≥ 18 years and no history of asthma. Exclusion criteria of this group were any lung illness and pregnancy.

Asthma diagnosis

Two physicians skilled in the care of subjects with asthma audited the diagnosis of asthma in the group case. Both physicians reviewed the medical records and decided by consensus. In case of disagreement a third and more senior expert was invited to decide. The physicians looked for symptoms such as recurrent episodes of wheezing, cough or dyspnea and looked for evidence of symptoms improvement after the use of inhaled corticosteroid or bronchodilators. Lung function had to be normal or show airway obstruction. All subjects performed chest radiography. We excluded subjects with lung scars affecting more than 1/3 of one of the lungs or other ailments observed in the chest radiography. The attending physician requested a computerized tomography (CT) of the chest according to clinical judgment, to rule out bronchiectasis or other lung disorders. We excluded subjects with other relevant lung diseases observed at the CT.

Procedures of the study

Subjects enrolled in the study answered several questionnaires, including the Asthma Control Questionnaire with 6 questions (ACQ₆), had their blood and stool samples

collected, performed spirometry and skin prick tests (SPT) to relevant local aeroallergens. The research team designed a specific case report form to collect the most important clinical and demographic information. An ACQ₆ score ≥ 1.5 is the cutoff that better discriminates uncontrolled asthma according to previous validation for Brazilian Portuguese language performed in ProAR (Leite M, 2008). We used a Koko® spirometer for all spirometries, which were performed by a certified physiotherapist using the protocol adopted by U-BIOPRED the same day subjects attended the clinic for the interview, clinical evaluation, questionnaires and blood collection. (Shaw, 2015) The criteria of airway obstruction were a post-bronchodilator Forced Expiratory Volume in one second (FEV₁)/Forced Vital Capacity (FVC) ratio below the lower limit of normal (LLN) and a FEV₁ below 80% of predict. We calculated the predict values of all spirometric parameters, LLN of the FEV₁/FVC ratio according to the equation obtained in a sample of Brazilians (Pereira, 2007). We collected peripheral blood samples to count cells and to measure total IgE. A sample of serum was stored for subsequent assays for specific IgE and cytokines. Peripheral blood cells, including eosinophils and neutrophils were counted with an automated equipment (Cell-Dyn Ruby). A cutoff of ≥ 260 eosinophils per mm³ was chosen to discriminate subjects of the eosinophilic phenotype of asthma (Zhang X-Y, 2014). We also classified subjects according to the peripheral blood neutrophil count using the cutoff $\geq 5,000$ cells per mm³ (Nadif R, 2009). We used a positive Skin Prick Test (SPT) to relevant aeroallergens to identify atopic subjects. The criterion of atopy was a positive SPT to any aeroallergen. We tested the antigens of *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Blomia tropicalis*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Blatella germanica*, *Cladosporium herbarum*, *Periplaneta americana*, *Paspalum notatum*, *Cynodon dactylon*, dog and cat dander. We measured the wheal diameters 15 minutes after puncture and the test was positive when the antigen induced a reaction ≥ 3 mm greater than the negative control with saline solution.

In this study, we did not exclude subjects with no significant response to bronchodilator. The subjects with asthma were using inhaled corticosteroids or had asthma which was controlled without inhaled corticosteroids. This profile of subjects with asthma frequently does not present reversibility in the lung function test (Van Rensen EL 1999). We considered that excluding subjects with typical symptoms of

asthma, according to the judgment of two medical specialists, because of the lack of response to bronchodilator, would bias the results and limit the external validity of our observations. However, we run a validation sensitivity analysis with the subsample of subjects with a positive response to bronchodilator in the spirometry. The definition of response to bronchodilator for this subgroup analysis was more than 12 percent and 200mL increase of FEV₁ after 400 mcg of salbutamol.

Statistical analysis

The primary endpoint of this study was to evaluate whether the eosinophilic phenotype of asthma is associated with disease severity. To achieve this goal we performed binary logistic regression analysis to determine whether the case group had higher odds of presenting the eosinophilic phenotype in comparison to subjects with mild to moderate asthma. We also compared both groups with asthma with the control group with no asthma, to explore the association between asthma and eosinophilia in our population. The secondary endpoints of the study were to evaluate whether the eosinophilic phenotype of asthma is associated with poor control of asthma symptoms and airway obstruction in patients of the case group, of severe asthma now under regular treatment. To achieve these goals we performed again binary logistic regression analysis to evaluate whether, in the case group, the eosinophilic phenotype of asthma is associated with uncontrolled symptoms of asthma according to the ACQ₆ questionnaire and the presence of airway obstruction in the lung function test, as compared with subjects without eosinophilic asthma phenotype. We adjusted these analyses by the age at enrollment, use of high dose of inhaled corticosteroids, comorbidities, smoking history and exposure to household air pollution. The method of data entry in the regression models was the Backward Likelihood Ratio. We used the Hosmer-Lemeshow test to measure goodness-of-fit, the Tolerance test and the Variance Inflation Factor to measure collinearity. Data fit with the model and we did not observe collinearity (SPSS 13.0).

Additionally, we performed binary logistic regression analyses in the case group, to evaluate the relationship between a high neutrophil count in the peripheral blood and asthma symptoms or airway obstruction. Furthermore we performed univariate

comparisons between groups of subjects using the Chi-Square test to compare dichotomous variables and the Mann-Whitney or Kruskal-Wallis tests to compare continuous or ordinal variables.

RESULTS

We evaluated 544 subjects in the case group using median- to high-dose of inhaled corticosteroids combined with LABA, 452 subjects in the mild to moderate asthma control group and 450 subjects in the control group with no asthma. Table 1 depicts the general characteristics of the three study groups. The groups were different in most study variables. It is noteworthy that the subjects from the group case (severe asthma) were older than the other two study groups [median and interquartile interval: 52 (43-61), 35 (26-47) and 44 (34-53) years old, $p < 0.01$]. The median and interquartile intervals of the number of eosinophils per cells/mm³ in the peripheral blood was 248 cells per mm³ (141-384) in the group case, 235 cells per mm³ (131-399) in the control group of subjects with mild to moderate asthma and 152 cells per mm³ (94-252) in the control group of subjects with no asthma ($p < 0.01$). The rate of subjects with a positive stool examination for helminths was very low and not associated with the case or control groups.

Table 2 presents the binary logistic regression analysis that evaluated whether subjects of the case group have increased odds of eosinophilic phenotype in comparison to the other two study groups. We adjusted the regression models for the age at enrollment, comorbidities, smoking history and exposure to household air pollution. We show the results as odds ratio (OR) and 95 confidence intervals. The subjects of the case group had higher odds of being eosinophilic in comparison to subjects with no asthma [OR 3.93; 95 CI (2.90-5.33)] and in comparison to subjects with mild to moderate asthma [OR 1.60; 95 CI (1.19-2.16)].

Table 3 depicts the characteristics of the subjects with severe asthma (cases), gathered according to the presence of the eosinophilic phenotype. Eosinophilic asthma in this study group (cases) was associated with younger age, less comorbidities, higher total IgE, higher ACQ₆ scores (symptoms) and higher

FEV₁/FVC ratio. It was not associated with atopy neither with positive stools for helminths.

Table 4 show logistic regression analysis that evaluated whether the eosinophilic phenotype is associated with scores of asthma symptom control or airway obstruction in the group with severe asthma (cases), adjusted for the age at enrollment, comorbidities, smoking history, exposure to household air pollution and dose of inhaled corticosteroids. It demonstrates that the eosinophilic phenotype of asthma is associated with uncontrolled symptoms of asthma [OR 1.56; 95 CI (1.06-2.28)], but it is not associated with airway obstruction [OR 0.87; 95 CI (0.61-1.24)]. We validated these results in table 5, with the subset of 473 subjects having a documented response to bronchodilator in the lung function test.

Table 6 compares atopic and non-atopic subjects with eosinophilic asthma, from the group of subjects with severe asthma (cases). The two groups were similar in most characteristic except for the total IgE. The median total IgE was 257 (96-421) in the non-atopic group and 418 (274-1,023) in the atopic group.

We also performed some additional analysis not shown in the tables, to evaluate whether the presence of high neutrophils counts in the peripheral blood is associated with symptom control or airway obstruction among subjects with severe asthma (cases). The adjusted logistic regression analysis demonstrated that neutrophilic asthma was not associated with symptom control [OR 0.66; 95 CI (0.41-1.07)] neither with airway obstruction [OR 1.25; 95 CI (0.81-1.91)].

Table 1. Characteristics of the subjects enrolled in the study.

	Severe asthma ¹ (n=544)	Mild to moderate asthma (n=452)	Subjects with no asthma (n=450)	P ²
Females - N (%)	444 (81)	350 (77)	391 (86)	<0.01
Age (years) - median (IQ range) ³	52 (43-61)	35 (26-47)	44 (34-53)	<0.01
Smoking history > 10 pack years - N (%)	57 (11)	18 (4)	50 (11)	<0.01
Comorbidity – N (%) ⁴	295 (54)	113 (25)	151 (33)	<0.01
Chronic rhinitis diagnosis – N (%)	516 (95)	408 (91)	212 (47)	<0.01
Positive SPT ⁵ – N (%)	313 (58)	287 (64)	129 (28)	<0.01
Blood eosinophil count cells/mm ³ - median (IQ range) ³	248 (141-384)	235 (131-399)	152 (94-252)	<0.01
Blood eosinophil count ≥ 260 cells/mm ³ (%)	251 (47)	211 (47)	104 (23)	<0.01
Blood neutrophil count cells/mm ³ - median (IQ range) ³	3,605 (2,512-4,742)	3,467 (2,524-4,476)	3,237 (2,421-4,235)	<0.01
Peripheral blood neutrophil count ≥ 5,000 cells/mm ³ (%)	115 (21)	72 (16)	51 (11)	<0.01
Total IgE - median (IQ range) ³	327 (139-507)	211 (89-529)	122 (33-343)	<0.01
IgE > 160 UI/dl - median (IQ range) ³	379 (71)	266 (59)	196 (44)	<0.01
Use of > 800 µg of inhaled budesonide/day – N (%)	204 (38)	0 (0)	-	<0.01
Exposure to household air pollution - N (%)	350 (64)	163 (36)	239 (43)	<0.01
Positive stool sample for any helminth - N (%)	13 (2)	8 (2)	13(3)	0.61
ACQ ⁶ score - median (IQ range) ³	1.0 (0.3-1.8)	0.5 (0.0-1.0)	-	<0.01
AQLQ ⁷ score - median (IQ range) ³	4.5 (3.3-5.6)	5.0 (4.0- 5.9)	-	<0.01
FEV ₁ percent of predict value post-BD median (IQ range) ³	70% (58-81)	87% (77-94)	89% (82-98)	<0.01
FVC percent of predict value post-BD median (IQ range) ³	84% (74-93)	86% (78-94)	86% (77-94)	0.01
FVE ₁ /FVC post-BD - median (IQ range) ³	68% (60-76)	85% (79-89)	86% (82-90)	<0.01

¹ Untreated severe asthma according to a classification proposed to WHO; ² We used the Kruskal-Wallis test to compare dichotomous variables and the Mann-Whitney test to compare continuous or ordinal variables; ³ Interquartile range ; ⁴ *Diabetes Mellitus*, arterial hypertension or dyslipidemia;

⁵ Skin prick test to relevant aeroallergens; ⁶ Asthma Control Questionnaire; ⁷ Asthma Quality of Life Questionnaire.

Table 2. Logistic regression to evaluate whether eosinophilia is associated with asthma and asthma severity in our sample.

	Crude OR (95 CI)	Adjusted OR (95 CI) ¹
Blood eosinophil count \geq 260 cells per mm ³		
Subjects with no asthma	-	-
Subjects with severe asthma ²	2.90 (2.20-3.82)	3.93 (2.90-5.33)
Blood eosinophil count \geq 260 cells per mm ³		
Subjects with mild to moderate asthma	-	-
Subjects with severe asthma ²	0.98 (0.76-1.26)	1.60 (1.19-2.16)

¹ Adjusted for age, comorbidity, smoking history, exposure to household air pollution; ² Severe asthma (case group).

Table 3: Comparison between eosinophilic and non-eosinophilic asthma, among subjects with severe asthma (n=544).

	Eosinophilic phenotype ¹ (n=253)	Non-eosinophilic phenotype ² (n=291)	P ³
Females – N (%)	196 (78)	244 (84)	0.06
Age (years) - median (IQ range) ⁴	49 (40-59)	55 (45-64)	<0.01
Smoking history > 10 pack/years - N (%)	24 (10)	33 (11)	0.48
Comorbidities – N (%) ⁵	118 (47)	176 (61)	<0.01
Chronic rhinitis diagnosis – N (%)	241 (96)	271 (94)	0.24
Positive SPT ⁶ - N (%)	147 (64)	167 (64)	0.85
Blood neutrophil count, cells/mm ³ - median (IQ range) ⁴	3,672 (2,554-4,735)	3,581 (2,480-4,840)	0.95
Blood neutrophil count ≥ 5,000 cells/mm ³ - N (%)	48 (19)	67 (23)	0.25
Total IgE - median (IQ range) ⁴	390 (171-580)	280 (118-469)	<0.01
IgE above 160 UI/dl - N (%)	189 (76)	190 (66)	0.01
Use of > 800 µg of inhaled budesonide for asthma - N (%)	87 (35)	115 (40)	0.22
Exposure to household air pollution – N (%)	156 (62)	192 (66)	0.33
Positive stool sample for any helminth - N (%)	8 (3)	5 (2)	0.27
ACQ ⁵ score - median (IQ range) ⁴	1.0 (0.5-1.8)	0.8 (0.3-1.6)	0.04
AQLQ ⁵ score - median (IQ range) ⁴	4.4 (3.2-5.4)	4.5 (3.3-5.6)	0.22
FEV ₁ percent of predict value post-BD - median (IQ range) ⁴	71 (58-83)	68 (58-80)	0.38
FVC percent of predict value post-BD - median (IQ range) ⁴	84 (75-92)	84 (74-93)	0.98
FEV ₁ /FVC post-BD - median (IQ range) ⁴	70 (61-77)	66 (59-75)	0.03

¹ Blood eosinophils ≥ 260/mm³; ² Blood eosinophils < 260/mm³; ³ We used the Chi-Square test to compare dichotomous variables and the Mann-Whitney test to compare continuous or ordinal variables; ⁴ Interquartile range; ⁵ *Diabetes Mellitus*, arterial hypertension or dyslipidemia; ⁶ Skin prick test positive to relevant aeroallergens.

Table 4. Logistic regression model to evaluate whether the eosinophilic phenotype is associated with asthma outcomes, among subjects with severe asthma (n=544).

	Crude OR (95 CI)	Adjusted OR (95 CI) ¹
ACQ ² ≥ 1.5		
Non eosinophilic phenotype ³	-	-
Eosinophilic phenotype ⁴	1.35 (0.95-1.92)	1.56 (1.06-2.28)
Airway obstruction ⁵		
Non eosinophilic phenotype	-	-
Eosinophilic phenotype	0.78 (0.55-1.11)	0.87 (0.61-1.24)

¹ Adjusted for age, comorbidities, smoking history, exposure to household air pollution and dose of inhaled corticosteroids; ² Asthma Control Questionnaire; ³ Blood eosinophils <260/mm³; ⁴ Blood eosinophils ≥ 260/mm³; ⁵ Post-BD Forced Expiratory Volume in 1 second (FEV₁)/Forced Vital Capacity (FVC) ratio below the lower limit of normal (LLN) and a FEV₁ below 80% of predict.

Table 5. Logistic regression model to validate whether the eosinophilic phenotype is associated with asthma outcomes, among subjects with severe asthma and significant reversibility to bronchodilator (n=473).

	Crude OR (95 CI)	Adjusted OR (95 CI) ¹
ACQ ² ≥ 1.5		
Non eosinophilic phenotype ³	-	-
Eosinophilic phenotype ⁴	1.44 (1.00-2.11)	1.67 (1.11-2.52)
Airway obstruction ⁵		
Non eosinophilic phenotype	-	-
Eosinophilic phenotype	0.75 (0.52-1.09)	0.81 (0.55-1.18)

¹ Adjusted for age, comorbidities, smoking history, exposure to household air pollution and dose of inhaled corticosteroids; ² Asthma Control Questionnaire; ³ Blood eosinophils < 260/mm³; ⁴ Blood eosinophils ≥ 260/mm³; ⁵ Post-BD Forced Expiratory Volume in 1 second (FEV₁)/Forced Vital Capacity (FVC) ratio below the lower limit of normal (LLN) and a FEV₁ below 80% of predict.

Table 6. Comparison between eosinophilic/atopic and eosinophilic/non-atopic subjects, among subjects with severe asthma and eosinophilia (n=253).

	Eosinophilic ¹ and non-atopic ² (n=96)	Eosinophilic and atopic ³ (n=157)	P ⁴
Females - N (%)	71 (84)	109 (75)	0.12
Age (years) – median (IQ range) ⁵	49 (43-61)	48 (38-57)	0.10
Smoke history above 10 pack years - N (%)	10 (12)	12 (8)	0.37
Comorbidities ⁶ - N (%)	36 (42)	70 (48)	0.41
Chronic rhinitis diagnosis – N (%)	81 (95)	140 (96)	0.83
Blood neutrophil count cells/mm ³ - median (IQ range) ⁵	3,605 (2,482-4,669)	3,691 (2,614-4,840)	0.37
Blood neutrophil count ≥ 5,000 cells/mm ³ – N (%)	13 (15)	30 (20)	0.32
Total IgE UI/dl - median (IQ range) ⁵	257 (96-421)	418 (274-1,023)	<0.01
IgE above 160 UI/dl – N (%)	56 (67)	124 (86)	<0.01
Use of > 800 µg of inhaled budesonide for asthma - N (%)	30 (35)	45 (31)	0.48
Exposure to household air pollution - N (%)	56 (66)	86 (58)	0.29
Positive stool sample for any helminth - N (%)	4 (5)	3 (2)	0.29
ACQ ₆ ⁷ score - median (IQ range) ⁵	1.0 (0.3-2.1)	1.0 (0.5-1.8)	0.55
ACQ ₆ ⁷ score ≥ 1.5 – N (%)	31 (37)	57 (39)	0.70
AQLQ ⁸ score - median (IQ range) ⁵	4.4 (3.3-5.4)	4.4 (3.2-5.4)	0.46
FEV ₁ percent of predict post-BD - median (IQ range) ⁵	70% (53-83)	82% (76-93)	0.91
FVC percent of predict post- BD - median (IQ range) ⁵	86% (74-92)	71% (60-83)	0.42
FVE ₁ /FVC post-BD - median (IQ range) ⁵	68% (58-76)	71% (62-78)	0.58
Subjects with airway obstruction - N (%)	29 (35)	56 (39)	0.55

¹ Blood eosinophils ≥ 260/mm³; ² Negative SPT; ³ Positive SPT; ⁴ We used the Chi-Square test to compare dichotomous variables and the Mann-Whitney test to compare continuous or ordinal variables; ⁵ Interquartile range; ⁶ *Diabetes Mellitus*, arterial hypertension or dyslipidemia; ⁷ Asthma Control Questionnaire; ⁸ Asthma Quality of Life Questionnaire.

DISCUSSION

The results of this study demonstrate that subjects with asthma, classified as severe asthma, demanding continuous use of median- to high-dose of inhaled corticosteroids plus LABA have increased odds of presenting the eosinophilic phenotype of asthma, according to the peripheral blood eosinophil count criterion, in comparison to subjects with no asthma or subjects with mild to moderate asthma, most not using inhaled corticosteroids regularly. We could also demonstrate subjects with the eosinophilic phenotype of asthma have increased odds of poor symptom control. Thus, our study confirms peripheral blood eosinophil count may be a useful instrument to identify the eosinophilic phenotype of asthma in clinical practice. In our study, we did not evaluate the relationship between the eosinophilic phenotype and asthma exacerbations because the cross sectional design did not allow us to have precise information about previous exacerbations. Our study complements the information reported from a large retrospective clinical practice database study in the United Kingdom. In that study, subjects with the eosinophilic phenotype of asthma, according to the peripheral blood eosinophil criterion, have increased risk of asthma exacerbations, but it was not possible to evaluate properly the relationship between the eosinophilic phenotype and the control of asthma symptoms or lung function (Price DB 2015).

Our results demonstrated subjects with the eosinophilic phenotype of asthma were younger. Another study has reported this association (Ponte EV 2017). However, this association did not bias our main results because we adjusted the analysis for the age at enrollment. The eosinophilic phenotype of asthma was inversely associated with exposure to certain hazards such as smoking history and wood smoke exposure. These inverse associations did not bias our main conclusions neither because we adjusted the analysis for these covariates. We believe the use of high doses of inhaled corticosteroids did not bias our results. Subjects using high dose of inhaled corticosteroids was similar between subjects grouped according to the eosinophilic status and we also adjusted the analysis for this covariate. Helminth infections may induce high peripheral blood eosinophils (Ponte EV 2006) and modify the expression of asthma (Ponte EV 2014). In the current study, helminth infection was uncommon and was not associated with the eosinophilic phenotype of asthma.

This is an important issue, as it demonstrates that this potential confounding factor, helminth infection, did not bias our results.

High total IgE and positive skin prick test to aeroallergens indicate an immune response of Th2 phenotype (Robinson D 2017). Our results demonstrated that the eosinophilic phenotype of asthma was not associated with the results of the skin prick test to aeroallergens, but it was associated with high total IgE in the serum. It reinforces observations that the atopic and the eosinophilic phenotypes are not necessarily concordant characteristics of the immune response in adult subjects with asthma. It is also possible that the atopic phenotype and the eosinophilic phenotype have different weights in the immunopathology of adult asthma, particularly when severe. While the current study indicates that the eosinophilic phenotype of asthma is associated with disease severity, a previous study did not find an association between the atopic phenotype and asthma control (Ponte EV 2012).

Although we observed an association between the eosinophilic phenotype of asthma and disease severity, the eosinophil is probably not the only component of the immune response that leads to the clinical expression of asthma in subjects with eosinophilic asthma. The evidence to support this statement are the clinical trials with anti-IL5 antibody. Although this immunobiological treatment clear eosinophils from the airway and blood, improves asthma symptoms and prevents exacerbations, many subjects with eosinophilic asthma treated with anti-IL5 antibody could not achieve asthma control (Yancey SW 2017). It is important that future investigation further explore the immunopathologic mechanisms and factors related eosinophilic asthma, particularly in nonatopic subjects.

It is not clear why, in this study, we found an association between eosinophilia, poor symptom control and asthma severity, but not with reduced lung function. We speculate other mechanisms, not directly related to a T2 pattern of inflammation may play an important role in remodeling of the airways in asthma.

A strength of this study is that we used validated tools to evaluate the eosinophilic phenotype, asthma symptoms and airway obstruction in clinical practice, in a large sample having two control groups. A limitation was that we did not obtain a fully

random sample of the general population, but our strategy of recruitment probably allowed us to enroll a representative sample. The study group of subjects with mild to moderate asthma and the study group of subjects with no asthma were recruited from the community, invited by public advertisement and screened at a specific call center. The case group, of subjects with severe asthma, demanding median- to high-dose of inhaled corticosteroids are from a setting that represents the population of subjects with persistent asthma demanding continuous treatment from the City of Salvador (Souza-Machado C 2010). Another limitation of our study is that we could not evaluate the relationship between the eosinophilic phenotype of asthma and the risk of exacerbations. The cross sectional design of our study did not allow us to have precise information about the occurrence of previous exacerbations.

Evidence of association between indicators of health resource utilization for asthma and eosinophilia in the blood from developed countries not necessarily applies to low-resource settings in low- and middle-income countries, where one may find higher eosinophil counts in the population associated with helminth infections (Cruz AA 2017). Our study observed a low prevalence of current geohelminth infection among cases and controls and the associations between eosinophila and worse asthma outcomes reported elsewhere were confirmed in our sample of underprivileged Braziliansl.

We conclude that the peripheral blood eosinophil count is a biomarker associated with asthma severity and poor symptom control also in a low-resource setting, but we found no association between blood eosinophilia and lower lung function.

REFERENCES:

1. Brightling CE. Clinical Applications of Induced Sputum. **Chest**. 2006; 129(5); 1344 – 1348
2. Bousquet J, Mantzouranis E, Cruz AA, Aït-Khaled N, Baena-Cagnani CE, et al. Uniform definition of asthma severity, control, and exacerbations: document presented for the World Health Organization Consultation on Severe Asthma. **J Allergy Clin Immunol**. 2010 Nov;126(5):926-38.
3. Cruz AA, Cooper PJ, Figueiredo CA, Alcantara-Neves NM, Rodrigues LC, Barreto ML. Global issues in allergy and immunology: Parasitic infections and allergy. **J Allergy Clin Immunol**. 2017 Nov;140(5):1217-1228. doi: 10.1016/j.jaci.2017.09.005.
4. Green RH, et al. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. **Lancet** 2002; 360: 1715–21;
5. Jatakanon A, et al. Changes in Sputum Eosinophils Predict Loss of Asthma Control. **Am J Respir Crit Care Med** 2000; 161: 64–72
6. Kerkhof M, Tran TN, Soriano JB, Golan S, Gibson D, Hillyer EV, Price DB. Healthcare resource use and costs of severe, uncontrolled eosinophilic asthma in the UK general population. **Thorax** 2018;73:116-124.
7. Kouro T, Takatsu K. IL-5- and eosinophil-mediated inflammation: from discovery to therapy. **Int Immunol**. 2009;21(12):1303-9.
8. Leite M, Ponte EV, Petroni J, et al. Evaluation of the Asthma Control Questionnaire validated for use in Brazil. **J Bras Pneumol** 2008;34:756-763;
9. Moore WC, Meyers DA, Wenzel SE, et al. Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program. **Am J Respir Crit Care Med**. 2010;181:315 e 323
10. Nadif R, et al. Heterogeneity of asthma according to blood inflammatory patterns. **Thorax** 2009;64:374–380;
11. Pereira, C. A., Sato, T., and Rodrigues, S. C. New reference values for forced spirometry in white adults in Brazil. **J Bras Pneumol** 2007
12. Price DB, Rigazio A, Campbell JD, Bleecker ER, Corrigan CJ, Thomas M, Wenzel SE, Wilson AM, Small MB, Gopalan G, Ashton VL, Burden A, Hillyer EV, Kerkhof M, Pavord ID. Blood eosinophil count and prospective annual asthma disease burden: a UK cohort study. **Lancet Respir Med**. 2015;3(11):849-58.

13. Ponte EV, Lima F, Araújo MI, Oliveira RR, Cardoso LS, Cruz AA. Skin test reactivity and Der p-induced interleukin 10 production in patients with asthma or rhinitis infected with *Ascaris*. **Ann Allergy Asthma Immunol**. 2006;96(5):713-8.
14. Ponte EV, Souza-Machado A, Souza-Machado C, Franco R, Cruz AA. Atopy is not associated with poor control of asthma. **J Asthma**. 2012;49(10):1021-6.
15. Ponte EV, Rasella D, Souza-Machado C, Stelmach R, Barreto ML, Cruz AA. Reduced asthma morbidity in endemic areas for helminth infections: a longitudinal ecological study in Brazil. **J Asthma**. 2014;51(10):1022-7.
16. Ponte EV, Lima A, Almeida PCA, de Jesus JPV, Lima VB, Scichilone N, Souza-Machado A, Cruz AA. Age is associated with asthma phenotypes. **Respirology**. 2017;22(8):1558-1563.
17. Powell C, Milan SJ, Dwan K, Bax L, Walters N. Mepolizumab versus placebo for asthma. **Cochrane Database Syst Rev**. 2015 Jul 27;(7):CD010834.
18. Robinson D, Humbert M, Buhl R, Cruz AA, Inoue H, Korom S, Hanania NA, Nair P. Revisiting Type 2-high and Type 2-low airway inflammation in asthma: current knowledge and therapeutic implications. **Clin Exp Allergy**. 2017 Feb;47(2):161-175.
19. Shaw DE, Sousa AR, Fowler SJ, Fleming LJ, Roberts G, Corfield J, Pandis I, Bansal AT, Bel EH, Auffray C, et al.; U-BIOPRED Study Group. Clinical and inflammatory characteristics of the European U-BIOPRED adult severe asthma cohort. **Eur Respir J** 2015;46:1308–1321.
20. Schleich FN, Chevremont A, Paulus V, Henket M, Manise M, Seidel L, Louis R. Importance of concomitant local and systemic eosinophilia in uncontrolled asthma. **Eur Respir J** 2014; 44: 97–108
21. Souza-Machado C, Souza-Machado A, Franco R, Ponte EV, Barreto ML, Rodrigues LC, Bousquet J, Cruz AA. Rapid reduction in hospitalisations after an intervention to manage severe asthma. **Eur Respir J**. 2010;35(3):515-21.
22. Van Rensen EL, Straathof KCM, Veselic-Charvat MA, Zwinderman AH, Bel EH, Sterk PJ. Effect of inhaled corticosteroids on airway hyperresponsiveness, sputum eosinophils, and exhaled nitric oxide levels in patients with asthma. **Thorax**. 1999;54:403-408
23. Westerhof GA, et al. Biomarkers to identify sputum eosinophilia in different adult asthma Phenotypes. **Eur Respir J** 2015; 46: 688–696
24. Yap E, et al. Can we predict sputum eosinophilia from clinical assessment in patients referred to an adult asthma clinic? **Intern Med J** 2013; 43: 46–52

25. Yancey SW, Ortega HG, Keene ON, Mayer B, Gunsoy NB, Brightling CE, Bleecker ER, Haldar P, Pavord ID. Meta-analysis of asthma-related hospitalization in mepolizumab studies of severe eosinophilic asthma. **J Allergy Clin Immunol.** 2017 Apr;139(4):1167-1175.e2. doi: 10.1016/j.jaci.2016.08.008
26. Zhang X-Y, et al. Full blood count parameters for the detection of asthma inflammatory Phenotypes. **Clinical & Experimental Allergy** 2014; 44:1137–1145.

Artigo nº 2

Age is associated with asthma phenotypes


Respirology

Publicado

doi: 10.1111/resp.13102

ORIGINAL ARTICLE

Age is associated with asthma phenotypes

E_{DUARDO V. PONTE},¹  A_{LINE LIMA},² P_{AULA C.A. ALMEIDA},² J_{ULIANA P.V. DE JESUS},² V_{ALMAR B. LIMA},² N_{ICOLA SICHILONE},³ A_{DELMIR SOUZA-MACHADO}⁴ AND Á_{LVARO A. CRUZ}⁴

¹Internal Medicine, Jundiaí Medical School, São Paulo, ²Center of Excellence in Asthma, Universidade Federal da Bahia, ⁴Center of Excellence in Asthma, Health Institute, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil and ³DIBIMIS, University of Palermo, Palermo, Italy

ABSTRACT

Background and objective: The relationship between age and asthma phenotypes is important as population is ageing, asthma is becoming common in older ages and recently developed treatments for asthma are guided by phenotypes. The aim of this study is to evaluate whether age is associated with specific asthma phenotypes. **Methods:** This is a cross-sectional study. We included subjects with asthma of varied degrees of severity. Subjects underwent spirometry, skin prick test to aeroallergens, answered the Asthma Control Questionnaire and had blood samples collected. We performed binary logistic regression analysis to evaluate whether age is associated with asthma phenotypes. **Results:** We enrolled 868 subjects. In comparison with subjects ≤ 40 years, older subjects had high odds of irreversible airway obstruction (from 41 to 64 years, OR: 1.83 (95% CI: 1.32–2.54); ≥ 65 years, OR: 3.45 (2.12–5.60)) and severe asthma phenotypes (from 41 to 64 years, OR: 3.23 (2.26–4.62); ≥ 65 years, OR: 4.55 (2.39–8.67)). Older subjects had low odds of atopic (from 41 to 64 years, OR: 0.56 (0.39–0.79); ≥ 65 years, OR: 0.47 (0.27–0.84)) and eosinophilic phenotypes (from 41 to 64 years, OR: 0.63 (0.46–0.84); ≥ 65 years, OR: 0.39 (0.24–0.64)). **Conclusion:** Older subjects with asthma have low odds of atopic and eosinophilic phenotypes, whereas they present high odds of irreversible airway obstruction and severe asthma.

Key words: allergy, asthma, eosinophils, lung function test.

Correspondence: Eduardo V. Ponte, Faculdade de Medicina de Jundiaí, Rua Francisco Teles, 250, Jundiaí, São Paulo 13202- 550, Brazil. Email: evponte@yahoo.com.br

Received 19 December 2016; invited to revise 22 March and 26 April 2017; revised 11 April and 1 May 2017; accepted 1 May 2017 (Associate Editor: Lisa Wood)

INTRODUCTION

Ageing modifies the immune response of healthy subjects. Older subjects have dysfunction of airway epithelial cells,¹ peripheral blood granulocytes,² natural killer (NK) cells,³ T cells, B cells⁴ and macrophages.⁵ This condition, acknowledged as immunosenescence, increases the susceptibility to airway infections and leads to a state of chronic systemic inflammation.⁶

Environmental exposures also modulate the immune response. Helminth infections in rural settings induce anti-inflammatory cytokines⁷ and air pollution in urban settings induces immune-mediated airway inflammation.⁸ The environment has changed in recent decades. Younger subjects are likely to live in urban setting, free of helminth infections, all their lives. Older subjects are likely to have once lived in rural environment. Consequently, young and old generations had their immune system modulated differently by the environment.

Immunosenescence and environmental exposures may possibly modify the phenotype of immune-mediated diseases. It might lead to differences in the frequency of asthma phenotypes between age groups. This is an important issue as population is ageing, asthma is becoming common in older ages and recently developed treatments for asthma are guided by phenotypes.⁹ We hypothesize that the frequency of asthma phenotypes is different in the elderly subjects. In order to test this hypothesis, we designed a cross-sectional study. The primary aim is to evaluate whether age is associated with specific asthma phenotypes.

METHODS

The Institutional Review Board of the Federal University of Bahia approved this study. We recruited outpatients with asthma from the primary and secondary care settings of the public health system of Salvador City, Brazil. In Brazil, family physicians are responsible for the care of patients in primary care settings, while chest physicians are responsible for the care of patients at

secondary care settings. Subjects from the primary care have access to free inhaled corticosteroids (ICS) for asthma, offered by the government in a large network of pharmacies upon prescription. Family physicians refer subjects with severe asthma to the secondary care, where they have access to a combination of long-acting beta-2 agonist (LABA) and ICS. We recruited subjects with mild-moderate asthma from the primary care and subjects with severe asthma from the secondary care,¹⁰ upon advertisement. We enrolled volunteers consecutively.

Inclusion criteria were subjects with physician diagnosed asthma, age above 18 years and who were able to give signed informed consent. Exclusion criteria were pregnancy, smoking history ≥ 10 pack-years and current helminth infection. Two physicians experienced in asthma care independently checked the diagnosis of asthma. A third physician decided in case of disagreement. The tools for asthma diagnosis were physician evaluation, spirometry and chest radiography. The physician looked for symptoms of asthma such as recurrent episodes of wheezing, cough or dyspnea. Lung function had to be normal or show airway obstruction. Significant response to bronchodilator, expressed as a forced expiratory volume in 1 s (FEV_1) increase of $>12\%$ and >200 mL, was a necessary condition for the diagnosis of asthma. The chest radiography was performed to exclude subjects with lung scars. The physician requested a computerized tomography (CT) of the chest according to clinical judgement, to rule out bronchiectasis or other lung disorder. We excluded subjects with relevant lung diseases at the CT thorax.

Study design

This was a cross-sectional study. Subjects enrolled in the study were evaluated by chest physicians, performed spirometry, skin prick test (SPT), answered the Asthma Control Questionnaire (ACQ) and had blood and stool samples collected.

Definition of asthma phenotypes

To look for associations with age, we classified subjects according to asthma phenotypes: severe asthma, eosinophilic asthma, atopic asthma and asthma with irreversible airway obstruction.

The severe asthma phenotype comprised subjects with uncontrolled asthma and >6 months of regular treatment with high dose of ICS (>800 µg per day of inhaled budesonide) and LABA. We also included subjects requiring ≥ 1200 µg of inhaled budesonide and LABA during the last 6 months for asthma control.¹¹ The definition of uncontrolled asthma was an ACQ score above 1.5¹² or lung function test with airflow obstruction or >1 emergency room visit or any hospitalization from asthma in the last year.¹¹ We reviewed pharmacy charts of subjects with severe asthma to assure adherence to treatment.

The criterion we adopted for eosinophilic asthma was a peripheral blood eosinophil count above 0.22×10^9 cells/L. Schleich *et al.* demonstrated that this cut-off discriminated eosinophilia in induced sputum, with an area under the receiver operating characteristic (ROC) curve of 0.79.¹³ We used an automated method to count blood eosinophils.

The criterion of atopic asthma was a positive SPT. The allergens in our SPT were *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Blomia tropicalis*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Blattella germanica*, *Cladosporium herbarum*, *Periplaneta americana*, *Paspalum notatum*, *Cynodon dactylon* and dog and cat dander. We measured the wheal diameters 15 min after puncture. The test was positive when the antigen induced a reaction ≥ 3 mm greater than the saline solution.

The criteria of irreversible airway obstruction were post-bronchodilator FEV₁/FVC (forced vital capacity) ratio below the lower limit of normal (LLN) and FEV₁ below 80% of predicted.¹⁴ The spirometer software was updated with Brazilian values of normality to calculate the percent of predicted lung function parameters (Koko; Software PDS Instrumentation, Inc., Louisville, CO, USA). Subjects should avoid LABA 12 h and short-acting beta-2 agonist 6 h before the spirometry. We calculated the LLN of the FEV₁/FVC ratio according to the equation obtained elsewhere.¹⁴

We used the Kato-Katz and Baermann techniques to analyse stools. We excluded 32 subjects due to positive stool for helminths. This was important as helminth infection would increase peripheral blood eosinophils and modify the relationship between age and eosinophilic phenotype.

We evaluated concomitant diabetes mellitus, systemic arterial hypertension and rhinitis. The diagnostic criterion of diabetes mellitus and hypertension was the report of regular use of medications for these conditions. The chest physician investigated chronic rhinitis and gastro-esophageal reflux disease in the study visit, based on symptoms report.

Statistical analysis

To test the hypothesis that the frequency of asthma phenotypes is different across age groups, we performed binary logistic regression models to evaluate whether age (independent variable) is associated with asthma phenotypes (dependent variables). We allocated subjects into three age categories: ≤ 40 years, from 41 to 64 years and ≥ 65 years. We conducted a first set of analyses comprising all subjects enrolled in the study. As a higher frequency of late-onset asthma in the older age groups could bias the relationship between age and asthma phenotypes, we performed additional analyses comprising only subjects with current asthma that started before 18 years. We adjusted all binary logistic regression models for wood smoke exposure and comorbidities. We adjusted the binary logistic regression models that evaluated the association between age and atopic or eosinophilic phenotypes with the dose of ICS. The method of data entry in regression models was the Backward Likelihood Ratio. We used the Hosmer–Lemeshow test to measure goodness-of-fit and the tolerance test and variance inflation factor to measure collinearity. Data fitted with the model and we did not observe collinearity (SPSS 13.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

We compared socio-economic and clinical characteristics between age groups with the Kruskal–Wallis test for continuous variables and the chi-square

test for dichotomous variables. The post hoc tests to identify difference between two groups were the Mann–Whitney test and the chi-square test.

RESULTS

We screened 1393 subjects with asthma from primary care settings and 706 subjects with asthma from secondary care settings. We enrolled 868 subjects in this study. The reasons for exclusion were unavailability to participate (586 subjects), the study team did not confirm the diagnosis of asthma (381 subjects), smoking history ≥ 10 pack-years (111 subjects), severe co-morbidities (48 subjects) and others (105 subjects).

Table 1 compares subjects according to the age range. Older age was associated with higher proportion of females ($P = 0.05$), lower family income ($P < 0.01$) and shorter schooling ($P < 0.01$). Exposure to wood smoke ($P < 0.01$), previous tuberculosis ($P < 0.01$) and rural environment ($P < 0.01$) were more frequent among older subjects. Vaginal birth delivery ($P < 0.01$), breastfeeding ($P = 0.05$) and number of siblings ($P < 0.01$) were associated with older age. Older subjects needed more inhaled medications for asthma ($P < 0.01$), had higher ACQ scores ($P < 0.01$) and worse lung function ($P < 0.01$). Diabetes and hypertension were more frequent while rhinitis was less frequent in the elderly subjects ($P < 0.01$).

Table 1 Characteristics of 868 subjects with asthma enrolled in the study, according to their age range

	≤40 years n = 347	From 40 to 65 years n = 430	≥65 years n = 91	P
Female gender (%) [†]	269 (77)	358 (83)	79 (87)	0.05
Family income [†]	333 (259–527)	298 (232–500)	241 (226–455)	<0.01
Shorter schooling (%) [†]	27 (8)	182 (42)	64 (71)	<0.01
Indoor wood smoke exposure in the past (%) [†]	72 (21)	254 (59)	62 (69)	<0.01
Once lived in rural area (%) [†]	86 (25)	216 (50)	60 (66)	<0.01
Vaginal birth delivery (%) [†]	284 (82)	421 (98)	91 (100)	<0.01
History of breastfeeding (%) [‡]	294 (85)	378 (88)	86 (95)	0.05
Number of siblings [†]	3 (1–6)	7 (4–10)	6 (4–9)	<0.01
Previous diagnosis of tuberculosis (%) [†]	3 (1)	17 (4)	8 (9)	<0.01
Current co-morbidities (%) ^{†,§}	49 (14)	239 (56)	73 (80)	<0.01
Number of subjects who reported symptoms suggestive of gastro-oesophageal reflux disease (%)	220 (63)	295 (68)	60 (66)	0.31
Total IgE serum level [‡]	270 (107–596)	278 (108–457)	200 (61–411)	0.05
Number of eosinophils × 10 ⁹ cells/L [†]	286 (148–449)	239 (134–379)	181 (102–289)	<0.01
Rhinitis diagnosis (%) [‡]	326 (94)	406 (94)	78 (85)	<0.01
Age of first asthma symptoms <18 years (%) [†]	294 (85)	258 (60)	43 (47)	<0.01
High-dose inhaled medication for asthma (%) [†]	83 (24)	274 (64)	77 (85)	<0.01
ACQ score [†]	0.5 (0.2–1.2)	0.8 (0.3–1.7)	0.8 (0.3–1.3)	<0.01
Frequency of subjects with any emergency room visit in the last year (%) [†]	138 (40)	136 (31)	25 (28)	0.02
Frequency of subjects with any hospital admission in the last year (%) [‡]	7 (2)	12 (3)	5 (6)	0.12
Number of subjects with uncontrolled asthma (%) ^{†,‡}	168 (48)	283 (66)	68 (75)	<0.01
FEV ₁ percent of predict [†]	85 (75–94)	76 (64–88)	66 (54–79)	<0.01
FVC percent of predict	86 (79–94)	85 (76–94)	82 (72–96)	0.10

The post hoc tests to identify difference between two groups were the Mann–Whitney test and the chi-square test.

[†]Post hoc test indicated that the ≤40-year-old age group was different from the >40 to 65-year-old age group and ≥65 year-old age group ($P < 0.05$).

[‡]Post hoc test indicated that the ≤40 year-old age group was different from the ≥65-year-old age group ($P < 0.05$), but it was not different from the >40 to 65-year-old age group ($P \geq 0.05$).

[§]Hypertension and diabetes mellitus.

[†]ACQ score above 1.5 or lung function test with airflow obstruction or > 1 emergency room visit or any hospitalization from asthma in the last year.

Table 2 presents binary logistic regression analysis comprising the whole group of asthmatic subjects. We depicted results as OR and 95% CI. In comparison with the ≤40-year-old age group, older subjects had increased odds of irreversible airway obstruction (from 41 to 64 years, adjusted OR: 1.83 (95% CI: 1.32–2.54); ≥65 years, adjusted OR: 3.45 (2.12–5.60)) and severe asthma phenotypes (from 41 to 64 years, adjusted OR: 3.23 (2.26–4.62); ≥65 years, adjusted OR: 4.55 (2.39–8.67)). Older subjects had lower odds of atopic (from 41 to 64 years, adjusted OR: 0.56 (0.39–0.79); ≥65 years, adjusted OR: 0.47 (0.27–0.84)) and eosino-philic phenotypes (from 41 to 64 years, adjusted OR: 0.63 (0.46–0.84); ≥65 years, adjusted OR: 0.39 (0.24–0.64)).

Table 2 Crude and adjusted binary logistic regression models to evaluate whether older age is associated with asthma phenotypes, among 868 subjects enrolled in the study

	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR (95% CI)
Irreversible obstruction phenotype[†]		
≤40 years		
From 40 to 65 years	2.05 (1.51–2.77)	1.83 (1.32–2.54)
≥65 years	3.38 (2.09–5.46)	3.45 (2.12–5.60)
Atopic phenotype[‡]		
≤40 years		
From 40 to 65 years	0.48 (0.35–0.66)	0.56 (0.39–0.79)
≥65 years	0.38 (0.23–0.64)	0.47 (0.27–0.84)
Severe asthma phenotype[†]		
≤40 years		
From 40 to 65 years	4.28 (3.12–5.88)	3.23 (2.26–4.62)
≥65 years	8.91 (5.29–15.01)	4.55 (2.39–8.67)
Eosinophilic phenotype[‡]		
<40 years		
From 40 to 65 years	0.78 (0.59–1.04)	0.63 (0.46–0.84)
≥65 years	0.41 (0.25–0.66)	0.39 (0.24–0.64)

[†]Adjusted for wood smoke exposure in the past and current co-morbidities.

[‡]Adjusted for wood smoke exposure in the past, dose of inhaled corticosteroids and current co-morbidities.

Table 3 presents binary logistic regression analysis comprising 586 subjects with early-onset asthma. In comparison with the ≤40-year-old age group, older subjects had increased odds of irreversible airway obstruction (from 41 to 64 years, adjusted OR: 1.93 (1.32–2.82); ≥65 years, adjusted OR: 4.31 (2.19–8.49)) and severe asthma phenotypes (from 41 to 64 years, adjusted OR: 3.46 (2.26–5.28); ≥65 years, adjusted OR: 3.56 (1.49–8.51)). Older subjects had lower odds of atopic (from 41 to 64 years, adjusted OR: 0.59 (0.38–0.90); ≥65 years, adjusted OR: 0.49 (0.20–0.99)) and eosinophilic phenotypes (from 41 to 64 years, adjusted OR: 0.70 (0.44–1.00); ≥65 years, adjusted OR: 0.29 (0.14–0.58)).

Table 3 Crude and adjusted binary logistic regression models to evaluate whether older age is associated to asthma phenotypes, among 595 subjects with initial asthma symptoms before 18 years

	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR (95% CI)
Irreversible obstruction phenotype[†]		
≤40 years		
From 40 to 65 years	2.21 (1.55–3.14)	1.93 (1.32–2.82)
≥65 years	4.32 (2.20–8.49)	4.31 (2.19–8.49)
Atopic phenotype[‡]		
≤40 years		
From 40 to 65 years	0.46 (0.31–0.68)	0.59 (0.38–0.90)
≥65 years	0.36 (0.18–0.73)	0.49 (0.20–0.99)
Severe asthma phenotype[†]		
≤40 years		
From 40 to 65 years	4.72 (3.26–6.82)	3.46 (2.26–5.28)
≥65 years	9.60 (4.59–20.06)	3.56 (1.49–8.51)
Eosinophilic phenotype[‡]		
≤40 years		
From 40 to 65 years	0.77 (0.54–1.08)	0.70 (0.44–1.00)
≥65 years	0.29 (0.15–0.58)	0.29 (0.14–0.58)

[†]Adjusted for wood smoke exposure in the past and current co-morbidities.

[‡]Adjusted for wood smoke exposure in the past, dose of inhaled corticosteroids and current co-morbidities.

DISCUSSION

Our study demonstrated that, in comparison with asthmatic subjects ≤40 years, older subjects with asthma have lower odds of atopic and eosinophilic phenotypes and higher odds of irreversible airflow obstruction and severe asthma phenotypes. The dose of ICS and comorbidities did not bias the association between age and atopic or eosinophilic phenotypes because the regression models were adjusted for these covariates. Exposure to wood smoke did not bias the associations between age and irreversible airflow obstruction or severe asthma phenotypes because the regression models were adjusted for this covariate. Ageing of the immune system and differences in environmental exposures throughout life are possible explanations for the association between age and certain asthma phenotypes. In our study, environmental exposures were different between age groups. Older subjects had higher frequency of vaginal birth delivery, living in rural area, breastfeeding, previous tuberculosis and more siblings. According to previous studies, natural childbirth is associated with reduced severity of asthma,¹⁵ living in a rural environment is associated with reduced capacity to mount IgE-mediated immune response,¹⁶ infections may attenuate asthma severity,¹⁷ and breastfeeding¹⁸ and family size¹⁹ are inversely associated with

asthma prevalence.

Late-onset asthma differs from early-onset asthma as it is often non-atopic, more severe and associated with faster lung function decline.²⁰ In our study, older subjects had higher frequency of late-onset asthma. In order to avoid bias related to the association between age groups and age of asthma onset, we performed a second set of analysis comprising only subjects with asthma onset <18 years. The associations between age groups and asthma phenotypes were sustained in the second set of analysis.

Our study observed that older subjects with asthma had lower odds of atopy. We believe that ICS did not bias this association because this medication has limited systemic bioavailability and the regression models were adjusted for this covariate. According to previous studies, atopy in asthmatic children is associated with increased disease severity.²¹ In adults with asthma, atopy is not associated with disease severity.²² It suggests that atopy has an important role in the immunopathology of asthma in younger age but may be less important in older age. The association between older age and less atopy is also observed in the general population.²³

A subset of subjects with asthma have the eosinophilic phenotype. The standard to define this phenotype is a high proportion of eosinophils in induced sputum. However, sputum induction is time-consuming and uncomfortable. Besides, sputum eosinophilia is much modified by the treatment with ICS. Our study used the peripheral blood eosinophil criterion to define eosinophilic asthma.¹³ We observed that older subjects have lower odds of eosinophilic phenotype. We believe that ICS did not bias this association because this medication has limited systemic bioavailability and the regression models were adjusted for this covariate. Future studies should investigate whether less eosinophilic phenotype in the elderly subjects is due to reduced production of Th2 cytokines or due to bone marrow low responsiveness.

Older subjects from our study lived more frequently in rural area than

younger subjects. Massive migration to urban centres occurred recently in Brazil.²⁴ This peculiarity must be highlighted as it probably differentiates our study population from the study population of other surveys.²⁵

In our study, older subjects were more likely to present with the severe asthma phenotype. The criteria of severe asthma phenotype were a composite of many aspects of asthma control, such as exacerbations, symptoms, lung function and the dose of inhaled medications for asthma. In spite of the increased asthma severity among the elderly subjects, a previous report indicates that proper treatment may control asthma in the elderly as well as in younger subjects.²⁶ Eosinophilic inflammation and allergy are unlikely relevant mechanisms for the increased asthma severity in the elderly subjects, as these phenotypes were less frequent in this age group. Airway remodelling is a plausible explanation for the increased asthma severity, as irreversible airway obstruction is associated with ageing.²⁷ Moreover, reduced lung function, as shown in our older subjects, may enhance airway hyperresponsiveness.²⁸

It is usually difficult to differentiate asthma from COPD in older subjects. This difficulty was minimized in our study as the diagnosis of asthma was checked by two chest physicians, response to bronchodilator was an inclusion criterion and we excluded subjects with smoking history ≥ 10 pack-years. We did not exclude subjects with wood smoke exposure because in our area subjects reported few years of exposure during childhood and there is no objective parameter to discriminate which degree of exposure increases the risk of COPD. Even so, the regression models were adjusted for wood smoke exposure.

Our study comprised subjects from primary and secondary care settings, which enhances the external validity of the results. However, as environment exposures are different around the world, further studies in different settings would be interesting. The main limitation of our study is that we cannot differentiate whether immunosenescence, environment exposures or both conditions explain the association between age and asthma phenotypes.

We conclude that older subjects with asthma have low odds of atopic and eosinophilic phenotypes, whereas they present high odds of irreversible airway obstruction and severe asthma phenotypes. These observations were not biased by the higher frequency of late-onset asthma in the elderly subjects.

DISCLOSURE STATEMENT

This is an investigator initiated project funded by the Brazilian Research Council (CNPq) and the Research Funding Agency of the State of Bahia, which received complementary financial resources from GSK Global. The design, performance, data analysis and preparation of the manuscript were the sole responsibilities of the investigators listed as authors.

REFERENCES

1. Holgate ST, Roberts G, Arshad HS, Howarth PH, Davies DE. The role of the airway epithelium and its interaction with environmental factors in asthma pathogenesis. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2009; 6: 655–9.
2. Mathur SK, Schwantes EA, Jarjour NN, Busse WW. Age-related changes in eosinophil function in human subjects. *Chest* 2008; 133: 412–9.
3. Ogata K, Yokose N, Tamura H, An E, Nakamura K, Dan K, Nomura T. Natural killer cells in the late decades of human life. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1997; 84: 269–75.
4. Franceschi C, Bonafe M, Valensin S. Human immunosenescence: the prevailing of innate immunity, the failing of clonotypic immunity, and the filling of immunological space. *Vaccine* 2000; 18: 1717–20.
5. Kong KF, Delroux K, Wang XM, Qian F, Arjona A, Malawista SE, Fikrig E, Montgomery RR. Dysregulation of TLR3 impairs the innate immune response to West Nile virus in the elderly. *J. Virol.* 2008; 82: 7613–23.
6. Harris TB, Ferrucci L, Tracy RP, Corti MC, Wacholder S, Ettinger WH Jr, Heimovitz H, Cohen HJ, Wallace R. Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. *Am. J. Med.* 1999; 106: 506–12.
7. Figueiredo CA, Barreto ML, Rodrigues LC, Cooper PJ, Silva NB, Amorim LD, Alcantara-Neves NM. Chronic intestinal helminth infections are associated with immune hyporesponsiveness and induction of a regulatory network. *Infect. Immun.* 2010; 78: 3160–7.
8. Nel AE, Diaz-Sanchez D, Ng D, Hiura T, Saxon A. Enhancement of allergic inflammation by the interaction between diesel exhaust particles and the immune system. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1998; 102: 539–54.
9. Moore WC, Fitzpatrick AM, Li X, Hastie AT, Li H, Meyers DA, Bleecker ER. Clinical heterogeneity in the severe asthma research program. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2013; 10: 118–24.
10. Souza-Machado C, Souza-Machado A, Franco R, Ponte EV, Barreto ML, Rodrigues LC, Bousquet J, Cruz AA. Rapid reduction in hospitalisations after an intervention to manage severe asthma. *Eur. Respir. J.* 2010; 35: 515–21.
11. Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, Bush A, Castro M, Sterk PJ, Adcock IM, Bateman ED, Bel EH, Bleecker ER *et al.* International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. *Eur.*

- Respir. J.* 2014; 43: 343–73.
12. Leite M, Ponte EV, Petroni J, D'Oliveira Júnior A, Pizzichini E, Cruz AA. Evaluation of the Asthma Control Questionnaire validated for use in Brazil. *J. Bras. Pneumol.* 2008; 34: 756–63.
 13. Schleich FN, Manise M, Sele J, Henket M, Seidel L, Louis R. Distribution of sputum cellular phenotype in a large asthma cohort: predicting factors for eosinophilic vs neutrophilic inflammation. *BMC Pulm. Med.* 2013; 13: 11.
 14. Cerveri I, Corsico AG, Accordini S, Niniano R, Ansaldo E, Antó JM, Künzli N, Janson C, Sunyer J, Jarvis D *et al.* Underestimation of air-flow obstruction among young adults using FEV1/FVC <70% as a fixed cut-off: a longitudinal evaluation of clinical and functional outcomes. *Thorax* 2008; 63: 1040–5.
 15. Black M, Bhattacharya S, Philip S, Norman JE, McLernon DJ. Planned cesarean delivery at term and adverse outcomes in childhood health. *JAMA* 2015; 314: 2271–9.
 16. Turner KJ, Dowse GK, Stewart GA, Alpers MP. Studies on bronchial hyperreactivity, allergic responsiveness, and asthma in rural and urban children of the highlands of Papua New Guinea. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1986; 77: 558–66.
 17. Ponte EV, Rasella D, Souza-Machado C, Stelmach R, Barreto ML, Cruz AA. Reduced asthma morbidity in endemic areas for helminth infections: a longitudinal ecological study in Brazil. *J. Asthma* 2014; 51: 1022–7.
 18. Dogaru CM, Nyffenegger D, Pescatore AM, Spycher BD, Kuehni CE. Breastfeeding and childhood asthma: systematic review and meta-analysis. *Am. J. Epidemiol.* 2014; 179: 1153–67.
 19. Goldberg S, Israeli E, Schwartz S, Shochat T, Izbicki G, Toker-Maimon O, Klement E, Picard E. Asthma prevalence, family size, and birth order. *Chest* 2007; 131: 1747–52.
 20. de Nijs SB, Venekamp LN, Bel EH. Adult-onset asthma: is it really different? *Eur. Respir. Rev.* 2013; 22: 44–52.
 21. Wever-Hess J, Kouwenberg JM, Duiverman EJ, Hermans J, Wever AM. Risk factors for exacerbations and hospital admissions in asthma of early childhood. *Pediatr. Pulmonol.* 2000; 29: 250–6.
 22. Ponte EV, Souza-Machado A, Souza-Machado C, Franco R, Cruz AA. Atopy is not associated with poor control of asthma. *J. Asthma* 2012; 49: 1021–6.

23. Scichilone N, Callari A, Augugliaro G, Marchese M, Togias A, Bellia V. The impact of age on prevalence of positive skin prick tests and specific IgE tests. *Respir. Med.* 2011; 105: 651–8.
24. Ponte EV, Cruz AA, Athanazio R, Carvalho-Pinto R, Fernandes FL, Barreto ML, Stelmach R. Urbanization is associated with increased asthma morbidity and mortality in Brazil. *Clin. Respir. J.* 2016. <https://doi.org/10.1111/crj.12530>.
25. Cruz ÁA, Stelmach R, Ponte EV. Asthma prevalence and severity in low-resource communities. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2017; 17: 188–93.
26. Ponte EV, Stelmach R, Franco R, Souza-Machado C, Souza-Machado A, Cruz AA. Age is not associated with hospital admission or uncontrolled symptoms of asthma if proper treatment is offered. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2014; 165: 61–7.
27. Muniz IS, Ponte EV, Lima VB, Cruz AA. Irreversible airway obstruction in asthma: a risk factor for severe exacerbations in spite of proper treatment. *J. Asthma* 2016; 53: 801–7.
28. Scichilone N, Messina M, Battaglia S, Catalano F, Bellia V. Airway hyperresponsiveness in the elderly: prevalence and clinical implications. *Eur. Respir. J.* 2005; 25: 364–75.

Artigo nº 3

Obesity and asthma: clinical and laboratory characterization of a common combination

Jornal Brasileiro de Pneumologia

Aceito para publicação



Brasília, 15 de maio de 2018.

DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que o artigo intitulado “**Obesidade e asma: caracterização clínica e laboratorial de uma associação frequente**” feito pelos autores: Juliana Pires Viana de Jesus, Aline Lima-Matos, Paula Cristina Almeida, Valmar Bião, Luane Marques de Mello, Adelmir Souza-Machado, Eduardo Ponte e Álvaro Augusto Cruz, foi avaliado e aceito por revisores do Conselho Editorial para publicação no Jornal Brasileiro de Pneumologia. A publicação está prevista para o número de jul/ago de 2018.

Sem mais,

Prof. Dr. Rogerio de Souza
Editor-Chefe Jornal Brasileiro de
Pneumologia



Obesity and asthma: clinical and laboratory characterization of a common combination

Juliana Pires Viana de Jesus^{1,2,a}, Aline Silva Lima-Matos^{2,3,b},
Paula Cristina Andrade Almeida^{2,c}, Valmar Bião Lima^{2,d},
Luane Marques de Mello^{4,e}, Adelmir Souza-Machado^{2,5,f},
Eduardo Vieira Ponte^{5,6,g}, Álvaro Augusto Cruz^{2,7,h}

1. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia – UFBA – Salvador (BA) Brasil.
2. Núcleo de Excelência em Asma/ Programa para o Controle da Asma na Bahia – ProAR – Salvador (BA) Brasil.
3. Programa de Pós-Graduação em Medicina e Saúde, Universidade Federal da Bahia – UFBA – Salvador (BA) Brasil.
4. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto (SP) Brasil.
5. Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia – UFBA – Salvador (BA) Brasil.
6. Faculdade de Medicina de Jundiaí, Jundiaí (SP) Brasil.
7. Faculdade de Medicina da Bahia, Universidade Federal da Bahia – UFBA – Salvador (BA) Brasil.

- a. <http://orcid.org/0000-0000-0000-0000>
- b. <http://orcid.org/0000-0000-0000-0000>
- c. <http://orcid.org/0000-0000-0000-0000>
- d. <http://orcid.org/0000-0000-0000-0000>
- e. <http://orcid.org/0000-0000-0000-0000>
- f. <http://orcid.org/0000-0000-0000-0000>
- g. <http://orcid.org/0000-0000-0000-0000>
- h. <http://orcid.org/0000-0000-0000-0000>

Submitted: 29 January 2017.
Accepted: 22 December 2017.

Study carried out at the Núcleo de Excelência em Asma/Programa para o Controle da Asma na Bahia - ProAR - Salvador (BA) Brasil.

INTRODUCTION

Asthma and obesity are very prevalent diseases and are considered public health problems. Evidence from cross-sectional studies suggests that obese individuals are at increased risk of asthma and that obese individuals with asthma have more severe asthma, experience a greater number of hospitalizations, and make a greater number of emergency room visits.^(1,2) However, the causal association of obesity with asthma prevalence and severity remains an object of study.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the relationship between obesity and asthma. **Methods:** This was a preliminary cross-sectional analysis involving 925 subjects with mild-to-moderate or severe asthma evaluated between 2013 and 2015. Obesity was defined on the basis of body mass index (BMI) and abdominal circumference. We collected clinical, laboratory, and anthropometric parameters, as well as pulmonary function test results and data regarding comorbidities. The subjects also completed asthma control and quality of life questionnaires. **Results:** Obese individuals had a significantly higher number of neutrophils in peripheral blood than did nonobese individuals ($p = 0.01$). Among the obese individuals, 163 (61%) had positive skin-prick test results, as did 69% and 71% of the individuals classified as being overweight or normal weight, respectively. Obese individuals showed lower spirometric values than did nonobese individuals, and 32% of the obese individuals had uncontrolled asthma, a significantly higher proportion than that found in the other groups ($p = 0.02$). **Conclusions:** Obese individuals with asthma seem to present with poorer asthma control and lower pulmonary function values than do nonobese individuals. The proportion of subjects with nonatopic asthma was higher in the obese group. Our results suggest that obese individuals with asthma show a distinct inflammatory pattern and are more likely to present with difficult-to-control asthma than are nonobese individuals.

Keywords: Asthma; Obesity; Eosinophilia.

Studies aimed at clarifying the relationship between obesity and asthma have suggested that obesity has effects on respiratory mechanics, alters immune response, and has metabolic implications.(1,3-5) There is evidence that obesity increases the inflammatory process in the lungs of subjects with asthma. Pro-inflammatory mediators are directly correlated with abdominal visceral fat and can lead to increased bronchial hyperresponsiveness and bronchospasm.(6,7) Cross-sectional studies have also suggested that obese individuals with asthma have airway inflammation that is more neutrophilic than eosinophilic.(7,8)

Studies evaluating the relationship between obesity and asthma control have reported controversial findings.(9,10) In addition, there have been few studies evaluating the effects of obesity on the immunopathology of asthma. Therefore, the objective of the present study was to evaluate the relationship between obesity and asthma, regarding peripheral eosinophilia and neutrophilia, atopy, asthma severity, asthma control, and late-onset asthma.

METHODS

Study design

This was a cross-sectional study evaluating subjects with mild-to-moderate or severe asthma. A total of 925 subjects treated by the Brazilian Unified Health Care System in the city of Salvador, Brazil, participated in the study. Participants were selected between January 2013 and July 2015 and were evaluated at the Federal University of Bahia Center of Excellence in Asthma, located in that same city. This study is part of a more comprehensive project, called *“Fatores de risco, biomarcadores e endofenótipos da asma grave”* (Risk factors and biomarkers for and endophenotypes of severe asthma) that was approved by the Brazilian National Research Ethics Committee (Ruling/Resolution no. 450/2010) and the Research Ethics Committee of the Federal University of Bahia Clímério de Oliveira Maternity Hospital (Additional Resolution no. 095/2012).

Study population

Posters were placed in areas heavily used by pedestrians and in public

transport vehicles, in order to recruit subjects with mild-to-moderate asthma throughout the city of Salvador. In addition, the research team advertised the study among patients and physicians at the primary care clinics affiliated with the public health care system in the city of Salvador, and interviews were conducted in the waiting rooms of those clinics. Subjects with severe asthma were selected from the cohort of subjects enrolled in the *Programa para o Controle da Asma na Bahia* (ProAR, Bahia State Program for the Control of Asthma), which is a major referral program providing specialized care in the treatment of severe asthma in the city of Salvador.⁽¹¹⁾

The inclusion criteria were having physician-diagnosed asthma and being ≥ 18 years of age. All participants gave written informed consent. The exclusion criteria were being pregnant, having any disease severe enough to make it difficult to assess asthma symptoms or any other disease that causes dyspnea.

The subjects with mild-to-moderate asthma recruited from the community and primary care clinics were referred to a specialist at the *Núcleo de Excelência em Asma-ProAR* (NEA, Center of Excellence in Asthma-ProAR) at the Federal University of Bahia for confirmation of the diagnosis of asthma. For the subjects with severe asthma recruited from the cohort of subjects enrolled in the ProAR, the diagnosis of asthma was validated by two specialists at the NEA-ProAR. The specialists evaluated the subjects and reviewed their medical charts in order to confirm the diagnosis of asthma. The criteria for diagnosing asthma were typical symptoms, symptomatic improvement with a bronchodilator or an inhaled corticosteroid, and a 12% and 200 mL increase in FEV₁ after bronchodilator use.

The subjects were classified as having mild-to-moderate asthma in accordance with the 2006 Global Initiative for Asthma guidelines⁽¹²⁾ in order to use similar criteria to those used among the subjects with severe asthma, whose asthma severity was evaluated in accordance with the 2002 Global Initiative for Asthma guidelines,⁽¹³⁾ which were in effect at the time the ProAR was established, and who fit the category of having untreated severe asthma as per the classification proposed to the World Health Organization in 2010.⁽¹⁴⁾

Study procedures

All subjects underwent blood collection, spirometry,(15,16) immediate skin-prick testing,(17) clinical evaluation by a specialist, and collection of fasting anthropometric measurements.

All subjects also completed the following questionnaires: the six-item Asthma Control Questionnaire(18); the Asthma Quality of Life Questionnaire(19); the Symptom Questionnaire for Gastroesophageal Reflux Disease(20); and the Beck Depression Inventory.(21)

Definitions

Subjects with difficult-to-control asthma are those whose lack of asthma control is due to factors such as low adherence to medication, poor inhaler technique, environmental exposure, psychosocial problems, or comorbidities.(14)

Uncontrolled asthma was defined as a score ≥ 1.5 on the six-item Asthma Control Questionnaire.(18)

A high dose of inhaled corticosteroid was defined as use of more than 800 μg of budesonide daily.(22)

The criteria for the presence of airway obstruction were an $\text{FEV}_1 < 80\%$ of predicted and an FEV_1/FVC ratio below the lower limit of normal.(23) This limit is adjusted for age, being obtained on the basis of the fifth percentile of healthy nonsmokers.

The criterion for the presence of atopy was a positive, immediate skin-prick test result. A test result was considered positive if the wheal to any allergen tested was ≥ 3 mm. The antigens tested were *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Aspergillus flavus*, *Dermatophagoides farinae*, *Aspergillus fumigatus*, *Blomia tropicalis*, *Aspergillus niger*, cat

dander, *Alternaria alternata*, dog dander, *Blattella germanica*, *Cladosporium herbarum*, *Periplaneta americana*, *Paspalum notatum*, and *Cynodon dactylon*.⁽¹⁷⁾

Late-onset asthma was defined as asthma diagnosed at age 18 years or older.⁽²⁴⁾ Eosinophilic asthma was defined as a peripheral blood eosinophil count greater than 260 cells/ μ L. Zhang et al.,⁽²⁵⁾ demonstrated that this cut-off point of peripheral blood eosinophil count has good ability to detect induced sputum eosinophilia.

The diagnostic criterion for comorbidities (hypertension, dyslipidemia, and/or diabetes) was a positive report of use of specific medications for each of those diseases.

Body weight was measured with a digital scale (Tanita, Arlington Heights, IL, USA), and height was measured with a wall-mounted wooden stadiometer graduated in cm from 40 to 220. Body mass index was calculated as body weight in kilograms divided by height in meters squared.⁽²⁶⁾ Obesity was defined on the basis of BMI (kg/m^2) in accordance with the World Health Organization criteria—underweight: $\text{BMI} < 18.5$; normal weight: $18.5 \leq \text{BMI} \leq 24.9$; overweight: $25 \leq \text{BMI} \leq 29.9$; and obesity: $\text{BMI} \geq 30$.⁽²⁶⁾ Abdominal obesity was classified using abdominal circumference (AC), which was measured at the midpoint between the lowest rib and the iliac crest. Abdominal obesity was defined as an AC ≥ 80 cm in women and ≥ 90 cm in men.⁽²⁷⁾

Statistical analysis

We used the Statistical Package for the Social Sciences for Windows, version 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Associations were analyzed by BMI group and by abdominal obesity group. The chi-square test was used to detect associations between dichotomous variables, and the nonparametric Kruskal-Wallis test was used to compare three or more independent groups on continuous or ordinal variables. The Mann-Whitney test was used to compare two groups on continuous and ordinal variables with non-normal distribution. Continuous and ordinal variables are presented as mean and standard deviation and as median and interquartile range, respectively. Categorical variables are presented as absolute numbers and percentages.

RESULTS

We included 925 subjects with asthma, and, of those, 299 were obese according to their BMI. Table 1 presents the characteristics of participants by BMI group. As can be seen in this table, BMI was associated with gender, age, level of education, comorbidities, atopy, dose of inhaled corticosteroid, eosinophilic phenotype, and peripheral blood neutrophils ($p < 0.05$).

Table 1. Sociodemographic, clinical, and laboratory characteristics of the subjects included in the study, by body mass index group.^a

Variable	BMI group				p*
	Underweight (n = 20)	Normal weight (n = 286)	Overweight (n = 319)	Obese (n = 299)	
Female gender	17 (85)	203 (71)	245 (77)	266 (89)	< 0.01
Age, years	34 ± 19	40 ± 16	47 ± 14	47 ± 13	< 0.01
Low level of education ^b	3 (15)	26 (9)	47 (15)	54 (18)	0.02
Late-onset asthma (≥ 18 years)	4 (20)	90 (31)	120 (38)	92 (31)	0.14
Comorbidities ^c	2 (10)	61 (21)	130 (41)	171 (57)	< 0.01
Diagnosis of rhinitis	18 (90)	258 (91)	300 (94)	277 (93)	0.42
Positive skin-prick test result	10 (50)	191 (67)	199 (62)	163 (55)	0.03
Diagnosis of GERD	8 (40)	101 (35)	141 (44)	149 (66)	0.38
Severe depression ^d	0 (0)	10 (4)	21 (7)	26 (9)	< 0.01
High dose of asthma medication ^e	4 (20)	102 (36)	158 (50)	173 (58)	< 0.01
Total serum IgE, IU/mL	237 (39-642)	291 (115-542)	261 (100-451)	269 (105-530)	0.64
Eosinophils ≥ 260 cells/μL	15 (75)	141 (49)	141 (44)	134 (45)	0.02
Eosinophils, cells/μL	433 (251-579)	258 (137-401)	232 (130-378)	240 (139-383)	0.01
Neutrophils, cells/μL	2,641 (1,922-4,938)	3,399 (2,470-4,338)	3,431 (2,394-4,533)	3,711 (2,765-4,942)	0.01

BMI: body mass index; and GERD: gastroesophageal reflux disease. ^aValues expressed as n (%), as mean ± SD, or as median (interquartile range). ^bLow level of education: being illiterate or having had fewer than 5 years of schooling. ^cComorbidities: hypertension, diabetes, and/or dyslipidemia. ^dSevere depression: severe level of depression as assessed by the Beck Depression Inventory. ^eHigh dose of medication: based on use of inhaled corticosteroids. *Chi-square test for categorical variables and Kruskal-Wallis test for continuous variables.

Table 2 also presents data on participants by BMI group. Although BMI was associated with various pulmonary function parameters ($p < 0.05$), there was no significant difference in the frequency of airway obstruction among the groups. BMI was associated with asthma symptoms, asthma-related quality of life, asthma exacerbations, and difficult-to-treat asthma ($p < 0.05$).

Table 2. Spirometric values and asthma severity parameters in the subjects included in the study, by body mass index group.^a

Variable	BMI group				p*
	Underweight (n = 20)	Normal weight (n = 286)	Overweight (n = 319)	Obese (n = 299)	
Post-BD FVC, % of predicted	82 (70-93)	87 (79-95)	86 (78-95)	83 (75-92)	< 0.01
Post-BD FEV ₁ , % of predicted	75 (62-95)	82 (70-92)	79 (67-90)	75 (63-88)	< 0.01
Post-BD FEF _{25-75%} , % of predicted	70 (46-90)	73 (44-98)	67 (35-94)	62 (36-91)	0.02
Post-BD FEV ₁ /FVC, % of predicted	0.9 (0.7-0.9)	0.8 (0.7-0.9)	0.8 (0.6-0.8)	0.8 (0.7-0.8)	< 0.01
Airway obstruction ^b	3 (15)	35 (12)	53(17)	34 (11)	0.26
ACQ-6 score \geq 1.5	4 (20)	63 (22)	75 (24)	97 (32)	0.02
AQLQ score	5.0 (3.7-5.9)	5 (4-6)	4.8 (3.7-5.8)	4.5 (3.3-5.4)	< 0.01
Oral corticosteroid use for asthma in the past year	9 (45)	100 (35)	126 (40)	151 (51)	< 0.01
Severe difficult-to-treat asthma	6 (30)	97 (34)	147 (46)	179 (60)	0.03

BMI: body mass index; BD: bronchodilator; ACQ-6: 6-item Asthma Control Questionnaire; AQLQ: Asthma Quality of Life Questionnaire; and GERD: gastroesophageal reflux disease. ^aValues expressed as n (%) or as median (interquartile range). ^bFEV₁ < 80% and FEV₁/FVC < the lower limit of normal.⁽²³⁾ *Kruskal-Wallis test for continuous variables and chi-square test for categorical variables.

Tables 3 and 4 present data on participants by abdominal obesity group. The groups differed in gender, age, level of education, late-onset asthma, comorbidities, atopy, dose of inhaled corticosteroid, eosinophilic phenotype, pulmonary function, asthma symptoms, asthma-related quality of life, and frequency of exacerbations ($p < 0.05$).

Table 3. Sociodemographic, clinical, and laboratory characteristics of the subjects included in the study, by abdominal obesity group.^a

Variable	Without abdominal obesity (n = 258)	With abdominal obesity (n = 667)	p*
	Female gender	167 (65)	
Age, years	36 \pm 15	48 \pm 14	< 0.01
Low level of education ^b	16 (6)	114 (17)	< 0.01
Late-onset asthma (\geq 18 years)	67 (26)	239 (36)	< 0.01
Comorbidities ^c	37 (14)	327 (49)	< 0.01
Diagnosis of rhinitis	234 (91)	620 (93)	0.13
Positive skin-prick test result	174 (67)	389 (58)	0.01
Diagnosis of GERD	96 (37)	303 (45)	0.31
Severe depression ^d	4 (2)	53 (8)	< 0.01
High dose of asthma medication ^e	75 (29)	362 (54)	< 0.01
Total serum IgE, IU/mL	300 (114-566)	262 (103-498)	0.20
Eosinophils \geq 260 cells/ μ L	138 (54)	294 (45)	0.01
Eosinophils, cells/ μ L	282 (143-464)	236 (132-379)	0.05
Neutrophils, cells/ μ L	3,326 (2,404-4,387)	3,581 (2,529-4,663)	0.09

GERD: gastroesophageal reflux disease. ^aValues expressed as n (%), as mean \pm SD, or as median (interquartile range). ^bLow level of education: being illiterate or having had fewer than 5 years of schooling. ^cComorbidities: hypertension, diabetes, and/or dyslipidemia. ^dSevere depression: severe level of depression as assessed by the Beck Depression Inventory. ^eHigh dose of medication: based on use of inhaled corticosteroids. *Chi-square test for categorical variables and Kruskal-Wallis test for continuous variables.

DISCUSSION

Our findings indicated that obese subjects with asthma had a higher number of

neutrophils and a lower number of eosinophils in peripheral blood compared with nonobese subjects with asthma. These observations suggest that asthma in obese individuals more commonly has a noneosinophilic immunopathological mechanism. This helps understand why obese subjects have more severe asthma, given that eosinophilic airway inflammation has better response to inhaled corticosteroid therapy.(7,8,10,28)

In our study, we analyzed immediate skin-prick test results because a positive result on this test is a marker of atopy; however, obesity was associated with negative skin-prick test results. Similar findings have been observed previously, with obesity defined either by BMI or AC; however, the mechanisms involving this association remain unknown.(29-31) Interestingly, we found no association between obesity and total peripheral blood IgE, which is also a marker of atopy. Further studies are needed to investigate whether obese individuals with asthma have lower levels of systemic Th2 immune activity or whether the association between asthma and negative skin-prick test results is due to specificities related to excess of subcutaneous adipose tissue.

Our findings also indicated an association between obesity and severe difficult-to-treat asthma. The obese individuals in our sample also had higher scores on the symptom questionnaire, poorer quality of life, and more frequent asthma exacerbations requiring oral corticosteroids than did the nonobese individuals. Although other authors have also observed these associations,(8,32) the present study contributes to the medical literature because it included a large sample of individuals with a broad spectrum of asthma severity, recruited from a referral center and the community. In addition, the subjects in the present study were followed by specialists and were provided free-of-charge treatment to control their asthma symptoms, which was not ensured in previous studies.

The obese individuals with asthma in the present study, when considering either BMI or AC, used higher doses of inhaled corticosteroids to control their asthma. This increased dependence on inhaled corticosteroids might be related to the lower frequency of noneosinophilic asthma in our sample of obese individuals, given that individuals with noneosinophilic asthma tend to have poorer response to corticosteroid therapy and, therefore, require higher doses of medication to control inflammation.(10,33)

Previous studies have demonstrated a relationship between age at asthma onset and the severity of respiratory symptoms in obese individuals.^(30,34) We found no association between obesity and late-onset asthma in our sample. This is an important observation because it indicates that age at symptom onset did not bias the relationship between obesity and asthma severity in our study.

Data in the literature show that, in terms of pulmonary function, obese individuals have restrictive lung disease, probably because of changes in body structure.^(35,36) Although we did not measure lung volumes to confirm the presence of restrictive lung disease, decreased FVC values in obese individuals indicate a higher frequency of restrictive lung disease than that found in nonobese individuals. We also observed that, when obesity was defined on the basis of AC, lung volumes were lower. The literature reports that increased abdominal adiposity may reflect poorer pulmonary function.⁽³¹⁾ The pathophysiological mechanism of more severe asthma in obese individuals might be in part related to structural changes in the rib cage rather than exclusively to a lower airway pathology. This hypothesis is supported by the lack of association between obesity and obstructive lung disease in our sample.

Obese individuals with asthma had a higher frequency of comorbidities. Obesity is associated with an increased frequency of comorbidities in individuals without asthma; therefore, our findings were expected.^(37,38)

Comorbidities might contribute to a change in asthma severity in obese individuals, which may be clarified in future studies.

One strength of the present study is that we evaluated subjects recruited from the community and from primary and secondary care clinics, which increases the external validity of the findings. Another strength is that the diagnosis of asthma was validated by a specialist. In the case of severe asthma, it is important to make the differential diagnosis with COPD and other respiratory diseases, and that diagnosis was validated by two specialists to avoid the inclusion of patients without asthma. However, as in all cross-sectional studies, it was not possible to explore the causal relationship between obesity

and the study variables. A question arises as to whether neutrophilic inflammation is a different phenotype of obese individuals with asthma or is also a characteristic of obese individuals without asthma. This question still represents a gap in current knowledge and may be answered by analyzing data on individuals without asthma.

In conclusion, we found that obese subjects with asthma have poorer asthma control and poorer quality of life, require higher doses of inhaled corticosteroid, and experience a reduction in some pulmonary function parameters, such as FVC. In addition, we found a smaller proportion of subjects with eosinophilic asthma and a lower frequency of atopy among obese individuals with asthma. Therefore, our study can satisfactorily validate data on a common combination in a Brazilian population and may help improve knowledge about the influence of obesity on asthma. However, the clinical relevance of these observations should be interpreted with caution and should be examined in future studies with analyses specific to that end.

REFERENCES

1. Baffi CW, Winnica DA, Holguin F. Asthma and obesity: mechanisms and clinical implications. *Asthma Res Pract.* 2015 Jun 4;1:1.
2. Barros LL, Souza-Machado A, Corrêa LC, Santos JS, Cruz C, Leite M, Castro L, Coelho AA, Almeida P; Cruz AA. Obesity and poor asthma control in patients with severe asthma. *J Asthma.* 2011 Mar;48(2):171-6.
3. Capelo AV, Fonseca VM, Peixoto VM, Carvalho SR, Guerino LG. Central obesity and other factors associated with uncontrolled asthma in women. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2015 Mar 31;11(1):12.
4. Dias Júnior SA, Reis M, Carvalho Pinto RM, Stelmach R, Halpern A, Cukier A. Effects of weight loss on asthma control in obese patients with severe asthma. *Eur Respir J.* 2014 May;43(5):1368-77.
5. Lavoie KL, Bacon SL, Labrecque M, Cartier A, Ditto B. Higher BMI is associated with worse asthma control and quality of life but not asthma severity. *Respir Med.* 2006 Apr;100(4):648-57.
6. Arteaga-Solis E, Zee T, Emala CW, Vinson C, Wess J, Karsenty G. Inhibition of leptin regulation of parasympathetic signaling as a cause of extreme bodyweight-associated asthma. *Cell Metab.* 2013 Jan 8;17(1):35-48.
7. Scott HA, Gibson PG, Garg ML, Wood LG. Airway inflammation is augmented by obesity and fatty acids in asthma. *Eur Respir J.* 2011 Sep;38(3):594-602.
8. Van Veen IH, Ten Brinke A, Sterk PJ, Rabe KF, Bel EH. Airway inflammation in obese and nonobese patients with difficult-to-treat asthma. *Allergy.* 2008 May;63(5):570-4.
9. Clerisme-Beaty EM, Karam S, Rand C, Patino CM, Bilderback A, Riekert KA, et al. Does higher body mass index contribute to worse asthma control in an urban population? *J Allergy Clin Immunol.* 2009 Aug;124(2):207-12.
10. Telenga ED, Tideman SW, Kerstjens HA, Hacken NH, Timens W, Postma DS, et al. Obesity in asthma: more neutrophilic inflammation as a possible explanation for a reduced treatment response. *Allergy.* 2012 Aug;67(8):1060-8.
11. Cruz AA, Souza-Machado A, Franco R, Souza-Machado C, Ponte EV, Santos PM, Barreto ML. The impact of a program for control of asthma in a low-income setting. *World Allergy Organ J.* 2010 Apr;3(4):167-74.
12. Global Initiative for Asthma (GINA). *Global strategy for asthma management and prevention*, 2006

13. Global Initiative for Asthma (GINA). *Global strategy for asthma management and prevention*, 2002.
14. Bousquet J, Mantzouranis E, Cruz AA, et al. Uniform definition of asthma severity, control, and exacerbations: document presented for the World Health Organization Consultation on Severe Asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Nov;126(5):926-38.
15. Pereira CA, Sato T, Rodrigues SC. New reference values for forced spirometry in white adults in Brazil. *J Bras Pneumol*. 2007 Jul-Aug;33(4):397-406.
16. Standardization of Spirometry, 1994 Update. American Thoracic Society - ATS. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995 Sep;152(3):1107-36.
17. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, Bousquet PJ, Burney PG, et al. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy*. 2012 Jan;67(1):18-24.
18. Leite M, Ponte E, Petroni J, D'Oliveira Júnior A, Pizzichini E, Cruz AA. Evaluation of the asthma control questionnaire validated for use in Brazil. *J Bras Pneumol*. 2008 Oct;34(10):756-63.
19. Juniper EF, Buist AS, Cox FM, Ferrie PJ, King DR. Validation of a standardized version of the Asthma Quality of Life Questionnaire. *Chest*, 1999 May; 115(5):1265-70.
20. Fornari F, Gruber AC, Lopes AB, Cecchetti D, Barros SG. Symptom's questionnaire for gastroesophageal reflux disease. *Arq Gastroenterol*. 2004 Oct-Dec;41(4):263-7
21. Cunha JA. Manual da versão em português das Escalas Beck. São Paulo: Casa do Psicólogo; 2001.
22. Global Initiative for Asthma (GINA). *Global strategy for asthma management and prevention*, 2015.
23. Pereira CA, Duarte AA, Gimenez A, Soares MR. Comparison between reference values for FVC, FEV1, and FEV1/FVC ratio in White adults in Brazil and those suggested by the Global Lung Function Initiative 2012. *J Bras Pneumol*. 2014 Jul-Aug;40(4):397-402.
24. de Groot JC, Storm H, Amelink M, de Nijs SB, Eichhorn E, Reitsma BH, Bel EH, Ten Brinke A. Clinical profile of patients with adult-onset eosinophilic asthma. *ERJ Open Res*. 2016 May 26;2(2).
25. Zhang XY, Simpson JL, Powell H, Yang IA, Upham JW, Reynolds PN, Hodge S, James AL, Jenkins C, Peters MJ, Lin JT, Gibson PG. Full blood count parameters for the detection of asthma inflammatory Phenotypes. *Clin Exp Allergy*. 2014 Sep;44(9):1137-45.
27. WHO. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organ Tech Rep Ser.

2000;894:i-xii, 1-253.

28. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. International Diabetes Federation, 2005.
29. Lintomen L, Calixto MC, Schenka A, Antunes E. Allergen-induced bone marrow eosinophilopoiesis and airways eosinophilic inflammation in leptin-deficient ob/ob mice. *Obesity (Silver Spring)*. 2012 Oct;20(10):1959-65.
30. MA J, XIAO L. Association of General and Central Obesity and Atopic and Nonatopic Asthma in US Adults. *J Asthma*. 2013 May;50(4):395-402.
31. Chen Y, Rennie D, Cormier Y, Dosman J. Atopy, obesity, and asthma in adults: the Humboldt study. *J Agromedicine*. 2009; 14 (2): 222-7.
32. Fenger RV, Gonzalez-Quintela A, Vidal C, Gude F, Husemoen LL, Aadahl M, Berg ND, Linneberg A. Exploring the obesity-asthma link: do all types of adiposity increase the risk of asthma? *Clin Exp Allergy*. 2012 Aug;42(8):1237-45.
33. Flegal KM, Kruszon-Moran D, Carroll MD, et al. Trends in obesity among adults in the United States, 2005 to 2014. *JAMA*. 2016 Jun 7;315(21):2284-91.
34. Anderson WJ, Lipworth BJ. Does body mass index influence responsiveness to inhaled corticosteroids in persistent asthma? *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2012 Apr;108(4):237-42.
35. Mosen DM, Schatz M, Magid DJ, Camargo CA Jr. The relationship between obesity and asthma severity and control in adults. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Sep;122(3):507-11.
36. Sin DD, Jones RL, Man SF. Obesity is a risk factor for dyspnea but not for airflow obstruction. *Arch Intern Med*. 2002 Jul 8;162(13):1477-81.
37. Farah CS, Kermod J, Downie SR, Brown NJ, Hardaker KM, Berend N, et al. Obesity is a determinant of asthma control, independent of inflammation and lung mechanics. *Chest* 2011;140:659.
38. Ben Brumpton, Arnulf Langhammer, Pal Romundstad, Yue Chen, Xiao-Mei Ma. General and abdominal obesity and incident asthma in adults: the HUNT study. *Eur Respir J* 2013 Feb;41(2):323-9.
39. Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham CL, Anis AH. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*. 2009 Mar 25;9:88

6 DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que a eosinofilia sanguínea está associada à gravidade de asma, bem como a maior intensidade de sintomas em uma população exposta à infecção por helmintos em um modelo de regressão logística ajustado para idade, comorbidades, história de tabagismo, exposição a fogão a lenha e dose de corticosteroide inalado. Para além disso, o fenótipo eosinofílico não foi associado à atopia, o que nos leva a pensar que o mecanismo imunológico que está contribuindo com aumento dos eosinófilos pode estar relacionado à células ILC2 (HILVERING; XUE; PAVORD, 2015).

A asma eosinofílica tem sido relacionada à gravidade, à falta de controle da doença, a uma função pulmonar mais precária e principalmente, a aumento na frequência de exacerbações (JATAKANON; LIM; BARNES, 2000; LOUIS et al., 2000; SCHLEICH et al., 2014). Diante disso, são necessários métodos adequados para identificar asmáticos com esse padrão inflamatório, tanto para direcionar o tratamento, como para compreender a resposta a esse tratamento. Estudos tem mostrado que o tratamento com corticosteroides diminui a quantidade de eosinófilos, mas que 50% dos indivíduos permanecem eosinofílicos a despeito do tratamento com altas doses de corticoide (PAVORD et al., 1997; LOUIS et al., 2000).

A princípio, pensou-se que o aumento de eosinófilos estava apenas relacionado a uma resposta imune alérgica do tipo TH2, no entanto, tem-se observado asmáticos eosinofílicos não-atópicos, onde o aumento da eosinofilia ocorre pela ativação de células linfóides da resposta inata (ILC2) que liberam IL-5, citocina responsável pelo recrutamento de eosinófilos. Os imunobiológicos têm sido considerados seguros e eficazes no tratamento da asma grave eosinofílica. Estudos tem mostrado que os anti-IL5 (mepolizumabe e reslizumabe) e o anti-receptor de IL-5 (benralizumabe) tem diminuído a eosinofilia, a intensidade dos sintomas e as taxas de exacerbações (HILVERING; XUE; PAVORD, 2015). Por outro lado, indivíduos com asma eosinofílica tratados com anti IL-5 não alcançaram o controle da doença (YANCEY et al., 2017). Novas investigações são necessárias para esclarecer os mecanismos e os fatores relacionados à

imunopatologia da asma, especialmente em indivíduos não-atópicos.

Na literatura são encontrados estudos que validam a eosinofilia sanguínea como método de identificação desde fenótipo da asma e alguns estudos que fazem associação da contagem de células em sangue periférico com sintomas da asma, no entanto, todos esses estudos foram realizado em países cuja população tem padrões de vida bem diferentes do Brasil (PRICE et al., 2015; WAGENER et al., 2015). Então, a questão é, é possível utilizar a eosinofilia sanguínea como biomarcador para asma grave eosinofílica mesmo em indivíduos de baixa renda que estão ou estiveram expostos à infecção por helmintos?

Evidência de associação entre indicadores de utilização de recursos de saúde para asma e eosinofilia no sangue de países desenvolvidos não se aplica necessariamente a ambientes com poucos recursos em países de baixa e média renda, onde é possível encontrar contagens mais elevadas de eosinófilos na população associada a infecções por helmintos (CRUZ, 2017). Nosso estudo observou baixa prevalência de infecção por helmintos entre os casos e controles e as associações entre eosinofilia e pior prognóstico de asma relatadas em outros locais foram confirmadas em nossa amostra de brasileiros de baixa e média renda.

Nosso estudo demonstrou que, quando comparados com asmáticos o fenótipo eosinofílico está associado com ≤ 40 anos, indivíduos mais velhos tem menos chance de apresentar atopia e fenótipo eosinofílico. O envelhecimento do sistema imune pode ser uma possível explicação para esta associação (ARBES JR., et al., 2014).

Foi encontrada uma associação inversa entre a obesidade e a eosinofilia em sangue periférico, são necessárias novas análises com um modelo de regressão ajustado para idade, sexo e dose de corticoide inalado para compreender melhor esse achado. A razão pela qual não encontramos associação da eosinofilia em sangue periférico com obstrução das vias aéreas ainda não está clara, especulamos outros mecanismos que não diretamente relacionados à um padrão inflamatório do tipo T2 esteja desempenhando um papel importante no remodelamento das vias aéreas.

A força deste estudo está na utilização de ferramentas validadas para determinar o fenótipo eosinofílico, a falta de controle e a obstrução das vias aéreas. Outro ponto forte é a utilização de uma grande amostra, envolvendo dois grupos controles.

A limitação desse estudo foi não obter uma amostra randomizada, mas a estratégia de recrutamento permitiu incluir uma amostra representativa.

Então, nosso estudo confirma que a contagem de eosinófilos em sangue periférico pode ser um instrumento útil para identificar o fenótipo eosinofílico na prática clínica.

7 CONCLUSÃO

Em conclusão, a contagem de eosinófilos em sangue periférico é um biomarcador associado com gravidade de asma e controle precário da doença mesmo em ambientes com poucos recursos. Mas não encontramos associação com a eosinofilia de sangue periférico e obstrução das vias aéreas.

Então, nosso estudo confirma que a contagem de eosinófilos em sangue periférico pode ser um instrumento útil para identificar o fenótipo eosinofílico na prática clínica.

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

1. Novos estudos de seguimento já estão sendo realizados com essa mesma amostra para compreender a causalidade entre eosinofilia e asma;
2. Realizar dosagens de IL-5 para verificar se o aumento de eosinófilos está associado ao aumento de IL-5 nos indivíduos do grupo grave;

REFERÊNCIAS

ARBES, SJ JR.; CALATRONI, A; MITCHELL, HE; GERGEN, PJ.; Age dependent interaction between atopy and eosinophils in asthma cases: Results from NHANES 2005-2006. *Clinical and Experimental Allergy*, v. 43 n. 5, p. 544–551, 2013

BERRY, M. A.; SHAW, D. E.; GREEN, R. H.; BRIGHTLING, C. E.; WARDLAW, A. J.; PAVORD, I. D. The use of exhaled nitric oxide concentration to identify eosinophilic airway inflammation: An observational study in adults with asthma. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 35, n. 9, p. 1175–1179, 2005.

BOUSQUET, J.; MANTZOURANIS, E.; CRUZ, A. A.; AI, N.; BAENA-CAGNANI, C. E.; BLEECKER, E. R.; BRIGHTLING, C. E.; BURNEY, P.; BUSH, A.; BUSSE, W. W.; CASALE, T. B.; CHAN-YEUNG, M.; CHEN, R.; CHOWDHURY, B.; CHUNG, K. F.; DAHL, R.; DRAZEN, J. M.; FABBRI, L. M.; HOLGATE, S. T.; KAUFFMANN, F.; HAAHTELA, T.; GLAS, F.; PARTRIDGE, M. R.; RABE, K. F.; TOGIAS, A.; WEEL, C. Van; AL, B. E. T. Workshop summary Uniform definition of asthma severity, control, and exacerbations: Document presented for the World Health Organization Consultation on Severe Asthma. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, n. October, p. 926–938, 2010.

BOUSQUET J, HEINZERLING L, BACHERT C, PAPADOPOULOS NG, BOUSQUET PJ, BURNEY PG. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. **Allergy**. v. 67 n. 1, p. 18-24, 2012

CARDOSO, T. D. A.; RONCADA, C.; RODRIGUES, E.; PINTO, L. A.; JONES, M. H.; STEIN, R. T.; PITREZ, P. M. Impacto da asma no Brasil: análise longitudinal de dados extraídos de um banco de dados governamental brasileiro. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 43, n. 3, p. 163–168, 2017.

COUMOU, H.; BEL, E. H. Improving the diagnosis of eosinophilic asthma. **Expert Review of Respiratory Medicine**, v. 10, n. 10, p. 1093–1103, 2016.

CRUZ AA, COOPER PJ, FIGUEIREDO CA, ALCANTARA-NEVES NM, RODRIGUES LC, BARRETO ML. Global issues in allergy and immunology: Parasitic infections and allergy. **J Allergy Clin Immunol**. v. 140, n. 5, p. 1217-1228, 2017

CUNHA JA. Manual da versão em português das Escalas Beck. São Paulo: Casa do Psicólogo; 2001.

FERNANDES, A. G. O.; SOUZA-MACHADO, C.; COELHO, R. C. P.; FRANCO, P. A.; ESQUIVEL, R. M.; SOUZA-MACHADO, A.; CRUZ, Á. A. Artigo Original. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 40, n. 4, p. 364–372, 2010.

FORNARI F, GRUBER AC, LOPES AB, CECCHETTI D, BARROS SG. Symptom's questionnaire for gastroesophageal reflux disease. **Arq Gastroenterol**. v. 41, n. 4, p.:263-267, 2004

GALLAGHER D, HEYMSFIELD SB, HEO M, JEBB SA, MURGATROYD PR, SAKAMOTO Y. Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. **The American Journal of Clinical Nutrition**, V.72:694–70, 2000.

GINA. GLOBAL STRATEGY FOR Global Strategy for Asthma Management and Prevention. p. <http://ginasthma.org/2018-gina-report-global-strat>, 2018. Disponível em: <<http://ginasthma.org/2018-gina-report-global-strategy-for-asthma-management-and-prevention/>>.

GREEN, R. H.; BRIGHTLING, C. E.; MCKENNA, S.; HARGADON, B.; PARKER, D.; BRADDING, P.; WARDLAW, A. J.; PAVORD, I. D. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: A randomised controlled trial. **Lancet**, v. 360, n. 9347, p. 1715–1721, 2002.

HASTIE, A. T.; MOORE, W. C.; LI, H.; RECTOR, B. M.; ORTEGA, V. E.; PASCUAL, R. M.; PETERS, S. P.; MEYERS, D. A.; BLEECKER, E. R. Biomarker surrogates do not accurately predict sputum eosinophil and neutrophil percentages in asthmatic subjects. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 132, n. 1, p. 72–80.e12, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2013.03.044>>.

HILVERING, B.; XUE, L.; PAVORD, I. D. Evidence for the efficacy and safety of anti-interleukin-5 treatment in the management of refractory eosinophilic asthma. **Therapeutic Advances in Respiratory Disease**, v. 9, n. 4, p. 135–145, 2015.

JATAKANON, A.; LIM, S.; BARNES, P. J. Changes in sputum eosinophils predict loss of asthma control. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 161, n. 1, p. 64–72, 2000.

JAYARAM, L.; PIZZICHINI, M. M.; COOK, R. J.; BOULET, L. P.; LEMIÈRE, C.; PIZZICHINI, E.; CARTIER, A.; HUSSACK, P.; GOLDSMITH, C. H.; LAVIOLETTE, M.; PARAMESWARAN, K.; HARGREAVE, F. E. Determining asthma treatment by monitoring sputum cell counts: Effect on exacerbations. **European Respiratory Journal**, v. 27, n. 3, p. 483–494, 2006.

JUNIPER EF, BUIST AS, COX FM, FERRIE PJ, KING DR. Validation of a standardized version of the Asthma Quality of Life Questionnaire. *Chest*, v. 115 n. 5, p. 1265-1270, 1999

LOUIS, R.; LAU, L. C. K.; BRON, A. O.; ROLDAAN, A. C.; RADERMECKER, M.; DJUKANOVIĆ, R. The relationship between airways inflammation and asthma severity. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 161, n. 1, p. 9–16, 2000.

MOORE WC, FITZPATRICK AM, LI X, HASTIE AT, LI H, MEYERS DA, BLEECKER ER. Clinical heterogeneity in the severe asthma research program. **Ann. Am. Thorac. Soc.** v. 10, p. 118–24, 2013

PAVORD, I. D.; BEASLEY, R.; AGUSTI, A.; ANDERSON, G. P.; BEL, E.; BRUSSELLE, G.; CULLINAN, P.; CUSTOVIC, A.; DUCHARME, F. M.; FAHY, J. V.; FREY, U.; GIBSON, P.; HEANEY, L. G.; HOLT, P. G.; HUMBERT, M.; LLOYD, C.

M.; MARKS, G.; MARTINEZ, F. D.; SLY, P. D.; VON MUTIUS, E.; WENZEL, S.; ZAR, H. J.; BUSH, A. After asthma: Redefining airways diseases. **The Lancet**, v. 6736, n. 17, p. 1–51, 2017.

PAVORD, I. D.; PIZZICHINI, M. M.; PIZZICHINI, E.; HARGREAVE, F. E. The use of induced sputum to investigate airway inflammation The use of induced sputum to investigate airway inflammation. **Access**, n. June 2006, p. 498–501, 1997.

PEREIRA CA, SATO T, RODRIGUES SC. New reference values for forced spirometry in white adults in Brazil. **J Bras Pneumol**. v. 33, n.4, p. 397-406, 2007

PRICE, D. B.; RIGAZIO, A.; CAMPBELL, J. D.; BLEECKER, E. R.; CORRIGAN, C. J.; THOMAS, M.; WENZEL, S. E.; WILSON, A. M.; SMALL, M. B.; GOPALAN, G.; ASHTON, V. L.; BURDEN, A.; HILLYER, E. V.; KERKHOF, M.; PAVORD, I. D. Blood eosinophil count and prospective annual asthma disease burden: A UK cohort study. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 3, n. 11, p. 849–858, 2015. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600\(15\)00367-7](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(15)00367-7)>.

SAMUEL J. ARBES JR., DDS, MPH, PHD1, AGUSTIN CALATRONI, MA, MS1, H. E. M.; PHD1, AND PETER J. GERGEN, MD, M. asthma cases : Results from NHANES 2005 – 2006. **Clin Exp Allergy**, v. 43, n. 5, p. 544–551, 2014.

SCHLEICH, F.; DEMARCHE, S.; LOUIS, R. Biomarkers in the management of difficult asthma. **Current topics in medicinal chemistry**, p. 1561–1573, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26467509>>.

SCHLEICH, F. N.; CHEVREMONT, A.; PAULUS, V.; HENKET, M.; MANISE, M.; SEIDEL, L.; LOUIS, R. Importance of concomitant local and systemic eosinophilia in uncontrolled asthma. **European Respiratory Journal**, v. 44, n. 1, p. 97–108, 2014.

SCOTT HA, GIBSON PG, GARG ML, WOOD LG. Airway inflammation is augmented by obesity and fatty acids in asthma. **Eur Respir J**, v. 38, n. 3, p. 594-602, 2017.

STANDARDIZATION OF SPIROMETRY, 1994 Update. American Thoracic Society - ATS. **Am J Respir Crit Care Med**. 1995 v. 152 n. 3, p. 1107-1136, 1995

The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. International Diabetes Federation, 2005.

VAN VEEN IH, TEN BRINKE A, STERK PJ, RABE KF, BEL EH. Airway inflammation in obese and nonobese patients with difficult-to-treat asthma. **Allergy** v. 63 n. 5 p. 570-574, 2008.

WAGENER, A. H.; DE NIJS, S. B.; LUTTER, R.; SOUSA, A. R.; WEERSINK, E. J. M.; BEL, E. H.; STERK, P. J. External validation of blood eosinophils, FE_{NO} and serum periostin as surrogates for sputum eosinophils in asthma. **Thorax**, v. 70, n. 2, p. 115–120, 2015.

WENZEL, S. E. Asthma : defini ng of the persistent adult phenotypes. **Lancet**, v. 368, p. 804–13, 2006.

WENZEL, S. E. Asthma phenotypes: The evolution from clinical to molecular approaches. **Nature Medicine**, v. 18, n. 5, p. 716–725, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nm.2678>>.

WESTERHOF, G. A.; KOREVAAR, D. A.; AMELINK, M.; DE NIJS, S. B.; DE GROOT, J. C.; WANG, J.; WEERSINK, E. J.; TEN BRINKE, A.; BOSSUYT, P. M.; BEL, E. H. Biomarkers to identify sputum eosinophilia in different adult asthma phenotypes. **European Respiratory Journal**, v. 46, n. 3, p. 688–696, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1183/09031936.00012415>>.

WHO. **Chronic respiratory diseases - Asthma**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.who.int/respiratory/asthma/en/>>.

WHO. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organ Tech Rep Ser. 2000;894:i-xii, 1-253.

YANCEY, S. W.; ORTEGA, H. G.; KEENE, O. N.; MAYER, B.; GUNSOY, N. B.; BRIGHTLING, C. E.; BLEECKER, E. R.; HALDAR, P.; PAVORD, I. D. Meta-analysis of asthma-related hospitalization in mepolizumab studies of severe eosinophilic asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 139, n. 4, p. 1167–1175.e2, 2017.

YAP, E.; CHUA, W. M.; JAYARAM, L.; ZENG, I.; VANDAL, A. C.; GARRETT, J. Can we predict sputum eosinophilia from clinical assessment in patients referred to an adult asthma clinic? **Internal Medicine Journal**, v. 43, n. 1, p. 46–52, 2013.

ZHANG, X. Y.; SIMPSON, J. L.; POWELL, H.; YANG, I. A.; UPHAM, J. W.; REYNOLDS, P. N.; HODGE, S.; JAMES, A. L.; JENKINS, C.; PETERS, M. J.; LIN, J. T.; GIBSON, P. G. Full blood count parameters for the detection of asthma inflammatory phenotypes. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 44, n. 9, p. 1137–1145, 2014.

ANEXO A

Ficha de Avaliação Clínica

1. Identificação e dados sociodemográficos.

Nome:	Data da consulta __/__/__
Data de admissão no ProAR __/__/__	Nascimento __/__/__
Idade ____ anos	Gênero: (0) F (1) M
Renda familiar R\$: (99999.99) Não Respondeu	Profissão:

1.1 Estado Civil:

(0)Solteiro(a) (1)Casado(a) (2)União estável (3)Divorciado/separado (4)Viúvo(a)

1.2 Endereço do paciente:

Ponto de Referência:

Telefone fixo:

Telefone celular:

Apelido:

Possui familiares cadastrados no Proar: (0) não	(1)sim
Nome do familiar:	(9)NA

1.3 Cor ou raça referida.

(0)Branca	(1)Preta	(2)Parda
(3)Indígena	(4)Amarela	

1.4 Escolaridade:

até que série estudou? _____ (série do primário; ginásio; ensino médio)

(0) Analfabeto

(1) primário incompleto

(2) primário completo (1ª série a 4ª série)

(3) ginásio incompleto

(4) ginásio completo (5ª série a 8ª série)

(5) 2º grau incompleto

(6) 2º grau completo (1º ao 3º ano)

(7) superior incompleto

(8) superior completo ou mais

2. Critérios de inclusão e exclusão no estudo.

2.1 Critérios de inclusão:

1. Diagnóstico de asma 2. Maior que 18 anos 3. Residente em Salvador ou

Lauro de Freitas

4. Em acompanhamento no ProAR há pelo menos 6 meses 5. Concordar em assinar o consentimento

Paciente preenche todos os critérios de inclusão? (0) não (1) sim

2.2 Critérios de exclusão:

Paciente excluído (0) não (1) sim, marcar sim no critério correspondente

1. Mulheres grávidas (0) não (1) sim

2. AVC, ICC, miopatia, doença pulmonar (além da asma) ou outras doenças que causam dispneia (0) não (1) sim

3. Alergia a medicações disponibilizadas para asma grave (0) não (1) sim

4. Neoplasia avançada (0) não (1) sim

Assinatura _____

3. Histórico clínico

Sibilos (0) não (1) sim

Dispneia (0) não (1) sim

Tosse (0) não (1) sim

Aperto no peito (0) não (1) sim

Melhora com broncodilatador (0) não (1) sim

Histórico de sintomas compatíveis com asma: (0) não (1) sim

Exame físico atual compatível com asma: (0) não (1) sim

Lesões sugestivas de candidíase oral: (0) não (1) sim

4. Antropometria/ dados vitais:

Dados coletados no dia da assinatura do TC

Data da coleta dos dados ____/____/____

Procedimento	Valores	Rubrica do observador
PA sistólica		
PA diastólica		
Frequencia Cardíaca		
Frequencia Respiratória		
Saturação de O2(555.55-não mensurado)		
Altura		
Circunferência quadril		

Dados coletados no dia da consulta

Data da coleta dos dados __/__/__

Peso		
IMC		
Circunferência abdominal		
Circunferência pescoço		
PFIO (Pico de fluxo inspiratório oral)		
PFIN (Pico de fluxo inspiratório nasal)		
Bioimpedância: (0)abaixo (1)saudável (2)acima (3)obeso		

5. Raio X do torax:

solicitado no dia da assinatura do TCLE: (0) não (1) sim

normal ou quase normal (0) não (1) sim (2) aguardando resultado

data de realização do exame: __/__/__

5.1 Tomografia de tórax compatível com asma

(0) não (1) sim (2) não fez (3) aguardando resultado

Data: __/__/__

Outros exames: (0) não (1) sim

Se sim, especificar:

6. Idade de início dos sintomas da asma: _____ (99) não sabe**6.1 Avaliação do controle da asma nas quatro últimas semanas:**

Características	Controlado (todos) ()	Parcialmente Controlado ()	Não controlado ()
Sintomas diários	Nenhum ou \leq duas vezes/semana	> duas vezes/semana	
Limitações das atividades	Nenhuma	Qualquer	
Despertar/Sintomas noturnos	Nenhum	Qualquer	
Necessidade de tratamento de resgate/alívio	Nenhuma ou \leq duas vezes/semana	> duas vezes/semana	
Função pulmonar (PFE ou VEF1)	Normal	<80% do predito, ou melhor valor	3 ou mais características da

6.2 Número de ciclos de corticoide oral para asma no último ano: ____ (99) não sabe

6.3 Número de internações em hospital por asma no último ano: ____ (99) não sabe

6.4 Número de atendimentos em emergência por asma no último ano: ____ (99) não sabe

6.5 Internações em UTI alguma vez na vida? (0)não (1)sim (9)não sabe
Se sim, alguma no último ano? (0)não (1)sim (9) NA , se não ou não sabe em 6.5

6.6 Paciente relata exposição ambiental frequente que dificulta o controle da asma?

(0)não (1)sim Qual? _____ (9)NA

6.7 Fogão de lenha:

(0)não (1)atual (2)pregresso Durante quantos anos? _____(99)NA

6.8 Exposição ocupacional? (0)não (1)sim (2)pregresso Se Sim OU Pregoresso, especifique.

Qual _____ quanto anos? _____ (99)NA

Qual _____ quanto anos? _____ (99)NA

6.9 Fumo ativo:

(0)não, NA nos próximos 3 itens e pule para 6.10

(1)atual (2)pregresso

n° cigarros por dia _____ (999)NA

n° de anos de tabagismo _____ (999)NA anos/maço: _____ (999.99)NA

6.10 Fumo passivo:

(0)não (1)sim

7. Medicação em uso regular para asma nos últimos 3 meses

- | | | | |
|------------------|-------|----------|---------|
| 1. Budesonida | _____ | mcg/dia | (9)NA |
| 2. Beclometasona | _____ | mcg/dia | (9)NA |
| 3. Fluticasona | _____ | mcg/dia | (9)NA |
| 4. Formoterol | _____ | mcg/dia | (9)NA |
| 5. Salmeterol | _____ | mcg/dia | (9)NA |
| 6. Mometasona | _____ | mcg/ dia | (9)NA |
| 7. Ciclesonida | _____ | mcg/ dia | (9)NA |

8. Adesão ao tratamento da asma no último mês (> 70% das doses utilizadas nas últimas semanas)

Adesão ao tratamento estimada durante a consulta	(0) não	(1)sim
Adesão de acordo com registro da farmácia	(0) não	(1)sim

9. Diagnóstico de rinite (0) não, NA em 9.1, 9.2 e 9.3 e pule para 10 (1)sim**9.1 Gravidade da rinite de acordo com os critérios da iniciativa ARIA (9)NA**

A rinite atrapalha o sono, impacta nas atividades diárias, do lazer, no esporte, na escola ou no trabalho?

(0) Não (Rinite leve)

(1) Sim (Moderada\grave)

A rinite incomoda < 4 x semana ou < 4 semanas?

(0) Não (Rinite persistente)

(1) Sim (Rinite intermitente)

9.2 Medicação em uso regular para rinite nos últimos 3 meses

- | | | | |
|------------------|-------|----------|---------|
| 1. Budesonida | _____ | mcg/ dia | (9)NA |
| 2. Beclometasona | _____ | mcg/ dia | (9)NA |
| 3. Fluticasona | _____ | mcg/ dia | (9)NA |
| 4. Mometasona | _____ | mcg/ dia | (9)NA |
| 5. Ciclesonida | _____ | mcg/ dia | (9)NA |

9.3 Adesão ao tratamento da rinite no último mês (>70% das doses utilizadas nas últimas semanas) Adesão estimada durante a consulta	(0) não	(1) sim	(9) NA
---	-----------	-----------	----------

10. Refluxo gastroesofágico

Paciente tem sintomas sugestivos de refluxo gastroesofágico? (0) não, *NA no próximo item, em 10.1, 10.2 e pule para 11*) (1) sim

Os sintomas de refluxo gastroesofágico são importantes atualmente? (0) não (1) sim (9) NA

10.1 Medicação em uso regular para RGE nos últimos 3 meses

1. Omeprazol	_____	mg/dia	(9) NA
2. Ranitidina	_____	mg/dia	(9) NA
3. Bromoprida	_____	mg/dia	(9) NA
4. Pantoprazol	_____	mg/ dia	(9) NA
5. Outros	1 _____	mg/ dia	(9) NA
6. Outros	2 _____	mg/ dia	(9) NA

10.2 Adesão ao tratamento da RGE no último mês (> 70% das doses utilizadas nas últimas semanas)

Adesão estimada durante a consulta	(0) não	(1) sim	(9) NA
------------------------------------	-----------	-----------	----------

11. Comorbidades:

1. Osteoporose	(0) não	(1) sim	
2. HAS	(0) não	(1) sim	
3. DM	(0) não	(1) sim	
4. Dislipidemia	(0) não	(1) sim	
5. AIDS	(0) não	(1) sim	
6. Hipotireoidismo	(0) não	(1) sim	
7. Hipertireoidismo	(0) não	(1) sim	
8. Doença psiquiátrica	(0) não	(1) sim	Qual: _____ NA (9)
9. Doença autoimune	(0) não	(1) sim	Qual: _____ NA (9)
10. Outros: _____			NA (9)

12. Medicações em uso diário nos últimos 3 meses (exceto medicações para asma, RGE e rinite): **NA(9)**

13. História de doença prévia.

Pneumonia	(0) não	(1) sim	(9) Não lembra
Tuberculose	(0) não	(1) sim	(9) Não lembra

14. Histórico de infância

Parto normal	(0) não	(1) sim	(9) não sabe
Aleitamento materno	(0) não	(1) sim	(9) não sabe
Número de irmãos	_____		(99) não sabe
Morou em zona rural	(0) não	(1) sim	(9) não sabe
Qual: _____	(9) NA	Até qual idade: _____	(99) NA

15. História familiar

Asma diagnosticada no pai	(0) não	(1) sim	(9) não sabe
Asma diagnosticada na mãe	(0) não	(1) sim	(9) não sabe

OBSERVAÇÕES: (0) não (1) sim

ANEXO B

Classificação dos pacientes com ASMA acompanhados no ProAR:

(Baseada na classificação de controle da GINA¹, na proposta de definição de gravidade de experts reunidos na OMS² e na definição de asma refratária da ATS³)

Nome do paciente: _____ Registro: _____

1. Classificação do controle adaptada da GINA¹

1.1 Asma bem controlada

- Sintomas controlados¹ e < 2 exacerbações ao ano.
- Uso de dose baixa de corticoide inalatório (< 1.000 mcg de fluticasona/dia ou equivalente)

1.2 Asma parcialmente controlada

- Sintomas parcialmente controlados¹ e < 2 exacerbações/ ano
- Uso de dose baixa de corticoide inalatório (< 1.000 mcg de fluticasona/dia ou equivalente)

1.3 Asma NÃO controlada

- Sintomas não controlados¹ e/ou ≥ 2 exacerbações/ ano
- Uso de qualquer dose de corticoide inalatório

2. Classificação do controle adaptada de experts da OMS²

2.1 Asma grave não tratada²

- Sintomas pobremente controlados¹ e/ou ≥ 2 exacerbações ao ano
- Ausência de tratamento regular com corticoide inalatório nas últimas 4 semanas

2.2 Asma grave de difícil tratamento²

- Sintomas parcialmente/pobremente controlados¹ e/ou ≥ 2 exacerbações ao ano
- Uso de subdose de tratamento com corticoide inalatório (< 1000 mcg de fluticasona/dia ou equivalente)
- Uso inapropriado do dispositivo inalatório
- Pouca adesão ao tratamento
- Exposição ambiental significativa
- Controle inadequado de comorbidade que dificulta o controle da asma

2.3 Asma grave resistente ao tratamento²

- 2.3.1 *Asma controlada com dose elevada de medicação*
- Sintomas controlados
 - Uso de dose elevada de corticoide inalatório (≥ 1000 mcg de fluticasona/dia ou equivalente)
 - Uso apropriado do dispositivo inalatório
 - Boa adesão ao tratamento
- 2.3.2 *Asma refratária ou asma resistente ao tratamento*
- Sintomas parcialmente/pobremamente controlados e/ou ≥ 2 exacerbações ao ano
 - Uso de dose elevada de corticoide inalatório (≥ 1000 mcg de fluticasona/dia ou equivalente) associado ao LABA
 - Exclusão de outras doenças pulmonares (DPOC, FC, DCV, AOS, S. Chrug-Strauss, disfunção cardíaca, ABPA)
 - Uso apropriado do dispositivo inalatório
 - Boa aderência ao tratamento
 - Exposição ambiental controlada
 - Controle adequado de comorbidade que dificulta o controle da asma

3. Classificação da ATS para asma refratária³

3.1 Asma Refratária

Sim () Não ()

3.2.1 CRITÉRIOS MAIORES (≥ 1):

- a) Tratamento com corticoide oral contínuo ou $\geq 50\%$ do ano
- b) Uso contínuo de altas doses de CI (≥ 880 de fluticasona/dia ou equivalente)

3.2.2 CRITÉRIOS MENORES (≥ 2):

- a) Uso diário, além do CI, de $\beta 2$ de longa ação, anti-leucotrieno ou teofilina
- b) Sintomas diários de asma, com uso de medicação de resgate
- c) Obstrução brônquica persistente ($VEF_1 < 80$ ou variação de PFE $> 20\%$)
- d) 1 ou mais visitas a emergência no ano
- e) ≥ 3 cursos de corticoide oral/ ano
- f) Deterioração rápida com redução $\leq 25\%$ da dose do CI ou CO
- g) Evento de asma quase fatal no ano anterior

1. Global Initiative for Asthma. A Global Strategy for Asthma Prevention and Management, 2006. Disponível em http://www.ginasthma.org/documents/5/documents_variants/31 e acessado pela última vez em 17 de abril de 2013.
2. Bousquet J, Mantzouranis E, Cruz AA, et al. Uniform definition of asthma severity, control, and exacerbations: document presented for the World Health Organization Consultation on Severe Asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Nov;126(5):926-38.
3. Proceedings of the ATS workshop on refractory asthma: current understanding, recommendations, and unanswered questions. American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Dec;162(6):2341-51.

ANEXO C

QUESTIONÁRIO SOBRE CONTROLE DE ASMA (ACQ) (PORTUGUESE VERSION FOR BRAZIL)

Por favor, responda as questões de 1 a 6:

Circule o número da resposta que melhor descreve como você tem estado durante os últimos sete dias:

1. Em média, durante os últimos sete dias, o quão freqüentemente você se acordou, por causa de sua asma, durante a noite?

- | | |
|----------------|-----------------------------------|
| 0 Nunca | 4 Muitas vezes |
| 1 Quase nunca | 5 Muitíssimas vezes |
| 2 Poucas vezes | 6 Incapaz de dormir devido a asma |
| 3 Várias vezes | |

2. Em média, durante os últimos sete dias, o quão ruins foram os seus sintomas da asma, quando você se acordou pela manhã?

- | | |
|------------------------|----------------------------|
| 0 Sem sintomas | 4 Sintomas um tanto graves |
| 1 Sintomas muito leves | 5 Sintomas graves |
| 2 Sintomas leves | 6 Sintomas muito graves |
| 3 Sintomas moderados | |

3. De um modo geral, durante os últimos sete dias, o quão limitado você tem estado em suas atividades por causa de sua asma?

- | | |
|--------------------------|-------------------------|
| 0 Nada limitado | 4 Muito limitado |
| 1 Muito pouco limitado | 5 Extremamente limitado |
| 2 Pouco limitado | 6 Totalmente limitado |
| 3 Moderadamente limitado | |

4. De um modo geral, durante os últimos sete dias, o quanto de falta de ar você teve por causa de sua asma?

- | | |
|---------------|--------------|
| 0 Nenhuma | 4 Bastante |
| 1 Muito pouca | 5 Muita |
| 2 Alguma | 6 Muitíssima |
| 3 Moderada | |

5. De um modo geral, durante os últimos sete dias, quanto tempo você teve chiado?

- | | |
|---------------|------------------|
| 0 Nunca | 4 Bastante tempo |
| 1 Quase nunca | 5 Quase sempre |
| 2 Pouco tempo | 6 Sempre |
| 3 Algum tempo | |

6. Em média, durante os últimos sete dias, quantos jatos/inalações de sua bombinha de broncodilatador de curta-ação (ex: Aerolin/Bricanyl) você usou por dia?

(* Se você não tiver certeza em como responder esta questão, por favor, solicite auxílio)

0=> Nenhum(a)

1=> 1 - 2 bombadas/inalações na maioria dos dias

2=> 3 - 4 bombadas/inalações na maioria dos dias

3=> 5 - 8 bombadas/inalações na maioria dos dias

4=> 9 - 12 bombadas/inalações na maioria dos dias

5=> 13 - 16 bombadas/inalações na maioria dos dias

6=> Mais que 16 bombadas/inalações na maioria dos dias

Somar as 6 questões e dividir por 6. Colocar até 2 decimais. Pontuação varia de 0 a 6.

PONTUAÇÃO ACQ	
----------------------	--

ANEXO D

Questionário sobre qualidade de vida em asma (AQLQ)

A. Lista de Atividades

1. FAZER SUAS ATIVIDADES NO TRABALHO	15. FAZER COMPRAS E CARREGAR SACOLAS
2. ANDAR DE BICICLETA	16. LAVAR O CARRO
3. DANÇAR	17. CANTAR
4. FAZER REPAROS EM CASA	18. JOGAR FUTEBOL
5. FAZER O TRABALHO DE CASA	19. ATIVIDADE SEXUAL
6. CUIDAR DO JARDIM/LIMPAR O QUINTAL	20. DORMIR
7. ESTAR APRESSADO	21. FALAR
8. FAZER EXERCÍCIOS OU CORRER	22. SUBIR ESCADAS OU MORROS CORRENDO
9. DAR RISADAS	23. PASSAR ASPIRADOR DE PÓ
10. ESFREGAR OU LIMPAR O CHÃO	24. VISITAR AMIGOS OU PARENTES
11. CORTAR A GRAMA	25. SAIR PARA UMA CAMINHADA
12. BRINCAR COM ANIMAIS DOMÉSTICOS	26. SUBIR ESCADAS OU MORRO
13. BRINCAR COM CRIANÇAS OU NETOS	27. PARTICIPAR DE ATIVIDADE SOCIAIS REGULARES
14. PRATICAR ESPORTES	28. USAR TRANSPORTE PÚBLICO

Limitações de acordo com as perguntas:

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Bastante tempo
4. Algum tempo
5. Pouco tempo
6. Quase nunca
7. Nunca

1. MUITÍSSIMO
2. Muito
3. Bastante
4. Moderado
5. Algum
6. Muito pouco
7. Nenhum

1. Completamente limitado
2. Extremamente limitado
3. Muito limitado
4. Moderadamente limitado
5. Pouco limitado
6. Muito pouco limitado
7. Nada limitado

1. Totalmente limitado
2. Extremamente limitado
3. Muito limitado
4. Moderadamente limitado
5. Pouco limitado
6. Muito pouco limitado
7. Nada limitado

Indique o quanto você tem estado limitado pela sua asma na Atividade ^A

1: ___ durante as duas últimas semanas ___

2: ___ durante as duas últimas semanas ___

3: ___ durante as duas últimas semanas ___

4: ___ durante as duas últimas semanas ___

5: ___ durante as duas últimas semanas ___

6. Quanto mal estar ou aflição você tem sentido nas 2 últimas semanas como resultado de um **aperto no peito**? ___

7. De modo geral, quanto tempo durante as 2 últimas semanas você se sentiu **preocupado por ter asma**? ___

8. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você se sentiu com **falta de ar** por causa da sua asma? ___

9. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você teve sintomas da asma devido ao fato de **ter sido exposto à fumaça de cigarro**? ___

10. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você teve **chiado** no peito? ___

11. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você sentiu que teve que **evitar uma situação ou um ambiente devido à fumaça de cigarro**? ___
12. Quanto mal estar ou aflição você tem sentido nas 2 últimas semanas devido a **tosse**? ___
13. De modo geral, quanto tempo durante as 2 últimas semanas você se sentiu **frustrado** (porque não pode fazer o que gosta) por causa de sua asma? ___
14. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você teve uma sensação de **peso no peito**? ___
15. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você se sentiu **preocupado quanto a necessidade de usar medicação** para sua asma? ___
16. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você sentiu a necessidade de **pigarrear**? ___
17. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você sentiu sintomas da asma como resultado de **estar exposto à poeira**? ___
18. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você teve **difficuldade para soltar o ar** por causa de sua asma? ___
19. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você teve que **evitar uma situação ou um ambiente devido a poeira**? ___
20. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você **acordou de manhã com sintomas da asma**? ___
21. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você sentiu **medo de não ter disponível sua medicação para asma**? ___
22. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você se sentiu incomodado pela **respiração difícil**? ___
23. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você teve sintomas da asma devido ao **tempo ruim ou poluição do ar**? ___
24. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você se **acordou à noite** por causa de sua asma? ___
25. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas **você evitou sair devido ao tempo ruim ou a poluição do ar**? ___
26. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você teve sintomas de asma devido a **exposição a cheiros fortes ou perfume**? ___
27. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você teve **receio de perder o fôlego**? ___

28. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você sentiu que teve que **evitar uma situação ou um ambiente devido a cheiros fortes ou perfume?** ____

29. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas sua asma **interferiu em que você tivesse uma boa noite de sono?** ____

30. Quanto tempo durante as 2 últimas semanas você teve a sensação de ter que brigar pelo ar? ____

31. Pense todo tipo de atividade que você gostaria de ter feito durante as 2 últimas semanas ____

32. De modo geral, entre todas as atividades que você tem feito durante as 2 últimas semanas, o quão limitado você tem estado por causa de sua asma? ____

Total _____

ANEXO F**Inventário de Depressão de Beck****Nome:****Código:****Entrevistador:****Data**

Este questionário consiste em 21 grupos de afirmações. Depois de ler cuidadosamente cada grupo, faça um círculo em torno do número (0, 1, 2 ou 3) diante da afirmação, em cada grupo, que descreve melhor a maneira como você tem se sentido nesta semana, incluindo hoje. Se várias afirmações num grupo parecerem se aplicar igualmente bem, faça um círculo em cada uma. Tome o cuidado de ler todas as afirmações, em cada grupo, antes de fazer a sua escolha.

1. 0 Não me sinto triste.

1 Eu me sinto triste.

2 Estou sempre triste e não consigo sair disso.

3 Estou tão triste ou infeliz que não consigo suportar.

2. 0 Não estou especialmente desanimado quanto ao futuro.

1 Eu me sinto desanimado quanto ao futuro.

2 Acho que nada tenho a esperar.

3 Acho o futuro sem esperança e tenho a impressão de que as coisas não podem melhorar.

3. 0 Não me sinto um fracasso.

1 Acho que fracassei mais do que uma pessoa comum.

2 Quando olho para trás, na minha vida, tudo o que posso ver é um monte de fracassos.

3 Acho que, como pessoa, sou um completo fracasso.

4. 0 Tenho tanto prazer em tudo como antes.

1 Não sinto mais prazer nas coisas como antes.

2 Não encontro um prazer real em mais nada.

3 Estou insatisfeito ou aborrecido com tudo.

5. 0 Não me sinto especialmente culpado.

1 Eu me sinto culpado às vezes.

2 Eu me sinto culpado na maior parte do tempo.

3 Eu me sinto sempre culpado.

6. 0 Não acho que esteja sendo punido.

1 Acho que posso ser punido.

2 Creio que vou ser punido.

3 Acho que estou sendo punido.

7. 0 Não me sinto decepcionado comigo mesmo.
1 Estou decepcionado comigo mesmo.
2 Estou enojado de mim.
3 Eu me odeio.
8. 0 Não me sinto de qualquer modo pior que os outros.
1 Sou crítico em relação a mim devido a minhas fraquezas ou meus erros.
2 Eu me culpo sempre por minhas falhas.
3 Eu me culpo por tudo de mal que acontece.
9. 0 Não tenho quaisquer idéias de me matar.
1 Tenho idéias de me matar, mas não as executaria.
2 Gostaria de me matar.
3 Eu me mataria se tivesse oportunidade.
10. 0 Não choro mais que o habitual.
1 Choro mais agora do que costumava.
2 Agora, choro o tempo todo.
3 Costumava ser capaz de chorar, mas agora não consigo mesmo que o queira.
11. 0 Não sou mais irritado agora do que já fui.
1 Fico molestado ou irritado mais facilmente do que costumava.
2 Atualmente me sinto irritado o tempo todo.
3 Absolutamente não me irrita com as coisas que costumavam irritar-me.
12. 0 Não perdi o interesse nas outras pessoas.
1 Interesse-me menos do que costumava pelas outras pessoas.
2 Perdi a maior parte do meu interesse nas outras pessoas.
3 Perdi todo o meu interesse nas outras pessoas.
13. 0 Tomo decisões mais ou menos tão bem como em outra época.
1 Adio minhas decisões mais do que costumava.
2 Tenho maior dificuldade em tomar decisões do que antes.
3 Não consigo mais tomar decisões.
14. 0 Não sinto que minha aparência seja pior do que costumava ser.
1 Preocupo-me por estar parecendo velho ou sem atrativos.
2 Sinto que há mudanças permanentes em minha aparência que me fazem parecer sem atrativos.
3 Considero-me feio.
15. 0 Posso trabalhar mais ou menos tão bem quanto antes.
1 Preciso de um esforço extra para começar qualquer coisa.
2 Tenho de me esforçar muito até fazer qualquer coisa.
3 Não consigo fazer nenhum trabalho.
16. 0 Durmo tão bem quanto de hábito.
1 Não durmo tão bem quanto costumava.
2 Acordo uma ou duas horas mais cedo do que de hábito e tenho dificuldade para voltar a dormir.

3 Acordo várias horas mais cedo do que costumava e tenho dificuldade para voltar a dormir.

17. 0 Não fico mais cansado que de hábito.

1 Fico cansado com mais facilidade do que costumava.

2 Sinto-me cansado ao fazer quase qualquer coisa.

3 Estou cansado demais para fazer qualquer coisa.

18. 0 Meu apetite não está pior do que de hábito.

1 Meu apetite não é tão bom quanto costumava ser.

2 Meu apetite está muito pior agora.

3 Não tenho mais nenhum apetite.

19. 0 Não perdi muito peso, se é que perdi algum ultimamente.

1 Perdi mais de 2,5 Kg.

2 Perdi mais de 5,0 Kg.

3 Perdi mais de 7,5 Kg.

Estou deliberadamente tentando perder peso, comendo menos: **0** sim () **1** não ()

20. 0 Não me preocupo mais que o de hábito com minha saúde.

1 Preocupo-me com problemas físicos como dores e aflições ou perturbações no estômago ou prisão de ventre.

2 Estou muito preocupado com problemas físicos e é difícil pensar em outra coisa que não isso.

3 Estou tão preocupado com meus problemas físicos que não consigo pensar em outra coisa.

21. 0 Não tenho observado qualquer mudança recente em meu interesse sexual.

1 Estou menos interessado por sexo que costumava.

2 Estou bem menos interessado em sexo atualmente.

3 Perdi completamente o interesse por sexo.

ANEXO G

TESTE ALÉRGICO CUTÂNEO

Controle positivo

Controle negativo

<i>Aspergillus flavus</i>		<i>Blomia tropicalis</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Epitélio de gato</i>
<i>Aspergillus níger</i>		<i>Epitélio de cachorro</i>
<i>Alternaria alternata</i>		<i>Blatella germanica</i>
<i>Cladosporium herbarum</i>		<i>Periplaneta americana</i>
<i>Dermatophagoides farinae</i>		<i>Paspalum notatum</i>
<i>Dermatophagoides</i> <i>Pteronyssinus</i>		<i>Cynodon dactolon</i>

RESULTADO: POSITIVO NEGATIVO

Obs: o valor da pápula corresponde à média dos diâmetros.

ANEXO H

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO “Fatores de risco, biomarcadores e endofenotipos da asma grave” (para pessoas com asma) - Versão IV. De 06.11.12.

Você está sendo convidado (a) para participar do estudo **“Fatores de risco, biomarcadores e endofenotipos da asma grave”** cujo objetivo é estudar a asma grave e identificar os fatores pessoais e do ambiente que podem contribuir para esta forma da doença. Iremos investigar ainda possíveis sinais indicadores da asma grave, que possam servir como guias para o seu diagnóstico e tratamento. Por meio deste estudo poderemos obter resultados que contribuam para a prevenção e o controle da asma grave. A sua participação é voluntária e antes de decidir se irá ou não participar é importante que você entenda por que a pesquisa está sendo realizada e o que ela envolve. Por favor, dedique algum tempo para ler cuidadosamente as informações seguintes. Nos pergunte se houver qualquer coisa que não está clara ou se você precisar de mais informações. Utilize o tempo que for necessário para decidir se deseja participar do estudo. Se você decidir participar e depois se arrepender, não há nenhum problema.

Procedimentos do Estudo:

Você está sendo convidado pela equipe de pesquisadores do Núcleo de Excelência em Asma da Universidade Federal da Bahia (UFBA). Gostaríamos de obter informações referentes à sua saúde prévia e atual. Você responderá a questionários para avaliação de saúde mental, controle da asma, qualidade de vida, padrão nutricional, exposição à fumaça do cigarro, sintomas de problemas no nariz e seios da face, depressão, sintomas de doença do refluxo gastro-esofágico e sonolência. Você realizará espirometria (exame do sopro), teste alérgico (pressão com estilete plástico sobre a pele) e exame da sua urina para obtermos informações a respeito do seu contato com fumaça de cigarro. Além disto, gostaríamos de fazer uma consulta médica, consulta com um dentista (para avaliação bucal e dentária) e avaliação laboratorial (exames de sangue, urina e fezes). Serão colhidos cerca de 60 ml de sangue (mais ou menos uma xícara das de cafezinho) para a realização de vários exames para avaliar a sua saúde e investigar alterações que possam orientar a prevenção e o tratamento da asma. A critério médico, poderá ser solicitada uma radiografia do tórax, uma citologia nasal ou uma tomografia computadorizada do tórax, para avaliar melhor os seus pulmões, e um eletrocardiograma para avaliar o

seu coração. Do sangue colhido, uma parte será usada para estudos de genes que impliquem em risco para asma grave. Examinaremos a frequência de variações dos genes para tentar identificar características genéticas que predispõem à asma grave. Os genes investigados incluirão os que relacionam-se com inflamação e alergia (genes HLADTB1, IL-4R, IL-13, IL-33 e CD14), ou fragilidade epitelial (da pele e das mucosas) (ADRB2), potencialmente importantes para a asma. Outros genes importantes podem ser analisados para alcançarmos o objetivo do trabalho. Buscaremos adicionalmente a identificação de variações genéticas que nos informem sobre os seus antepassados para estudar se existe uma tendência relacionada com sua origem étnica (racial) predominante. As amostras de sangue para os estudos genéticos serão enviadas para a Universidade Johns Hopkins, nos Estados Unidos da América, onde serão avaliadas pela equipe da Professora Kathleen Barnes, uma das maiores autoridades mundiais em genética da asma, que tem colaborado conosco na investigação de fatores de risco para asma há 7 anos. Você pode decidir se deseja ou não ser informado sobre os resultados dos seus exames, inclusive dos estudos genéticos. A coleta de sangue pode ser repetida uma segunda vez, se houver algum problema com os resultados dos seus exames que necessite de esclarecimento. Outra pequena parte do sangue colhido será centrifugado para separar o soro, que vai ser guardado em um freezer de ultra baixa temperatura (-70°C) por muitos anos. Assim, poderemos fazer novos exames futuramente de acordo com a necessidade para esclarecimentos adicionais. Os pesquisadores assumem o compromisso de lhe repassar todas as informações sobre a sua avaliação e solicitar o seu consentimento para novos exames não previstos, no futuro, se esta for a sua opção. O prontuário médico contendo as suas informações será mantido no ProAR, em arquivo confidencial, ao qual não será permitido acesso de terceiros. Todos os seus exames encaminhados para fora do ProAR serão identificados por um código específico para impedir a sua identificação por outras pessoas. Poderá ser realizada também uma avaliação da inflamação dos seus brônquios e pulmões, por meio de escarro colhido após uma nebulização com soro hipertônico (água e sal) e lavagem do nariz com soro comum. Poderá ser necessária uma visita para avaliação do ar do ambiente em que você mora, obtido por meio de equipamento que irá coletar amostras do ar em sua casa.

Segurança dos procedimentos e eventual desconforto:

A experiência prévia indica que os exames aos quais você será submetido são seguros. Durante a realização do teste alérgico cutâneo você poderá apresentar coceira no braço. Muito raramente a reação pode se espalhar pelo corpo. Na realização da espirometria (exame do sopro) você poderá ter um desconforto no peito e tosse. Durante a coleta de sangue você poderá sentir dor no local. Algumas pessoas, ao sentir dor ou ver o sangue podem desmaiar. Mais raramente pode ocorrer uma inflamação no local em que houve a penetração da agulha. Durante a nebulização para indução de escarro você poderá tossir, ter chiado e falta de ar. Durante a lavagem nasal com soro você pode engasgar e tossir. Todos os sintomas descritos são transitórios e você estará sendo acompanhado pela equipe de médicos e pesquisadores durante todos os momentos. A aplicação de questionários pode ser demorada e cansativa. Alguma pergunta pode ser difícil de responder ou lhe deixar encabulado(a). Você pode se recusar a responder a qualquer uma delas.

Voluntariedade e Proteção Individual:

A sua participação neste estudo é totalmente voluntária. Se quiser participar, deverá assinar este formulário e manter uma cópia com você. Se você mudar de idéia durante a pesquisa, poderá sair a qualquer momento. Sua decisão não comprometerá, em hipótese alguma, o cuidado e atenção que você recebe da equipe de saúde da UFBA. As suas despesas de transporte e alimentação relacionadas à participação neste projeto serão reembolsadas. Será assegurada a todos os participantes deste projeto de pesquisa a assistência e o acompanhamento aos problemas de saúde relacionados à asma, bem como a quaisquer problemas decorrentes dos procedimentos realizados no estudo, nas unidades do Sistema Único de Saúde que participam do projeto (Centro de Saúde Carlos Gomes, Hospital Universitário Prof. Edgar Santos e Hospital Especializado Octávio Mangabeira). Ademais, está prevista indeniza.: **3013-8462**. Este projeto foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana (CEP) da MCO-UFBA, coordenado pelo Professor Eduardo Martins Netto e situado na Maternidade Climério de Oliveira – Rua do Limoeiro, 137 Nazaré, Salvador – BA. Cabe ao CEP acompanhar a realização do estudo por meio de relatórios periódicos e eventuais visitas no sentido de zelar pelo cumprimento das leis brasileiras que regulamentam a realização de pesquisa em seres humanos. Se você tiver alguma dúvida ou queixa pode dirigir-se ao CEP pessoalmente ou fazer contato pelo telefone: **71 3283-9275**.

Consentimento:

Antes de assinar este documento, eu fui suficientemente informado (a) sobre o projeto de pesquisa: os objetivos, os perigos, o armazenamento de material para análises futuras e os benefícios que podem ocorrer quando eu estiver participando da pesquisa. Eu sei que posso desistir de participar a qualquer momento. Aceito participar voluntariamente da pesquisa.

ção por parte da instituição responsável pelo desenvolvimento do projeto (Universidade Federal da Bahia) no caso de qualquer dano decorrente dos procedimentos da pesquisa.

Confidencialidade e Controle:

Sua participação neste estudo será estritamente confidencial. Você não será identificado em nenhum relatório ou publicação. Se você, a qualquer momento, tiver mais alguma dúvida relacionada ao estudo, favor contatar o **Dr. Álvaro A. Cruz, Tel.: 3013-8462**. Este projeto foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana (CEP) da MCO-UFBA, coordenado pelo Professor Eduardo Martins Netto e situado na Maternidade Climério de Oliveira – Rua do Limoeiro, 137 Nazaré, Salvador – BA. Cabe ao CEP acompanhar a realização do estudo por meio de relatórios periódicos e eventuais visitas no sentido de zelar pelo cumprimento das leis brasileiras que regulamentam a realização de pesquisa em seres humanos. Se você tiver alguma dúvida ou queixa pode dirigir-se ao CEP pessoalmente ou fazer contato pelo telefone: **71 3283-9275**.

Consentimento:

Antes de assinar este documento, eu fui suficientemente informado (a) sobre o projeto de pesquisa: os objetivos, os perigos, o armazenamento de material para análises futuras e os benefícios que podem ocorrer quando eu estiver participando da pesquisa. Eu sei que posso desistir de participar a qualquer momento. Aceito participar voluntariamente da pesquisa.

Data	Assinatura do Paciente ou Representante Legal	Nome do paciente
Data	Assinatura da Testemunha	Nome da
testemunha		
Data	Assinatura do Investigador	Nome do
investigador		

ANEXO I



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/MCO/UFBA
 MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA
 UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
 IORG0003460. Assurance FWA00002471, October 26, 2010
 IRB00004123, October 5, 2007 - October 4, 2010

Augusto Viana, s/r, Casella – Hospital Universitário Prof. Dr. Edgard Santos, 1.º andar
 Cep: 40.110-160 – Salvador-Bahia. telef.: (71) 3283-8043 e-mail: cepmco@ufba.br homepage: www.cepemco.ufba.br

PARECER/RESOLUÇÃO N.º 099/2009

Registro CEP. 095/09. (Este número, bem como o do Parecer acima devem ser citados nas correspondências referentes a este projeto).

Título do Projeto. “Fatores de Risco, biomarcadores e endofenótipos da asma grave.”

Patrocínio/Financiamento. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB).

Pesquisador Responsável. Professor, Doutor, **Álvaro Augusto Souza da Cruz Filho**, Médico, Professor, Doutor com Pós-Doutorado na Universidade *Johns Hopkins* (EUA). Pesquisadores Principais e “Curricula Vitae” apensos, 04 (quatro), Médicos e Dentista, Professores, Doutores, e, mais, 32 (trinta e dois) colaboradores, entre os quais Pesquisadores Científicos de alta expressividade Nacional/Internacional.

Instituição. Programa de Controle da Asma e da Rinite Alérgica da Bahia (ProAR), Unidade/Órgão do Departamento de Medicina da Faculdade de Medicina da Bahia, Universidade Federal da Bahia (ProAR/DMFAMEB/UFBA).

Área do Conhecimento. 4.00, Ciências da Saúde; 4.01, Medicina; Nível T, Grupo I.

Objetivos. Geral — caracterizar os endofenótipos da asma grave e identificar seus fatores de risco. **Específicos** — formalizar o Núcleo de Excelência em Asma, NEAB/UFBA em colaboração com a Universidade de Feira de Santana (UEFS); identificar potenciais biomarcadores dos endofenótipos da asma grave em adultos na Bahia; identificar fatores de risco ambientais para a asma grave, incluindo poluição do ar, exposição e agentes infecciosos, ambiente de trabalho, ambiente domiciliar e padrões de dieta e; identificar fatores de risco individuais.

Resumo. Após justificada a imperiosa necessidade do aporte financeiro para ampliação das instalações físicas e instrumentais, com a conseqüente e plena funcionalidade para o NEAB/UFBA — este descrito desde sua origem até sua situação atual — e, após propositura acadêmica junto ao *NIH/EUA* aprovada com encômios mas financeiramente não deferida por critérios de prioridade, está sendo feita a presente solicitação. Também encontram-se registradas as sólidas interrelações mantidas com entidades científicas e assistenciais, governamentais, públicas e particulares, além das alentadas e meritorias produtividades científicas dos seus principais componentes, ao par das respectivas credenciais de suas formações e exercícios docente-profissionais.



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/MCO/UFBA
MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
IORG0003460. Assurance FWA00002471, October 26, 2010
IRB00004123, October 5, 2007 - October 4, 2010

Augusto Viana s/nº, Canaã – Hospital Universitário Professor Edgard Santos, 1.º andar
 Cap: 40.110-190 – Salvador-Bahia – telef: (71) 3283-8043 e-mail: cep@ufba.br Homepage: www.cep@ufba.br

Estabelecidos os parâmetros e objetivos que nortearão a pesquisa propriamente dita, após consolidação dos meios e plenamente justificada sua procedência médico-assistencial garantida pelas formações dos respectivos executores e entidades envolvidas, passa-se à correta **Metodologia** processante para todas as modalidades apresentadas pela ASMA e suas co-morbidades mantenedoras e/ou desencadeantes vastas **Referências Bibliográficas** encerram a proposição de trabalho em todos seus aspectos considerados. Toda esta complexidade executória será gerenciada por duas estruturas de Direção e Apoio: o Conselho Científico e o Comitê Executivo, cujas finalidades, composições e normas de ação estão precedentemente normatizadas e expostas.

Serão estudados 500 (quinhentos) pacientes com **asma grave**, de ambos os sexos e idade igual ou superior a 18 (dezoito) anos, divididos em grupos segundo o grau de controle obtido após 01 (hum) ano de acompanhamento, observados por 02 (dois) “**experts**”. Igualmente outros 500 (quinhentos) com **asma leve** ou **intermitente**, também moradores em Salvador, serão acompanhados para valorização das informações clínicas, ambientais e biológicas. Finalmente, outros 500 (quinhentos) indivíduos sem história pregressa de asma e residência equivalente por vizinhança aos anteriores, serão igualmente estudados e acompanhados, inclusive geneticamente avaliados. Avaliação da Saúde Cral, Mental, das Vias Aéreas, Imunológica, Genética, Ambiental, Tabagismo e Nutrição, sob a objetividade Geral e Específica, constituem a **Amostra a ser estudada**, donde serão gerados o **Poder de Amostra** e o **Plano de Análise Estatística** cujos resultados, para melhoria da população específica, serão divulgados à sua constatação. Com base nos resultados parciais e finais esperados haverá impactos científicos, tecnológicos, sociais, ambientais e econômicos que exercerão influências e respostas individuais e comunitárias sobre a compreensão e o tratamento da patologia especificada. Outro resultado considerável será a formação de 20 (vinte) Mestres e 10 (dez) Doutores, com as respectivas publicações de suas Dissertações e Teses, apresentação de 50 (cinquenta) trabalhos ou comunicações em Congressos e 20 (vinte) publicações de Artigos em periódicos indexados. Cronograma exposto com duração prevista de 48 (quarenta e oito) meses, com demarcações de objetivos diversos e inúmeros a serem alcançados, desde a reorganização da Unidade até as várias etapas científicas e docentes. **Termo de Consentimento Livre e Pré-Esclarecido** sintético, inteligível à futura clientela e suficientemente esclarecedor encerra a longa, complexa e explícita proposição.

Comentários. Trabalho docente-assistencial que se traduz pela reestruturação e capacitação física, instrumental e docente de um Núcleo de Estudo e Pesquisa específico para a compreensão da terceira patologia que demanda a diuturna assistência médica geral e específica no Sistema Único de Saúde e, também, pela execução da pesquisa sobre os fatores individuais, sociais, ambientais e genéticos que presidem a sua ocorrência, evolução e persistência. A colaboração a ser prestada pela “Pesquisadora” da *Universidade Johns Hopkins* e por outros dois da “Universidade de São Paulo” e uma da *London School Hygiene and Tropical Medicine*, agregam e asseguram a



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP/MCO/UFBA
MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
 IORG0003460. Assurance FWA00002471, October 26, 2010
 IRB00004123, October 5, 2007 - October 4, 2010

Av. Augusto Vasquez, s/n, Canaã - Hospital Universitário Professor Edgard Santos, 1.º andar
 Cep: 40.130-160 - Salvador-Bahia - telef: (71) 3283-8043 e-mail: cepmco@ufba.br homepage: www.cep/ufba.br

validação genética e a experiência clínica à presente Propositura, dando-lhe, inclusive, a característica de colaboração estrangeira, esta restrita apenas ao aspecto processual — revisão lâminas genéticas — reduzidíssima quando comparada ao todo, porém não menos valiosa, fundamentada e certamente referencial. **Protocolo aprovável.**

APROVADO

Salvador, 11 de Novembro de 2009

Antônio dos Santos Barata
Professor, Doutor Antônio dos Santos Barata,
Coordenador - CEP/MCO/UFBA

Observações importantes. Toda a documentação anexa ao Protocolo proposto e rubricada pelo (a) Pesquisador (a), arquivada neste CEP, e também a outra devolvida com a rubrica da Secretária deste (a) ao (à) mesmo (a), faz parte intrínseca deste Parecer/Resolução e nas "Recomendações Adicionais" apenas, **bem como a impostergável entrega de relatórios parciais e final como consta nesta liberação,** (Modelo de Redação para Relatório de Pesquisa, anexo).



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/MCO/UFBA
 MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA
 UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
 IORG0003460. Assurance FWA00002471, expira em 13 de Fev/2019
 IRB00004123, expira em 14 de Fev/2017

Rua do Limoeiro, nº 137 – Nazaré Cep: 40.005-150 – Salvador-Bahia
 Telefax: (71) 3283-9210/9211 e-mail: cepmco@gmail.com

PARECER/RESOLUÇÃO ADITIVA N.º 032/2014

Para análise e deliberação deste Institucional o Professor, Doutor **Álvaro Augusto Souza da Cruz Filho**, Pesquisador Responsável pelo **Projeto de Pesquisa** intitulado **“Fatores de Risco, biomarcadores e endofenotipos da asma grave”** aprovado em 14 de Abril de 2010 através do Parecer/Resolução N° 099/2009, encaminhou, em 19 de Novembro de 2014, os **“Relatórios Parciais de Janeiro de 2013 a Outubro de 2014, Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, Fatores de risco, biomarcadores e endofenotipos da asma grave (para pessoas com asma), versão IV, datado de 06 de Novembro de 2012 e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, Fatores de risco, biomarcadores e endofenotipos da asma grave (para pessoas sem asma), versão IV, datado de 06 de Novembro de 2012”**.

Inexistindo nas referidas proposições conflitos administrativo, processual e ético que contra-indiquem a conseqüente execução da pesquisa, fica a mesma **aprovada** por mais 1 ano por esta Instância.

Salvador, 19 de Novembro de 2014.

Professor, Doutor, Eduardo Martins Netto
 Coordenador CEP/MCO/UFBA

Observação importante. Toda a documentação anexa ao Protocolo proposto e rubricada pelo (a) Pesquisador (a), arquivada neste CEP, e também a outra devolvida com a rubrica da Secretária deste ao (à) mesmo (a), faz parte intrínseca deste Parecer/Resolução Aditiva e nas “Recomendações Adicionais” apenas, **bem como a impostergável entrega de relatórios parciais e final como consta nesta liberação**, (Modelo de Redação para Relatório de Pesquisa, anexo).