

Sheila Mara Gonçalves Marra

**PARÂMETROS ESPIROMÉTRICOS E NÍVEIS DE IFN- γ
E IL-5 NO ESCARRO INDUZIDO DE PACIENTES COM
ASMA OU RINITE ALÉRGICAS**

Dissertação apresentada ao Colegiado do
Programa de Pós-graduação em Ciências da
Saúde, como parte das exigências para obtenção
do título de mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Ernesto Akio Taketomi

**Uberlândia
2007**

Sheila Mara Gonçalves Marra

**PARÂMETROS ESPIROMÉTRICOS E NÍVEIS DE IFN- γ
E IL-5 NO ESCARRO INDUZIDO DE PACIENTES COM
ASMA OU RINITE ALÉRGICAS**

Dissertação apresentada ao Colegiado do
Programa de Pós-graduação em Ciências da
Saúde, como parte das exigências para obtenção
do título de mestre em Ciências da Saúde.

Uberlândia, 14 de Maio de 2007.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Ernesto Akio Taketomi

Prof. Dr. Manoel Medeiros Júnior

Prof. Dra. Janethe Deolina Oliveira Pena

Prof. Dr. Luiz Carlos Marques Oliveira

Dedico este estudo primeiramente a Deus por ter me concedido o dom e a vontade do aprendizado, a meus amados pais, Vicente e Luzia, a Arali minha querida irmã, e em especial ao Rodrigo, meu esposo, por acreditar no meu ideal e ser força, amor e incentivo em todos os momentos, principalmente nos mais incertos.

Agradecimentos

A Deus, pelo amor e proteção.

Aos meus pais, Luzia e Vicente, pela vida.

À minha irmã, Arali, pela dedicação e boa-vontade.

Ao Rodrigo pelo amor e companheirismo ímpar.

Ao Professor Dr. Ernesto Akio Taketomi, por acreditar em mim, me mostrar o caminho e me acompanhar por ele, fazendo do orientador um amigo.

À Dra. Deise Aparecida de Oliveira Silva, pela dedicação e carinho maternos.

Ao Gesmar Rodrigues Silva Segundo pelas orientações fundamentais para a realização deste trabalho.

Ao Professor Dr. Sílvio Favoretto Junior pelo apoio mesmo antes deste trabalho se iniciar, pela doação de materiais essenciais ao desenvolvimento deste estudo e pela eterna amizade.

Ao Pneumologista Edison Rosa Junior pelos ensinamentos e por se tornar um amigo especial.

À Rosiane Borges, pelas horas dedicadas e responsabilidades divididas.

À Dra. Cláudia Lindronetta por apoiar este trabalho.

À Dra. Ada Clarice Gastaldi, pelos ensinamentos.

Aos amigos da alergia, Carol, Ronaldo, Fabíola, Cristiane, Karine, Priscila, Leandro, Rafael, Jorge, Mônica e Renato, pela amizade e acolhida neste grupo, pelas horas de convivência e os vários momentos de descontração.

Aos professores e colegas do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, pelo aprendizado e companheirismo.

À Ducilene Aparecida Machado, funcionária do Laboratório de Função Pulmonar HC-UFU, pela boa vontade e carinho constantes.

Aos secretários Max e Elaine, pela atenção com que me atenderam todas as vezes que os recorri.

Aos funcionários do Laboratório de Imunologia e Alergia, Andréia e "Junão", que colaboram para o bom andamento dos nossos experimentos.

A todos aqueles que, com gestos simples, de alguma forma me auxiliaram nesse trabalho.

Agradecimento especial

*Aos pacientes e voluntários, pelo ato de altruísmo sem o qual
este trabalho não poderia ser realizado.*

RESUMO

Rinite e asma alérgicas são doenças mediadas por anticorpos IgE por meio do desenvolvimento de células Th2 em resposta aos alérgenos específicos em indivíduos geneticamente predispostos e sensibilizados. Asma e rinite estão frequentemente associadas, sugerindo o conceito de “uma via respiratória, uma doença”. O objetivo deste estudo foi verificar os parâmetros espirométricos: Capacidade Vital Forçada (CVF), Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo (VEF_1) e Fluxo Expiratório Forçado entre 25% e 75% da Capacidade Vital Forçada ($FEF_{25-75\%}$) nos pacientes participantes do estudo com asma alérgica ou rinite alérgica e indivíduos não-atópicos e, determinar os níveis das citocinas IFN- γ e IL-5 e no escarro induzido de pacientes com asma alérgica ou rinite alérgica e indivíduos não-atópicos. Analisou-se 33 indivíduos, entre dezoito e sessenta anos, de ambos os sexos, sendo oito portadores de asma alérgica e dezesseis com rinite alérgica (RA), apresentando teste cutâneo de puntura (TCP) positivo a aeroalérgenos. Os nove indivíduos restantes eram saudáveis e não-atópicos com TCP negativo a aeroalérgenos. Foi realizada espirometria avaliando CVF, VEF_1 e $FEF_{25-75\%}$ pré e pós-broncodilatadores. Foram coletadas amostras de escarro induzido nas quais, foram quantificados níveis de IFN- γ e IL-5 por meio de ensaios imunoenzimáticos (ELISA). A variação do VEF_1 pré e pós-broncodilatador foi significativamente maior nos asmáticos comparada aos pacientes com rinite e aos não-atópicos. Não houve diferença significativa nos parâmetros espirométricos pré e pós-broncodilatador entre os três grupos, embora uma tendência para menores valores de $FEF_{25-75\%}$ pré-broncodilatador foi observada nos asmáticos. Os níveis de IFN- γ no escarro induzido não mostraram diferenças significantes entre os grupos enquanto os níveis de IL-5 foram maiores nos pacientes com asma e com RA comparados aos não-atópicos. A partir deste estudo conclui-se que as alterações espirométricas não foram capazes de predizer a ocorrência de broncoconstrição nos pacientes com RA, mas os níveis predominantes de IL-5 sobre IFN- γ no escarro induzido destes pacientes reforçam o papel da resposta imune Th2 em vias aéreas inferiores.

Palavras-Chave: Espirometria; IFN- γ ; IL-5; Escarro induzido; Asma; Rinite alérgica.

ABSTRACT

Asthma and allergic rhinitis are mediated by IgE antibodies through the development of allergen-specific Th2 cells in genetically predisposed and sensitized subjects. Asthma and rhinitis are frequently associated, suggesting the concept of “one airway, one disease”. The aims of this study were to analyze spirometrics parameters and IFN- γ and IL-5 levels in the induced sputum from patients with asthma or allergic rhinitis (AR) and non-atopic subjects.

Thirty-three subjects aged 18 to 60 years, both sexes, were analyzed. From these, eight were asthmatics and 16 had allergic rhinitis (AR), and both groups had positive skin prick test (SPT) to aeroallergens. The nine remaining subjects were healthy non-atopics with negative SPT to aeroallergens. Spirometry was performed through evaluating the forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in the first second (FEV₁) and forced expiratory flux between 25 and 75% (FEF_{25-75%}) pre and post-bronchodilators. Induced sputum samples were collected and IFN- γ and IL-5 levels were quantified by immunoassays. Significant pre- and post-bronchodilator variation was observed only for FEV₁ with higher values in asthmatics compared to patients with RA and non-atopics. There was no significant difference in pre- and post-bronchodilator parameters among the three groups, although there was a tendency for pre-bronchodilator lower FEF_{25-75%} values in asthmatic patients. IFN- γ levels in the induced sputum showed no significant difference between the groups but, IL-5 levels were higher in patients with asthma and AR compared to non-atopics. It can be concluded that Spirometric alterations were not able to predict the occurrence of bronchoconstriction in patients with AR, but predominant IL-5 levels in the induced sputum of these patients reinforce the role of the Th2-type immune response in low respiratory airways that could contribute to the development of asthma in patients with AR.

Key-words: Spirometry; IL-5; IFN- γ ; Induced sputum; Asthma; Allergic Rhinitis.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APC	Célula Apresentadora de Antígeno
ARIA	Rinite alérgica e seu Impacto na Asma
BSA	Soroalbumina bovina
Bt	<i>Blomia tropicalis</i>
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CVF	Capacidade Vital Forçada
DATASUS	Banco de dados do Sistema Único de Saúde
Df	<i>Dermatophagoides farinae</i>
DO	Densidade óptica
Dp	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>
DP	Desvio padrão
DTT	Ditiotreitol
ECP	Proteína catiônica eosinofílica
EDN	Neurotoxina Derivada de Eosinófilos
ELISA	<i>enzyme linked immunosorbent assay</i> (ensaio imunoenzimático)
EPO	Peroxidase Eosinofílica
FcεRI	Receptor de alta afinidade para porção Fcε de IgE
FEF	Fluxo Expiratório Forçado
GINA	Iniciativa Global para Asma
GM-CSF	Fator Estimulador de Colônias para monócitos e Granulócitos
H1	Receptor para histamina 1
HC-UFU	Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICAM-1	Molécula de Adesão Intercelular-1
IgE	Imunoglobulina E
IgG4	Imunoglobulina G4

IL	Interleucina
IFN- γ	Interferon-gama
LFA-1	Antígeno associado à função leucocitária-1
MBP	Proteína Básica Principal
MCP	Proteína co-fator de membrana
MHC	<i>Major histocompatibility complex</i> (Complexo principal de histocompatibilidade)
MIP-1 α	Proteína de inflamação de macrófago 1-alfa
MPO	Mieloperoxidase
NaN ₃	Azida sódica
PAF	Fator Ativador de Plaquetas
PBS	Solução salina tamponada com fosfatos
PBS-T	Solução salina tamponada com fosfatos contendo Tween 20
PFE	Pico de Fluxo Expiratório
RA	Rinite alérgica
RANTES	Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted
SUS	Sistema Único de Saúde
TBS	Salina tamponada com Tris
TCD4 ⁺	Linfócito T CD4 positivo
TCP	Teste cutâneo de puntura
Th1	Linfócito T <i>helper</i> 1
Th2	linfócito T <i>helper</i> 2
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral-alfa
Treg	Célula T regulatória
VCAM-1	Molécula de adesão celular vascular-1
VEF ₁	Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo
VEF ₁ /CVF	Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo dividido pela capacidade vital Forçada
VLA	Antígeno Muito Tardio-4

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Classificação da rinite alérgica, segundo <i>Allergic Rhinitis And Its Impact on Asthma</i> (ARIA, 2002).	25
FIGURA 2. Idade dos pacientes com asma ou rinite alérgicas e indivíduos não-atópicos.	45
FIGURA 3. Distribuição por sexo dos pacientes com asma ou rinite alérgicas e dos indivíduos não-atópicos.	46
FIGURA 4. Distribuição da história familiar de alergia parental dos pacientes com asma ou rinite alérgicas e nos indivíduos não-atópicos.	47
FIGURA 5. Porcentagem dos valores obtidos em relação aos valores preditos para a capacidade vital forçada (CVF), volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF ₁) e fluxo expiratório forçado entre 25% e 75% da CVF (FEF _{25-75%}) obtidos pré-broncodilatador nos pacientes com asma ou rinite alérgicas e indivíduos não atópicos.	51
FIGURA 6. Porcentagem dos valores obtidos em relação aos valores preditos para a capacidade vital forçada (CVF), volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF ₁) e fluxo expiratório forçado entre 25% e 75% da CVF (FEF _{25-75%}) obtidos pós-broncodilatador nos pacientes com asma ou rinite alérgicas e indivíduos não atópicos.	52
FIGURA 7. Porcentagem dos valores obtidos em relação aos valores preditos para as variações da capacidade vital forçada (Δ CVF), volume expiratório forçado no primeiro segundo (Δ VEF ₁) e fluxo expiratório forçado entre 25% e 75% da CVF (Δ FEF _{25-75%}) obtidos nos pacientes com asma ou rinite alérgicas e indivíduos não atópicos.	53
FIGURA 8. Níveis de IFN- γ (pg/mL) no escarro induzido de pacientes com asma ou rinite alérgicas e de indivíduos não atópicos.	54
FIGURA 9. Níveis de IL-5 (pg/mL) no escarro induzido de pacientes com asma ou rinite alérgicas e de indivíduos não-atópicos.	55

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Classificação da gravidade da asma segundo <i>Global Initiative for Asthma</i> (GINA, 2005).	23
TABELA 2: Resultados do teste cutâneo de puntura aos diferentes extratos alergênicos analisados e histamina (controle positivo) nos pacientes com asma ou rinite alérgicas e nos indivíduos não-atópicos.	49
TABELA 3: Resultados da espirometria dos indivíduos do estudo.	50

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Alergia e atopia	16
1.2 Asma	18
1.3 Rinite alérgica	19
1.4 Epidemiologia	20
1.4.1 Epidemiologia da Asma	20
1.4.2 Epidemiologia da Rinite Alérgica	21
1.5 Classificação da Asma	22
1.5.1 Diagnóstico	23
1.6 Classificação da Rinite Alérgica	24
1.6.1 Diagnóstico	25
1.7 Imunopatogenia	26
1.8 Relação entre Asma Alérgica e Rinite Alérgica	30
2 OBJETIVOS	31
3 MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1 Aspectos éticos	34
3.2 Local do estudo	34
3.3 Casuística.....	35
3.4 Teste cutâneo de puntura (TCP).....	37
3.5 Espirometria	38
3.6 Indução do escarro	39
3.6.1 Processamento do escarro	40
3.7 ELISA para detecção de citocinas	40
3.8 Análise estatística	42
3.9 Normas de Biossegurança	43
4 RESULTADOS	44

4.1 Idade	45
4.2 Sexo	46
4.3 História Familiar de Alergia.....	47
4.4 Teste cutâneo de puntura	48
4.6 Espirometria	50
4.6.1 Análise dos parâmetros espirométricos pré-broncodilatador	51
4.6.2 Análise dos parâmetros espirométricos pós-broncodilatador	52
4.6.3 Análise das variações dos parâmetros espirométricos pré e pós-broncodilatador.....	53
4.7 Dosagem de IFN- γ no escarro induzido	54
4.8 Dosagem de IL-5 no escarro induzido	55
5 DISCUSSÃO	56
6 CONCLUSÕES.....	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
ANEXOS	70
ANEXO A	71
ANEXO B	72
ANEXO C	73
ANEXO D	74
ANEXO E.....	77

1 INTRODUÇÃO

1.1 ALERGIA E ATOPIA

O termo alergia é proveniente do radical grego “Allos”, que significa alteração do estado original. Ele foi usado pela primeira vez em 1906 por Clemens Von Pirquet, para definir situações em que a reação imunológica do organismo frente a um agente externo era diferente da resposta protetora esperada, produzindo efeitos indesejáveis. Segundo o Comitê Internacional de Nomenclatura para Alergia, o termo alergia é atualmente definido como parte de uma classe de respostas do sistema imune, denominadas reações de hipersensibilidade, iniciada por mecanismos imunológicos específicos (JANEWAY *et al.*, 2002).

A utilização do conceito de atopia, que significa “incomum”, para descrever fenômenos alérgicos de natureza familiar e hereditária data de 1923, por Coca e Cooke (*apud* JOHANSSON *et al.*, 2004). Atualmente, atopia é definida como uma tendência pessoal ou familiar para a sensibilização e produção de anticorpos IgE em resposta às exposições habituais a um antígeno. As conseqüências para esse indivíduo podem ser o desenvolvimento de sintomas típicos de asma, rinoconjuntivite ou eczema (JOHANSSON *et al.*, 2004).

Asma e rinite podem ser consideradas doenças alérgicas quando ocorrem pelo desencadeamento de respostas imunológicas provenientes da ativação de células Th2 frente ao estímulo do antígeno, caracterizando as reações de hipersensibilidade imediata e suas manifestações clínicas. A hipersensibilidade imediata é assim definida porque ocorre imediatamente após o contato do indivíduo alérgico com o alérgeno e leva à ocorrência de aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação, contração da musculatura lisa dos brônquios e das vísceras e inflamação local (ABBAS; LICHTMAN, 2005).

Os antígenos, também chamados de alérgenos, que provocam a hipersensibilidade

imediate, são em geral substâncias químicas e proteínas ambientais comuns e as quais o indivíduo alérgico está exposto de maneira crônica. Elas incluem pólenes, ácaros de poeira doméstica, escamas ou pêlos de animais, alimentos e substâncias químicas como a penicilina. A exposição a um alérgeno pode se dar através de inalação, ingestão, injeção ou contato com a pele ou mucosa (TERR, 1997a).

De acordo com a fisiopatologia, o conceito corrente é de que as doenças alérgicas são multifatoriais e complexas, necessitando de uma associação entre fatores genéticos e ambientais para a sua manifestação. Duas ou mais formas clínicas de alergia podem coexistir no mesmo indivíduo, ao mesmo tempo, ou em diferentes tempos no curso da doença (HELLINGS.; FOKKENS., 2006).

As doenças alérgicas constituem condições crônicas de alta prevalência tanto em crianças como em adultos e de elevado custo econômico e social, seja pela grande utilização dos serviços de saúde ou pelo prejuízo oriundo de faltas ao trabalho e absenteísmo escolar a elas associadas (WOOLCOCK, 2000; BLAISS, 1999). Estudos feitos em diversas partes do mundo mostram a associação de asma e rinite com alérgenos de poeira domiciliar mais do que com pólenes, sendo assim, quase certo, serem os alérgenos domiciliares as causas mais importantes destas doenças (PLATTS-MILLS *et al.*, 2000).

Outro aspecto importante destas doenças alérgicas é a predisposição genética. Segundo Lierl (1995), crianças cujos pais possuem história de asma e/ou rinite, têm 70% de probabilidade de desenvolverem uma dessas condições, enquanto aquelas em que somente um dos pais possui tais doenças as chances são em torno de 50%.

1.2 ASMA

A asma é uma doença inflamatória crônica, caracterizada por hiperreatividade das vias aéreas inferiores e por limitação variável ao fluxo aéreo, reversível espontaneamente ou com tratamento, manifestando-se clinicamente por episódios recorrentes de sibilância, dispnéia, opressão torácica e tosse, particularmente durante a noite e pela manhã ao despertar. Resulta da interação entre a carga genética, exposição ambiental a alérgenos e irritantes, e outros fatores específicos que levam ao desenvolvimento e manutenção dos sintomas (IV DIRETRIZES BRASILEIRAS PARA O MANEJO DA ASMA, 2006). Como uma doença multifatorial, está associada com fatores familiares, infecciosos, alergênicos, sócio-econômicos e ambientais. Contudo, cerca de 70% dos casos ocorrem em indivíduos que exibem resposta de hipersensibilidade a alérgenos ambientais definidos caracterizando a asma alérgica (SANDFORD *et al.*, 2000).

A asma alérgica é uma doença inflamatória causada por reações repetidas de hipersensibilidade imediata e tardia no pulmão, levando à tríade clinicopatológica de obstrução intermitente e reversível das vias aéreas, inflamação crônica dos brônquios com eosinófilia e hipertrofia de células da sua musculatura lisa e, hiperreatividade aos broncoconstritores. As crises acontecem durante ou após a exposição a estes alérgenos dependendo da sensibilidade alérgica particular de cada paciente (ABBAS; LICHTMAN, 2005).

Asma não alérgica, idiopática ou asma intrínseca, é caracterizada por obstrução brônquica recorrente ou crônica não relacionada à exposição ao alérgeno e não há história pessoal ou familiar de doença alérgica associada (HOLGATE,.; DJUKANOVIC., 1999). Geralmente aparece na infância, podendo em alguns casos ocorrer durante a vida adulta, usualmente após

uma infecção respiratória. Caracteristicamente, é desencadeada por exercícios físicos, infecções e outros fatores não relacionados. A concentração de IgE sérica total é normal, contudo, eosinofilia sanguínea e no escarro pode ser encontrada (TERR *et al* 1997b).

1.3 RINITE ALÉRGICA

É a inflamação da mucosa de revestimento nasal, mediada por IgE, após exposição a alérgenos, cujos sintomas (obstrução nasal, rinorréia aquosa, espirros e prurido nasal) são reversíveis espontaneamente ou com tratamento (II Consenso Brasileiro sobre Rinites, 2006). O desenvolvimento dessas condições nasais crônicas ou recorrentes pode resultar em complicações como sinusites, otites ou pólipos nasais (LIERL, 1995).

Assim como na asma alérgica, a rinite alérgica decorre de uma resposta de hipersensibilidade a alérgenos mediada por anticorpos IgE. Os alérgenos mais comuns envolvidos incluem pólenes, pêlos de animais, ácaros da poeira domiciliar, esporos de fungos e partículas de insetos (HELLINGS.; FOKKENS., 2006). O alérgeno solúvel inalado é absorvido, principalmente por difusão passiva, entra em contato com a mucosa nasal, liga-se à IgE específica presente nos mastócitos e basófilos levando à liberação local de mediadores pré-formados ou sintetizados destas células. Inicia-se assim o quadro sintomatológico desta doença (TERR *et al* 1997).

1.4 EPIDEMIOLOGIA

1.4.1 Epidemiologia da Asma

A asma brônquica tem uma prevalência populacional na infância entre 5% e 10% (PEARCE *et al.*, 2000). Para Woolcock (2000), a alergia se tornou um problema de saúde em muitas sociedades modernas, onde sua prevalência aumentou em até 34% em crianças e 16,3% em adultos entre as décadas de 60 e 90.

Em 1998, um estudo feito pelo comitê Internacional de estudo da asma e alergias, em crianças em idade escolar, adotando um questionário padronizado (ISAAC), revelou que os mais altos índices de prevalência da doença foram encontrados na Austrália, Nova Zelândia, Reino Unido, Estados Unidos e algumas cidades da América Latina. Ao contrário, os índices mais baixos foram encontrados em países não industrializados e áreas tipicamente rurais (ISAAC, 1998).

Um outro estudo revisado por Ring e colaboradores (2001) aponta hipóteses que revelam um crescimento acelerado da prevalência das doenças alérgicas em países ocidentais, tidos como países de sociedade moderna. Dentre elas, destaca-se a influência de fatores químicos, físicos, biológicos e psico-sociais, como causadores e adjuvantes, além de fatores de predisposição genética populacional.

Estudos de prevalência de doenças alérgicas no Brasil como o de Rullo e colaboradores, 2002, mostram que, lugares públicos como escolas e creches, são considerados locais de grande fonte de ácaros da poeira domiciliar e barata (RULLO *et al.*, 2002). A exposição a estes alérgenos

constitui um importante fator de risco para o desenvolvimento de asma, especialmente nas crianças em idade escolar (SOLÉ *et al.*, 2006).

Segundo o banco de dados do sistema único de saúde, DATASUS, ocorreram no Brasil 290.788 internações entre fevereiro de 2006 e janeiro de 2007 por asma. Os gastos pelo Sistema Único de Saúde (SUS) brasileiro nessas internações por asma alcançaram neste período a ordem de 88 milhões de reais. Entretanto, a taxa de mortalidade por asma é baixa, no Brasil foram registradas 887 mortes entre fevereiro/2006 a janeiro/2007, correspondendo a 0,3% do total de internações (DATASUS, 2007).

1.4.2 Epidemiologia da Rinite Alérgica

A RA acomete cerca de 10 a 25% da população geral representando um problema global de saúde pública. Apresenta caráter hereditário, com incidência em torno de 15% na população cujos pais não são alérgicos, cerca de 30% a 35% em indivíduos quando um dos pais apresenta história de alergia, e pode chegar a 70% quando ambos os pais relatam esse antecedente (LIERL, 1995).

A RA está ganhando grande importância devido ao rápido aumento de sua prevalência mundial (SETTIPANE; HAGY; SETTIPANE, 1994), afetando 30% a 40% de crianças e adolescentes (SKONER, 2001). No Brasil, a prevalência média de rinite foi de 26,6% e 34,2% em grupos de crianças e adolescentes com seis e sete anos e, treze e quatorze anos, respectivamente, com maior prevalência nos centros urbanos (SOLÉ *et al.*, 2004). Conforme Hellings e Fokkens (2006), a rinite alérgica acomete mais de 30 milhões de americanos sem

discriminar sexo, idade, raça ou condição sócio-econômica. Ocupa o sexto lugar dentre as doenças crônicas mais prevalentes entre esta população, que gasta anualmente, bilhões de dólares para o seu tratamento. Segundo Abbas e Litchman (2005), a rinite é talvez a doença alérgica mais freqüente na população global.

Mesmo sendo uma doença de baixa mortalidade, as complicações da RA como sinusite, disfunção da tuba auditiva, distúrbios do sono e respiração bucal crônica, além do seu impacto na asma, resulta em um alto custo financeiro (MELTZER, 2001).

1.5 CLASSIFICAÇÃO DA ASMA

A asma é classificada em intermitente, leve persistente, moderada persistente ou grave, baseando-se na combinação dos sintomas e na função pulmonar. Dispnéia, opressão torácica, sibilância e tosse, sintomas noturnos, interferência nas atividades diárias, número de crises e variabilidade do pico de fluxo expiratório (PFE) ou do VEF₁ nas consultas ou medido diariamente, são os critérios utilizados para classificação (Iniciativa Global para Asma, GINA, 2005).

TABELA 1: Classificação da gravidade da asma segundo *Global Initiative for Asthma GINA*, 2005.

CLASSIFICAÇÃO DA GRAVIDADE DA ASMA			
	Sintomas/dia	Sintomas/noite	<u>VEF₁ ou PFE</u> Variabilidade do PFE
1 Intermitente	< 1 vez por semana Assintomático e PFE normal entre as crises	≤ 2 vezes no mês	$\geq 80\%$ $< 20\%$
2 Leve Persistente	> 1 vez por semana mais < que 1 vez por dia Crises podem afetar as atividades	> 2 vezes no mês	$\geq 80\%$ 20 - 30%
3 Moderada Persistente	Diários Crises afetam as atividades	> 1 vez por semana	$60\% - 80\%$ $> 30\%$
4 Grave Persistente	Contínuos Limitação da atividade física	Frequentes	$< 60\%$ $> 30\%$

A presença de um dos fatores de gravidade é suficiente para incluir um paciente na categoria. Pacientes de qualquer nível de gravidade até asma intermitente podem ter crises graves.

1.5.1 Diagnóstico

O diagnóstico da asma deve se basear em condições clínicas e funcionais e na avaliação da alergia. Para o diagnóstico clínico, são indicativos de asma os sintomas como dispnéia, tosse crônica, sibilância, opressão torácica, particularmente à noite ou nas primeiras horas da manhã, e melhora espontânea ou pelo uso específico de medicações para asma. Para o diagnóstico

funcional, são utilizados os testes espirométricos para verificação dos valores da relação entre o VEF₁ e do Volume Expiratório Forçado e a Capacidade Vital Forçada (VEF₁/CVF). Os pacientes com asma leve podem apresentar valores de VEF₁ normais, porém, ao realizar teste de broncoprovocação, verificamos uma redução $\geq 20\%$ nessa medida. Na asma moderada e grave, encontramos valores de VEF₁ entre 60 e 80% do predito e $< 60\%$ do esperado, respectivamente (IV DIRETRIZES BRASILEIRAS PARA O MANEJO DA ASMA, 2006).

A sensibilização a aeroalérgenos pode ser diagnosticada utilizando testes cutâneos e a determinação de IgE sérica específica (BUSSE; LEMANSKE.; 2001). O teste cutâneo de puntura (TCP) é realizado usualmente na superfície anterior do antebraço, sendo uma técnica de fácil e rápida execução e de baixo custo, além de apresentar maior sensibilidade, porém, os pacientes com quadros mais graves podem apresentar reações durante o teste (EGGLESTON *et al.*, 1998).

1.6 CLASSIFICAÇÃO DA RINITE ALÉRGICA

A nova classificação da rinite alérgica utiliza sintomas e parâmetros de qualidade de vida. Baseada na duração da crise está classificada em rinite intermitente ou persistente. Quanto à gravidade pode ser leve ou moderada/grave, dependendo dos sintomas e da qualidade de vida dos pacientes (BUSQUET *et al.*, 2001).

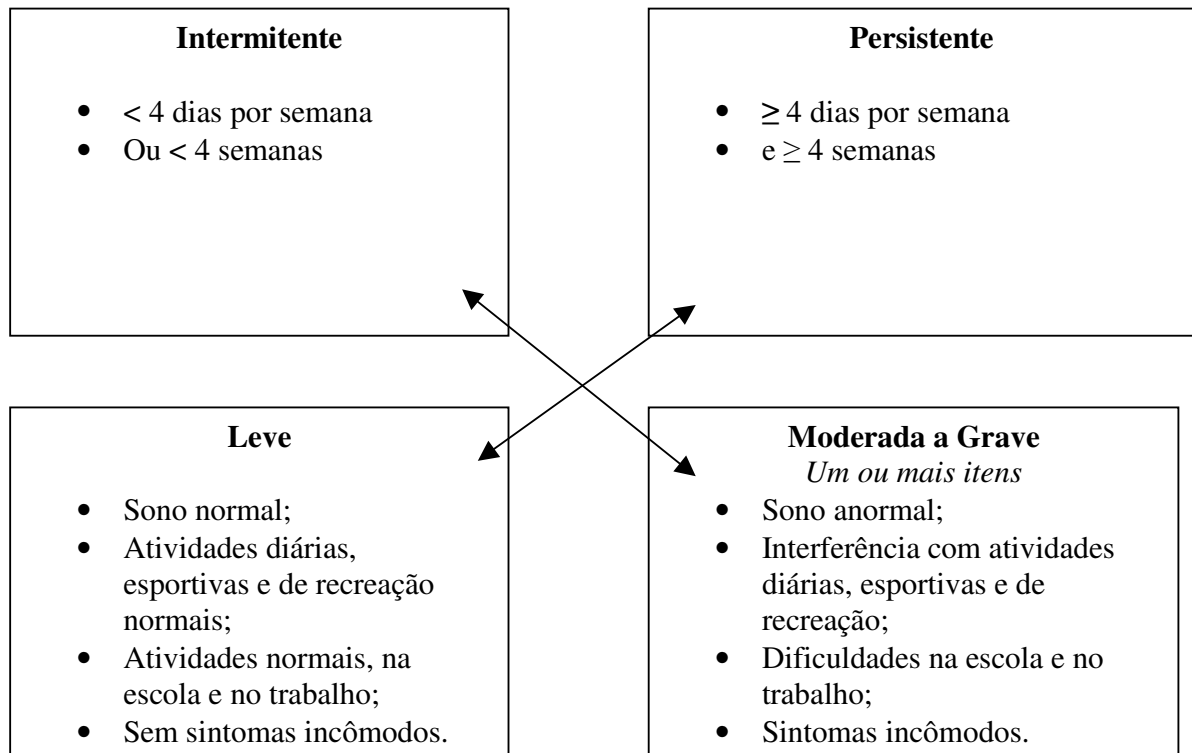


FIGURA 1: Classificação da rinite alérgica, segundo ARIA – Allergic Rhinitis And Its Impact on Asthma, (BUSQUET *et al.*, 2001). 2005.

1.6.1 Diagnóstico

O diagnóstico de rinite alérgica está baseado na história típica dos sintomas alérgicos como espirros em salva, coriza aquosa, prurido e obstrução nasal. Testes cutâneos de leitura imediata são utilizados para demonstrar a reação alérgica mediada por IgE. A dosagem de IgE sérica alérgeno específica reforça o diagnóstico (BUSQUET *et al.*, 2001).

1.7 IMUNOPATOGENIA

Rinite e asma alérgicas são conseqüências de reação de hipersensibilidade mediada por anticorpos IgE e pela reação das células Th2 aos alérgenos específicos, que ocorrem em indivíduos geneticamente predispostos e sensibilizados (ABBAS; LICHTMAN, 2005; II CONSENSO BRASILEIRO SOBRE RINITES, 2006). A fase de sensibilização do processo alérgico inicia-se com o processamento e a apresentação de fragmentos do alérgeno por Células Apresentadoras de Antígenos (APC) ao linfócito T *naive* (virgem). O reconhecimento do conjunto peptídeo/Complexo Principal de Histocompatibilidade II (MHCII) por um linfócito T CD4⁺ (T CD4⁺) com receptor específico para o alérgeno, reforçado pela ligação das moléculas co-estimulatórias B7-1 (CD80), B7-2 (CD86) e CD28, leva à ativação da célula Th (T auxiliadora) (ABBAS; LICHTMAN, 2005; II CONSENSO BRASILEIRO SOBRE RINITES, 2006).

O sistema imune apresenta pelo menos três tipos distintos de células T, a saber: Th1, Th2 e Treg (T regulatória). O IFN- γ é a citocina produzida caracteristicamente pelas células Th1, IL-4 e IL-5 são citocinas que definem a subpopulação Th2 enquanto as citocinas imunossupressoras como IL-10 e TGF- β caracterizam as células Treg. Estas células são importantes na regulação da resposta imunitária para garantir a homeostase. O fenótipo Th2 está associado com respostas imunes a helmintos e alérgenos. A célula Th2 ativada expressa ligante de CD40 e secreta IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, citocinas que auxiliam as células B a produzirem anticorpos IgE e IgG4. Além disso, IL-3, IL-5 e GM-CSF (Fator Estimulador de Colônias para Granulócitos e Monócitos) secretadas pelas células Th2 ativadas ativam eosinófilos, basófilos e mastócitos. A IL-4 estimula a expressão de VCAM-1 (molécula de adesão celular vascular-1) nas células

endoteliais, resultando em aumento da ligação dos linfócitos, monócitos e especialmente eosinófilos (ABBAS; LICHTMAN, 2005). A IL-5 é um importante fator de crescimento seletivo para diferenciação terminal, ativação e manutenção dos eosinófilos nos tecidos, possivelmente inibindo a sua apoptose (BOUSQUET *et al.*, 2001). Após a sensibilização, os anticorpos IgE ligam-se a receptores de IgE de alta afinidade (Fc_εRI), localizados principalmente em mastócitos e basófilos e a receptores de IgE de baixa afinidade (Fc_εRII) em eosinófilos, monócitos e plaquetas.

Em subsequente exposição ao alérgeno, moléculas deste ligam-se a anticorpos IgE fixados aos mastócitos da mucosa nasal e brônquica, ocasionando degranulação com liberação de mediadores químicos pré-formados como histamina e recém-sintetizados como leucotrienos, prostaglandinas e citocinas. A histamina causa vaso dilatação, aumento da permeabilidade vascular, secreção glandular, estimulação de receptores para histamina 1 (H1) nas terminações nervosas sensitivas e de fibras nervosas C, sendo responsável pelos sintomas da RA (espirros, prurido nasal, rinorréia e obstrução nasal) e estimulação da contração da musculatura lisa, um dos fatores responsáveis pelo broncoespasmo na asma (ABBAS; LICHTMAN, 2005).

A ativação de mastócitos, basófilos, eosinófilos e macrófagos induzem a ação da fosfolipase A2 sobre fosfolípidos de membrana, que liberam o ácido araquidônico. Este sob efeito da ciclooxigenase resulta na formação de prostaglandinas, e, sob a ação da lipooxigenase, na dos leucotrienos. As prostaglandinas promovem aumento da permeabilidade vascular, prurido, vasodilatação e broncoconstrição, sendo responsáveis pela quimiotaxia e acúmulo de neutrófilos em sítios inflamatórios, assim como pela agregação e ativação plaquetária. Os leucotrienos cisteínicos têm ação similar à da histamina, mas por sua ação mais potente e prolongada contribuem importantemente para a congestão nasal na rinite alérgica e manutenção do broncoespasmo na asma alérgica (ABBAS; LICHTMAN, 2005).

Os mastócitos ativados secretam também citocinas [(IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 e Fator de Necrose Tumoral-alfa (TNF- α)], que regulam a duração e intensidade da resposta imunológica, pela promoção da expressão de moléculas de adesão e do recrutamento de células inflamatórias (eosinófilos, neutrófilos, macrófagos e linfócitos T). As citocinas desempenham papel importante nos eventos inflamatórios da resposta tardia. A IL-1 estimula o crescimento de linfócitos T e o crescimento e proliferação de linfócitos B; a IL-2 causa proliferação de linfócitos T; a IL-3 estimula a maturação de mastócitos; a IL-4 promove a diferenciação de linfócitos B em plasmócitos produtores de IgE e, ao lado do TNF- α , aumentam a expressão de receptores de IgE de baixa afinidade em células APCs; a IL-5 ativa linfócitos B e promove a diferenciação e maturação de eosinófilos, assim como sua ativação e aumento de sobrevivência; a IL-6 aumenta a síntese e secreção de imunoglobulinas; a IL-13 induz a produção de IgE e o GM-CSF participa com a IL-5 na maturação de eosinófilos. As quimiocinas, como IL-8, Proteína de inflamação de macrófago 1-alfa (MIP-1-alfa), Proteína co-fator de membrana (MCP) -1, 2 e 3 e RANTES (secretado e expressado por células T normais reguladas em ativação), têm como função principal a quimiotaxia de macrófagos e leucócitos circulantes, mas também induzem outros efeitos inflamatórios, incluindo a liberação de histamina e a ativação de eosinófilos (ROITT; BROSTOFF; MALE, 2006).

A migração de células inflamatórias envolve uma sequência de eventos, incluindo a marginação de leucócitos na parede da microvasculatura nasal e brônquica, adesão ao endotélio vascular, transmigração através da parede dos vasos e migração em função do gradiente quimiotático para o compartimento extravascular. Todos estes eventos são mediados por moléculas de adesão, tais como: integrinas, selectinas e membros da superfamília de imunoglobulinas. As principais moléculas de adesão envolvidas nas inflamações alérgicas são:

selectinas, Molécula de Adesão Intercelular-1 (ICAM1), Antígeno Associado à Função de Leucócitos-1 (LFA-1), Molécula de Adesão da Célula-Vascular-1 (VCAM-1) e Antígeno Muito Tardio-4 (VLA-4) (ROITT; BROSTOFF; MALE, 2006).

A reação alérgica envolve, portanto, uma resposta imediata decorrente da desgranulação de mastócitos e uma resposta tardia, que ocorre dentro de quatro a doze horas após a exposição ao alérgeno, caracterizada pela migração de células inflamatórias, particularmente eosinófilos, para o local da reação alérgica. A infiltração de eosinófilos é característica marcante da asma e rinite alérgicas e têm participação importante no dano tissular que ocorre na resposta tardia. A desgranulação de eosinófilos ocasiona a liberação de Proteína Básica Principal (MBP), Proteína Catiônica Eosinofílica (ECP), Neurotoxina Derivada de Eosinófilos (EDN) e Peroxidase Eosinofílica (EPO), causando lesão tecidual. Além disso, os eosinófilos sintetizam e liberam mediadores como Fator Ativador de Plaquetas (PAF), leucotrienos, citocinas e quimiocinas (IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, TNF- α e GM-CSF, Proteína Inflamatória de Macrófagos [MIP]-1 α), e RANTES. A hiperreatividade nasal e brônquica é decorrente da inflamação crônica mediada, principalmente, por fatores inflamatórios liberados por eosinófilos e pela ação de citocinas (ROITT; BROSTOFF; MALE, 2006).

Portanto, a inflamação alérgica envolve a interação complexa entre diferentes células que liberam amplo espectro de mediadores, com múltiplos efeitos e sítios de ação. As modificações inflamatórias que ocorrem depois de repetidas exposições ao alérgeno produzem a remodelação do tecido nasal e brônquico. A hiperreatividade resultante acarreta a intensificação da resposta inflamatória e dos sintomas na reexposição aos estímulos alergênicos (IV DIRETRIZES BRASILEIRAS PARA O MANEJO DA ASMA, 2006; II CONSENSO BRASILEIRO SOBRE RINITES, 2006).

1.8 RELAÇÃO ENTRE ASMA ALÉRGICA E RINITE ALÉRGICA

Asma e rinite estão frequentemente associadas, sugerindo o conceito de “uma via respiratória, uma doença”, isto é, as vias respiratórias superiores e inferiores são unidas, de tal forma que a inflamação da via aérea superior pode influenciar na propagação da inflamação da via aérea inferior. Assim, deve-se tratar adequadamente episódios de rinite e asma, uma vez que a inflamação da mucosa nasal poderá repercutir na exacerbação dos sintomas da asma. Nesse sentido, estudos epidemiológicos têm demonstrado de modo consistente que asma e rinite frequentemente co-existem no mesmo paciente. Além disso, tem-se observado que a maioria dos pacientes com asma alérgica ou não alérgica tem rinite. Em adição, muitos pacientes com rinite têm um aumento da hiperreatividade brônquica não específica. Estudos de fisiopatologia sugerem uma forte relação entre rinite e asma. Deste modo, apesar das diferenças entre rinite e asma, parece que as vias aéreas superiores e inferiores são afetadas por um processo inflamatório comum, que pode ser mantido e amplificado por mecanismos inter-relacionados (BUSQUET *et al.*, 2001).

A verificação do processo inflamatório a nível molecular, ou seja, através das citocinas como a IL-5 e o IFN- γ em vias aéreas inferiores, através de amostras do escarro induzido dos pacientes com asma, e a comparação destes com o dos pacientes com rinite alérgica, pode demonstrar a presença de alguma atividade inflamatória a nível pulmonar em pacientes com quadro clínico de uma doença de vias aéreas superiores.

2 OBJETIVOS

- 1 Verificar os parâmetros espirométricos (CVF, VEF₁ e FEF_{25-75%}) nos pacientes participantes do estudo com asma alérgica ou rinite alérgica e indivíduos não-atópicos.
- 2 Determinar os níveis das citocinas IL-5 e IFN- γ no escarro induzido de pacientes com asma alérgica ou rinite alérgica e indivíduos não atópicos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo foi submetido e aprovado sem restrições junto ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) (**Anexos A e B**).

A concordância em participar da pesquisa foi confirmada pela assinatura de um Termo de Consentimento livre e esclarecido pós-informado (**Anexo C**) pelo indivíduo da pesquisa, de acordo com as normas da Resolução CNS 196/96. Neste termo de consentimento consta o nome da pesquisa, seu objetivo, os procedimentos a serem realizados, como coleta de escarro, espirometria e teste cutâneo de leitura imediata, bem como a possibilidade de saída do estudo sem necessidade de explicação prévia ou prejuízo ao atendimento atual ou futuro dos indivíduos da pesquisa.

Em seguida, os indivíduos responderam a uma breve ficha de identificação e a um questionário clínico elaborado pelo pesquisador (**Anexo D**) e foi feito Teste Cutâneo de Puntura (TCP) (**Anexo E**).

3.2 LOCAL DO ESTUDO

Os indivíduos participantes do estudo são moradores da cidade de Uberlândia, situada no sudeste do Brasil (longitude 48°W, latitude 18°S), na região conhecida como Triângulo Mineiro e distante 563 km de Belo Horizonte, capital do Estado de Minas Gerais. Com uma área territorial de 4.116 km² de extensão e população estimada de 570.042 habitantes (IBGE, 2004), Uberlândia

é uma cidade com clima do tipo tropical chuvoso que se caracteriza pelo inverno seco. A média anual da temperatura é de 22°C. Os meses de Outubro a Março são os mais quentes (24,7°C) e os mais frios são Junho e Julho (18,8°C) (IBGE, 2004).

Trata-se de um estudo observacional, analítico, transversal, realizado no Laboratório de Alergia e Imunologia Clínica, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia e no Laboratório de Função Pulmonar do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU), no período de maio a novembro de 2006.

3.3 CASUÍSTICA

Os pacientes foram selecionados através de busca no sistema de dados do Setor de Nosologia do HC-UFU, pacientes com diagnóstico de asma leve ou moderada, e de pacientes com rinite alérgica, num total de 80, seguindo-se busca telefônica solicitando a disponibilidade de participação no estudo. Destes, 24 pacientes com asma ou rinite alérgicas, aceitaram participar do estudo. Como critérios de inclusão, poderiam participar do estudo pacientes com diagnóstico clínico de asma leve ou moderada, não associada à rinite alérgica e aqueles com diagnóstico clínico de rinite alérgica persistente, não associada à asma, de ambos os sexos e com idade entre 18 e 60 anos, que apresentassem teste cutâneo de puntura positivo aos aeroalérgenos testados (IV DIRETRIZES BRASILEIRAS PARA O MANEJO DA ASMA, 2006; BOUSQUET *et al.*, 2001). Todos os pacientes apresentaram TCP positivo a pelo menos um dos alérgenos de ácaros, incluindo *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp), *Dermatophagoides farinae* (Df) e *Blomia tropicalis* (Bt), associados ou isoladamente.

Como controle, um grupo de nove indivíduos não atópicos, de ambos os sexos, com idade entre dezoito e sessenta anos (mediana de trinta anos), sem sintomas ou histórico clínico de doenças alérgicas e com TCP negativo a todos aeroalérgenos testados foi incluído no estudo. Os indivíduos foram selecionados, durante o mesmo período, entre visitantes e acompanhantes de pacientes do Laboratório de Função Pulmonar do HC-UFU, os quais já apresentavam cadastro prévio no HC-UFU.

Os critérios de exclusão para este estudo foram:

- 1 Indivíduos que tiveram infecção respiratória nos últimos 30 dias;
- 2 Indivíduos com insuficiência cardíaca, insuficiência respiratória aguda ou tuberculose pulmonar ativa e seqüela de tuberculose;
- 3 Indivíduos que tenham sofrido intervenção cirúrgica de tórax ou abdômen nos últimos 90 dias;
- 4 Indivíduos que apresentaram crise de broncoespasmo com necessidade de uso de corticóide oral nas últimas três semanas;
- 5 Pacientes em uso de corticóide inalado ou anti-leucotrienos nas últimas três semanas;
- 6 Pacientes em uso de anti-histamínicos na última semana;
- 7 Indivíduos com qualquer doença do aparelho respiratório, exceto rinite ou asma alérgica.
- 8 Presença de lesões dermatológicas na área de realização do teste cutâneo;
- 9 Mulheres grávidas ou em período puerpério de até seis meses;
- 10 Indivíduos com história de tabagismo presente ou passada nos últimos 10 anos;
- 11 Recusa em participar do estudo.

3.4 TESTE CUTÂNEO DE PUNTURA (TCP)

A hipersensibilidade imediata foi determinada por meio de TCP, utilizando diferentes extratos alergênicos, glicerinados e padronizados (IPI/ASAC, Brasil): ácaros da poeira domiciliar (*D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *B. tropicalis*), epitélios de cão (*Canis familiaris*) e de gato (*Felis domesticus*), baratas (*Blattella germânica* e *Periplaneta americana*) e fungo (*Cladosporium* spp), na concentração de 2mg/mL.

Após antissepsia da face interna do antebraço com álcool 70%, um volume de 10µL de cada extrato foi depositado a uma distância de três centímetros um do outro, realizando-se em seguida a puntura com auxílio de uma lanceta de metal estéril (Hollister-Stier Laboratories LLC, Spokane, EUA). Como controle positivo, foi utilizado cloridrato de histamina a 10mg/mL (Hollister-Stier Laboratories LLC) em solução salina fisiológica contendo glicerol a 50%, diluente que foi utilizado como controle negativo da reação (SQUILLACE *et al.*, 1997; OPPENHEIMER; NELSON, 2006).

Após quinze minutos da realização do teste, as pápulas resultantes de cada extrato alergênico bem como dos controles, foram medidas com uma régua graduada em milímetros nos seus dois diâmetros (o maior e o perpendicular a este). Um teste cutâneo positivo foi definido por uma pápula com diâmetro médio maior que três milímetros em relação ao controle negativo.

3.5 ESPIROMETRIA

Os testes espirométricos foram realizados no Laboratório de Função Pulmonar do HC-UFU, utilizando o equipamento multispiro SX/PC (Creative Biomedics Inc, San Clemente, EUA) e filtros para multispiro com bocais DMB 0008 (De Marchi, São Paulo, Brasil) individuais e descartáveis.

Os indivíduos foram instruídos a ficarem sentados sem se apoiarem no encosto da cadeira, segurar com as duas mãos o aparelho, manter vedação labial no bocal para então fazerem as manobras respiratórias necessárias. Foi medido o volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF₁) e a capacidade vital forçada (CVF). Em sequência, os indivíduos receberam 400mg de salbutamol (Aerolin Spray, Glaxo Smithkline, Aranda de Duero, Espanha), que é um broncodilatador beta2-agonista de curta duração, inalados através de um bocal, em 2 *puffs* de 200 microgramas. Após a inalação houve uma pausa de dez minutos para efeito da medicação e a CVF e o VEF₁ foram medidos para comparações dos volumes pré e pós-broncodilatador.

Todos os volumes foram analisados de forma automatizada, através de equações e valores previstos normais segundo Knudson/IMTS e, conferidas para o padrão nacional. Os valores do fluxo expiratório forçado entre 25% e 75% da CVF (FEF_{25-75%}) pré e pós-broncodilatador foram também obtidos bem como as variações (Δ) de cada parâmetro espirométrico (Δ CVF, Δ VEF₁ e Δ FEF_{25-75%}), que foram calculadas pela diferença entre os respectivos valores pós e pré-broncodilatador (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA, 2002).

3.6 INDUÇÃO DO ESCARRO

O escarro induzido foi obtido pelo método descrito por Pizzichini e colaboradores (1996). Todos os voluntários inalaram 400 microgramas (mg) de salbutamol (Glaxo Smithkline) previamente para prevenir broncoconstrição durante a indução. A indução foi feita usando-se um aerosol de solução salina hipertônica gerado por um nebulizador ultra-sônico (Respira Max Inalador Ultra-Sônico, NS Indústria de Aparelhos Médicos Ltda. São Paulo, Brasil), com taxa de nebulização de 1mL/min e tamanho das partículas de 0,5 a 10 μ m. A concentração de solução salina foi iniciada com 3% por sete minutos, podendo ser aumentada para 4% durante o mesmo período de tempo, quando necessário para obtenção da amostra de escarro.

Os voluntários foram então instruídos a lavarem suas bocas com água filtrada, engolir e soprar pelas narinas para reduzir a contaminação do escarro com saliva e gotículas pós-nasais, então uma tentativa de indução do escarro foi feita utilizando-se quatro manobras de expirações forçadas finalizando com tosse voluntária. As amostras de escarros foram coletadas em recipientes estéreis e transferidas para tubos de polipropileno estéreis de 15mL. Após a indução, o VEF₁ foi medido, por segurança, para detectar possível broncoespasmo induzido pela solução salina hipertônica.

3.6.1 Processamento do escarro

O processamento do escarro foi realizado de acordo com o procedimento descrito por Pizzichini e colaboradores (1996), com algumas modificações. O processo se iniciou o mais rápido possível, no mínimo 20 minutos e no máximo uma hora após a coleta. As amostras de escarros foram adicionadas de igual volume de solução salina tamponada com fosfatos 0,01M (PBS) pH 7,2 estéril e gelada, contendo 0,1% de ditioneitol (DTT 1% Sputolysin, Calbiochem Corp. San Diego, EUA), seguindo de homogeneizações por dez vezes com pipeta Pasteur e submetidas à agitação orbital por vinte minutos à temperatura ambiente. Em seguida, as amostras foram filtradas em malhas de nylon de 40µm (*Cell strainer*, BD Biosciences Discovery Labware, Bedford, EUA), transferidas para tubos tipo *ependorf* e centrifugadas a 900 x g por dez minutos a 4°C. O sobrenadante de cada amostra foi coletado e armazenado a -70°C para posterior análise de citocinas.

3.7 ELISA PARA DETECÇÃO DE CITOCINAS

Os sobrenadantes das amostras de escarro foram analisados para a detecção das citocinas IFN-γ e IL-5 pela técnica de ensaio imunoenzimático (ELISA) de duplo anticorpo tipo *sandwich*, segundo protocolo recomendado pelos fabricantes (R&D Systems, Minneapolis, EUA).

Microplacas de poliestireno de alta afinidade com 96 poços (Corning-Costar®, Laboratory

Sciences Company, New York, EUA), foram sensibilizadas (50µl/poço) com os respectivos anticorpos monoclonais de captura, anti-IFN- γ (4µg/mL) ou anti-IL-5 (2µg/mL), diluídos em PBS. As placas foram incubadas em câmara úmida por aproximadamente dezoito horas à temperatura ambiente.

Em seguida, as placas foram lavadas por três vezes com solução salina tamponada com fosfatos (PBS) contendo Tween 20 (Polyoxyethylene-sorbitan monolaurate – Sigma Chemical Co. St. Louis, EUA) a 0,05% (PBS-T), e subsequentemente bloqueadas (100µl/poço) com PBS adicionado de soroalbumina bovina (BSA – Sigma Chemical Co.) a 1% para IL-5 e com PBS + BSA a 1% acrescido de NaN₃ (azida sódica) para IFN- γ por uma hora em temperatura ambiente.

Após o bloqueio, as placas foram novamente lavadas (três vezes) com PBS-T e incubadas com os sobrenadantes do escarro induzido (50µl/poço) não diluídos, em duplicata. Paralelamente, foram realizadas curvas padrões com a respectiva citocina humana recombinante, em diluições duplas seriadas de 1500 a 2,9pg/mL para IL-5 em PBS + BSA 1% e de 1000 a 1,9pg/mL para IFN- γ em TBS 20mM + 0,05% de Tween + 0,1% de BSA.

Após incubação por duas horas à temperatura ambiente, as placas foram novamente lavadas por quatro vezes com PBS-T e incubadas com os respectivos anticorpos de detecção biotinilados: anti-IL-5 (22,5µg/mL) diluído em PBS+1% BSA e anti-IFN- γ (18µg/mL) diluído em TBS+20mM + 0,05% Tween+0,1% BSA acrescido de 2% de soro de cabra inativado a 56° C por trinta minutos, durante duas horas à temperatura ambiente.

Após novas lavagens como anteriormente descrito, foi adicionado o conjugado streptavidina-peroxidase (R&D Systems) na diluição 1:200 em PBS+BSA 1% para IL-5 e com TBS+0,05% Tween+0,1% BSA para IFN- γ e incubado por vinte minutos à temperatura ambiente no escuro.

Após o último ciclo de lavagens, as placas foram reveladas com a adição (50µL/poço) do substrato enzimático tetrametilbenzidina (TMB; Sigma Chemical Co.) diluído em tampão citrato-fosfato 0,1M, pH 4,5 e 0,03% de H₂O₂. Após vinte minutos de incubação, a reação foi interrompida pela adição (25µL) de ácido sulfúrico 2N. A densidade óptica (DO) foi determinada em leitor de ELISA (Titertek Multiskan Plus MKII, Flow Laboratories, McLean, EUA) utilizando filtros de 450nm. Os valores de DO obtidos foram convertidos em ng/mL de acordo com a curva padrão, utilizando-se o *software* Microplate Manager PC versão 4.0 (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, EUA).

Os limites inferiores de detecção das citocinas foram de 11,7pg/mL para IL-5 e 7,8pg/mL para IFN-γ. Valores encontrados abaixo do limite de detecção de cada ensaio foram extrapolados através da curva log-linear, realizada pelo Microplate Manager PC versão 4.0 (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, EUA).

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi utilizado o programa GraphPad Prism 4.0[®] (GraphPad Software, Inc.) para a análise estatística e confecção dos gráficos. Foram utilizados os testes paramétricos de análise de variância (ANOVA) e de comparação múltipla de Tukey ou, testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e de comparação múltipla de Dunn, quando apropriado, para a comparação entre as características demográficas e clínicas, valores espirométricos e níveis de citocinas nos diferentes grupos de pacientes. Para comparação entre proporções foi utilizado o teste exato de Fisher.

Todos os resultados foram considerados significantes para um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

3.9 NORMAS DE BIOSSEGURANÇA

Todos os procedimentos de coleta, manuseio de materiais biológicos e dos reagentes, bem como a utilização de equipamentos, foram realizados de acordo com as normas de biossegurança (CHAVES-BORGES; MINEO, 1997).

4 RESULTADOS

4.1 IDADE

A idade de todos os pacientes que participaram do estudo variou de vinte a sessenta anos, com média de 31,3 anos (desvio padrão = 10,6 anos). A média e o desvio padrão para cada grupo foram de $39,9 \pm 16,1$ anos nos pacientes com asma, de $27,7 \pm 6,9$ anos para os pacientes com rinite alérgica e de $30,2 \pm 5,8$ anos para os indivíduos não-atópicos. Houve diferença significativa na idade entre os grupos de pacientes com asma e rinite alérgicas pela análise de variância (ANOVA) e teste de comparação múltipla de Tukey ($p=0,0223$) (**Figura 2**).

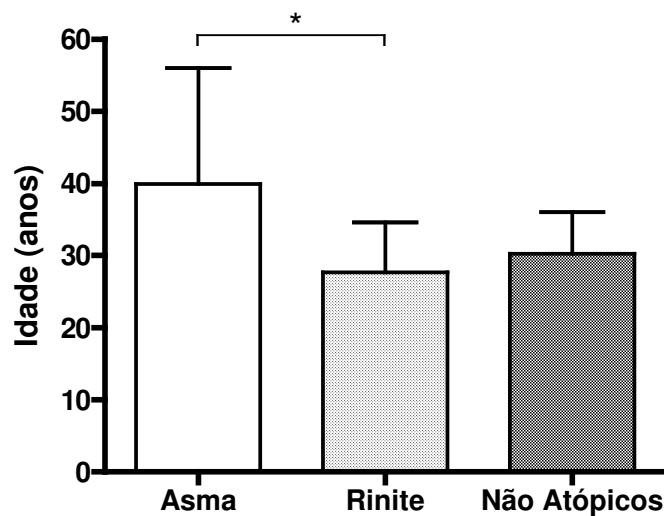


FIGURA 2: Idade dos pacientes com asma ou rinite alérgicas e indivíduos não-atópicos. As barras representam a média e o desvio padrão. Diferença estatística significativa está representada por * $p = 0,0223$.

4.2 SEXO

A distribuição por sexo no total entre os pacientes foi de dez (30,3%) para o sexo masculino e 23 (69,7%) para o sexo feminino ($p=0,0028$). Nos pacientes com asma, a distribuição foi de um (12,5%) para o sexo masculino e sete (87,5%) para o sexo feminino enquanto nos pacientes com rinite foi de cinco (31,2%) homens e onze (68,8%) mulheres. Nos indivíduos não-atópicos, a distribuição foi de quatro (44,4%) e cinco (55,6%) para os sexos masculino e feminino, respectivamente. Não houve diferença significativa entre os grupos em relação ao sexo pela análise do teste exato de Fisher ($p>0,05$) (**Figura 3**).

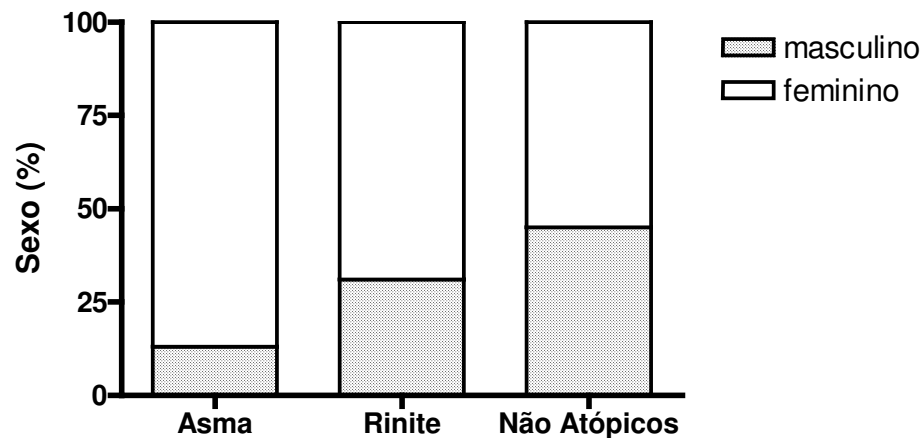


FIGURA 3: Distribuição por sexo dos pacientes com asma ou rinite alérgicas e dos indivíduos não-atópicos.

4.3 HISTÓRIA FAMILIAR DE ALERGIA

Dentre os pacientes que participaram do estudo, dez (30,3%) responderam ao quesito história familiar de alergia entre os pais. Por grupos estudados, a presença de história familiar foi verificada em três (37,5%) de oito pacientes com asma, seis (37,5%) de dezesseis pacientes com rinite e um (11,1%) de nove indivíduos não-atópicos. Não houve diferença significativa nesse quesito entre os três grupos analisados pelo teste exato de Fisher ($p > 0,05$). Entretanto, houve um número significativamente maior de indivíduos sem história familiar de alergia dentre os não-atópicos ($p = 0,0047$) (**Figura 4**).

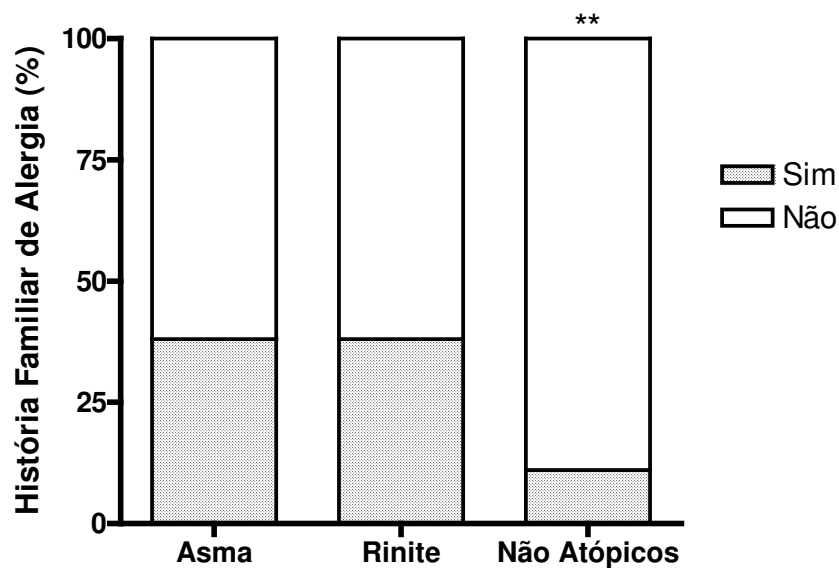


FIGURA 4: Distribuição da história familiar de alergia parental dos pacientes com asma ou rinite alérgicas e nos indivíduos não-atópicos. Diferença estatística significativa está representada por ** $p = 0,0047$.

4.4 TESTE CUTÂNEO DE PUNTURA

Todos os pacientes com asma apresentaram TCP positivo para pelo menos um dos ácaros da poeira domiciliar, sendo sete (87,5%) para dois ácaros e cinco (62,5%) para os três ácaros simultaneamente. No grupo de pacientes com rinite alérgica, todos apresentaram TCP positivo para pelo menos um dos ácaros de poeira domiciliar, quinze (93,7%) para dois ácaros, e onze (68,7%) para os três ácaros testados.

A frequência absoluta e relativa de TCP positivo aos ácaros, isoladamente, no grupo de pacientes com asma foi de sete (87,5%) para *D. pteronyssinus*, oito (100%) para *D. farinae* e cinco (62,5%) para *B. tropicalis*. No grupo de pacientes com rinite alérgica, dezesseis (100%) apresentaram TCP positivo para *D. pteronyssinus*, quinze (93,7%) para *D. farinae* e onze (68,7%) para *B. tropicalis*. Nenhuma diferença significativa foi encontrada na frequência de TCP positivo para ácaros entre os dois grupos de pacientes atópicos ($p>0,05$) (**Tabela 2**).

Para os demais aeroalérgenos analisados, foi observada uma nítida maior frequência de TCP positivo aos alérgenos de epitélio de cão no grupo de pacientes com rinite alérgica em relação aos pacientes com asma alérgica ($p=0,0324$) (**Tabela 2**).

O grupo de indivíduos não-atópicos, como critérios de inclusão previstos na metodologia, não apresentou reatividade cutânea a todos os extratos alergênicos analisados, com exceção da reatividade à histamina, demonstrando a efetividade do teste.

TABELA 2: Resultados do teste cutâneo de puntura aos diferentes extratos alergênicos analisados e histamina (controle positivo) nos pacientes com asma ou rinite alérgicas e nos indivíduos não-atópicos.

Extratos	Asma		Rinite		Não-atópicos	
	(n = 8)		(n = 16)		(n = 9)	
	Positivo ^a n (%)	Pápula ^b (mm)	Positivo ^a n (%)	Pápula ^b (mm)	Positivo ^a n (%)	Pápula ^b (mm)
<i>D. pteronyssinus</i>	7 (87)	9,77	16 (100)	10,00	0	0
<i>D. farinae</i>	8 (100)	7,37	15 (94)	7,63	0	0
<i>B. tropicalis</i>	5 (62)	5,90	11 (69)	7,63	0	0
Epitélio de cão	2 (25)	3,25	12 (75)*	4,08	0	0
Epitélio de gato	5 (62)	4,30	7 (44)	4,14	0	0
<i>Blattella germanica</i>	4 (50)	3,50	10 (62)	4,15	0	0
<i>Periplaneta americana</i>	2 (25)	4,00	3 (19)	3,66	0	0
<i>Cladosporium</i> spp.	0	0	1 (6)	3,00	0	0
Histamina	8 (100)	5,00	16 (100)	5,31	8 (100)	4,81

^a Positividade ao teste cutâneo de puntura foi determinada a partir do diâmetro médio da pápula e estabelecida como ≥ 3 mm em relação ao controle negativo da reação.

^b Diâmetro médio da pápula em milímetros.

p<0,05 na comparação entre os grupos de pacientes com asma e rinite alérgica como determinado pelo teste exato de Fisher.

* Diferença estatística significativa.

4.5 ESPIROMETRIA

Os testes espirométricos realizados nos indivíduos participantes do estudo forneceram dados sobre CVF, VEF₁, FEF_{25-75%} antes e após o uso do broncodilatador, bem como suas respectivas variações (Δ CVF, Δ VEF₁ e Δ FEF_{25-75%}). Os valores médios e respectivos intervalos de confiança de 95% destes parâmetros espirométricos analisados estão demonstrados na **Tabela 3**.

TABELA 3: Resultados da espirometria dos indivíduos do estudo.

	Grupos		
	Asma	Rinite	Não-atópicos
Pré-Broncodilatador (% média, IC 95%)			
CVF	92,6 (81,1–104,1)	96,9 (91,1–102,8)	93,3 (83,9–102,8)
VEF₁	73,7 (54,3–93,2)	93,7 (85,6–101,8)	92,3 (83,1–101,6)
FEF_{25-75%} *	49,0 (18,6–79,5) ^a	88,1 (71,2–105,0) ^b	86,8 (69,1–104,6) ^{a,b}
Pós-Broncodilatador (% média, IC 95%)			
CVF	91,5 (80,6–102,4)	97,1 (91,2–102,9)	94,5 (84,0–105,1)
VEF₁	78,4 (59,3–97,6)	95,5 (87,8–103,2)	93,2 (84,6–101,8)
FEF_{25-75%}	60,6 (27,8–93,3)	93,2 (78,3–108,1)	88,2 (73,8–102,6)
Variações Pré/Pós Broncodilatador (% média, IC 95%)			
ΔCVF	-0,72 (-7,21–5,78)	0,15 (-0,95–1,25)	1,14 (-1,08–3,57)
ΔVEF₁ *	7,43 (2,22–12,6) ^a	2,18 (0,23–4,12) ^{a,b}	1,06 (-0,73–2,85) ^b
ΔFEF_{25-75%}	20,18 (6,87–33,48)	8,21 (-0,51–16,93)	3,08 (-6,13–12,30)

^{a, b} Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas como determinado pelo teste de Kruskal –Wallis e teste de comparação múltipla de Dunn (* p<0,05).

4.6.1 Análise dos parâmetros espirométricos pré-broncodilatador

Os pacientes com asma alérgica apresentaram menores valores médios de CVF, VEF₁ e FEF_{25-75%} em relação aos outros grupos, embora esta diferença fosse significativa somente para o parâmetro FEF_{25-75%} entre pacientes com asma e rinite alérgicas ($p = 0,0363$), como determinado pelo teste de Kruskal-Wallis (**Figura 5**).

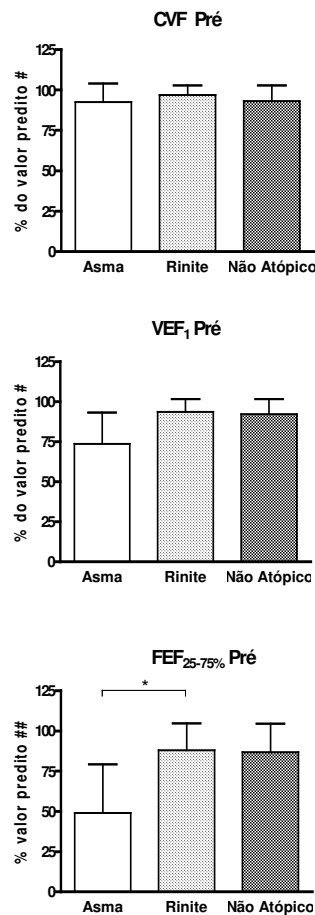


FIGURA 5: Porcentagem dos valores obtidos em relação aos valores preditos para a capacidade vital forçada (CVF), volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF₁) e fluxo expiratório forçado entre 25% e 75% da CVF (FEF_{25-75%}) obtidos pré-broncodilatador nos pacientes com asma ou rinite alérgicas e indivíduos não atópicos (# litros, ## litros/segundo) Diferença estatística significativa está representada por * $p = 0,0363$.

4.6.2 Análise dos parâmetros espirométricos pós-broncodilatador

Os pacientes com asma alérgica apresentaram menores valores médios de CVF, VEF₁ e FEF_{25-75%} em relação aos outros grupos, embora esta diferença não fosse significativa ($p>0,05$) como determinado pelo teste de Kruskal-Wallis (**Figura 6**).

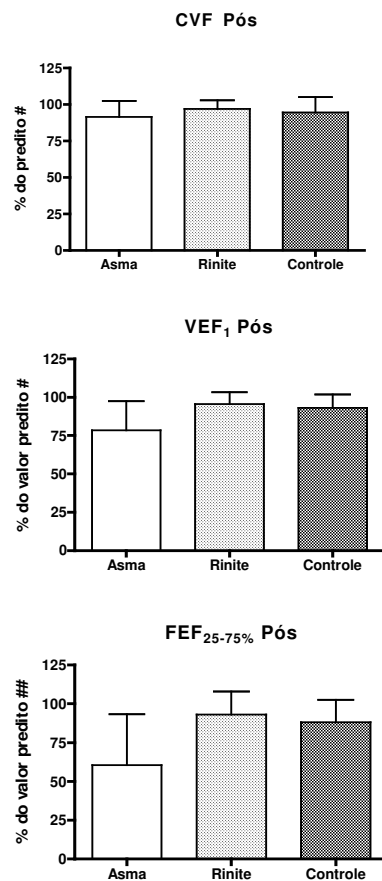


FIGURA 6: Porcentagem dos valores obtidos em relação aos valores preditos para a capacidade vital forçada (CVF), volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF₁) e fluxo expiratório forçado entre 25% e 75% da CVF (FEF_{25-75%}) obtidos pós-broncodilatador nos pacientes com asma ou rinite alérgicas e indivíduos não atópicos (# litros, ## litros/segundo).

4.6.3 Análise das variações dos parâmetros espirométricos pré e pós-broncodilatador

Na comparação entre as medidas das variações dos parâmetros espirométricos pré e pós-broncodilatador, houve diferença significativa somente para o VEF_1 que apresentou maiores variações nos pacientes com asma alérgica em relação aos indivíduos não-atópicos ($p=0,0135$), como determinado pelo teste de Kruskal-Wallis e comparação múltipla de Dunn (**Figura 7**).

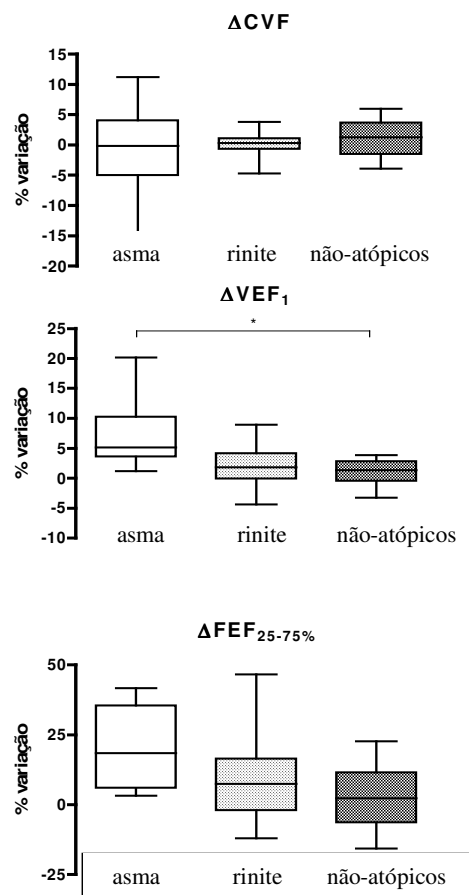


FIGURA 7: Porcentagem dos valores obtidos em relação aos valores preditos para as variações da capacidade vital forçada (ΔCVF), volume expiratório forçado no primeiro segundo (ΔVEF_1) e fluxo expiratório forçado entre 25% e 75% da CVF ($\Delta FEF_{25-75\%}$) obtidos nos pacientes com asma ou rinite alérgicas e indivíduos não atópicos. (# litros, ## litros/segundo). Diferença estatística significativa está representada por * $p = 0,0135$.

4.7 DOSAGEM DE IFN- γ NO ESCARRO INDUZIDO

A análise da citocina IFN- γ no escarro induzido não mostrou diferenças significantes nos níveis encontrados em amostras de pacientes com asma alérgica (mediana=4,31pg/mL; quartis 25-75%=4,12-4,77pg/mL) ou rinite alérgica (mediana=4,74 pg/mL; quartis 25-75%=4,35-5,22pg/mL), como também no grupo de indivíduos não-atópicos (mediana=4,53pg/ml; quartis 25-75%=4,12-5,76pg/mL), determinado pelo teste de Kruskal-Wallis ($p>0,05$) (**Figura 8**).

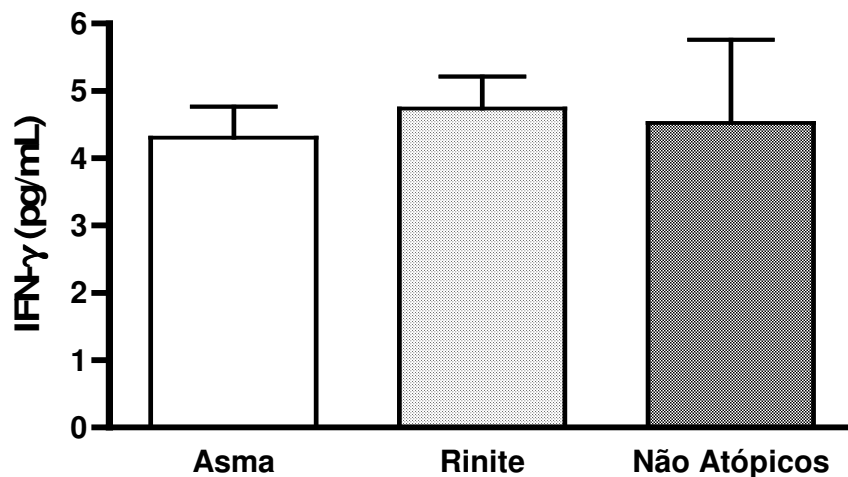


FIGURA 8: Níveis de IFN- γ (pg/mL) no escarro induzido de pacientes com asma ou rinite alérgicas e de indivíduos não atópicos. As barras representam a mediana e os quartis 25-75%.

4.8 DOSAGEM DE IL-5 NO ESCARRO INDUZIDO

Os níveis de IL-5 detectados nas amostras de escarro induzido de pacientes com asma alérgica foram significativamente maiores (mediana=14,57pg/mL; quartis 25-75%=14,36-15,48pg/mL) quando comparado ao grupo de indivíduos não-atópicos (mediana=13,92pg/mL; quartis 25-75%=13,27-14,20pg/mL) ($p=0,0207$).

De forma similar, os níveis de IL-5 no escarro induzido de pacientes com rinite alérgica (mediana=14,61pg/mL; quartis 25-75%=13,78-16,45pg/mL) também foram significativamente maiores que aqueles encontrados nos indivíduos não-atópicos ($p=0,0321$). Entretanto, nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os grupos de pacientes atópicos com asma e rinite alérgicas ($p=0,5607$) (**Figura 9**).

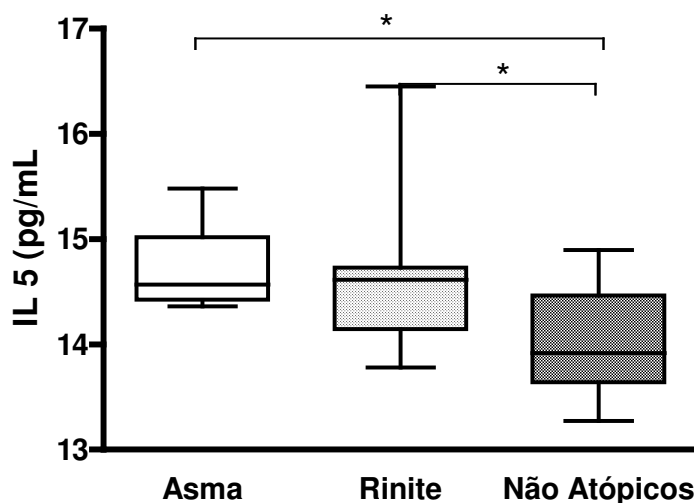


FIGURA 9: Níveis de IL-5 (pg/mL) no escarro induzido de pacientes com asma ou rinite alérgicas e de indivíduos não-atópicos. Os dados são representados em *box-plot* com mediana (linha horizontal dentro de cada box) e quartis 25-75%. Significância estatística foi determinada pelo teste de Kruskal-Wallis (* $p<0,05$).

5 DISCUSSÃO

Asma alérgica e rinite alérgica são doenças desencadeadas por reações de hipersensibilidade imediata mediada por anticorpos IgE frente a um estímulo alergênico. Ambas ocorrem nas vias aéreas, sendo que a asma acomete a via aérea inferior enquanto a rinite acomete a via aérea superior. O presente estudo verificou que os pacientes com asma eram significativamente de maior idade que os com RA e não-atópicos. Em concordância com a literatura, entre os não-atópicos houve menor frequência de história familiar (LIERL, 1995).

Em estudo realizado por Sibbald, 1991, verificou-se que a rinite estava presente na maioria dos pacientes com asma, e uma significativa minoria de pacientes com rinite apresentava concomitantemente asma. A associação entre asma e rinite alérgica tem sido demonstrada em adultos com história familiar de asma ou rinite. Estes têm, de três a quatro vezes maior risco para desenvolvimento de asma, e, de duas a seis vezes maior risco para desenvolvimento de rinite alérgica, comparados com adultos sem história familiar (Lundback *et al.*, 1998).

Leynaert e colaboradores (1999), realizaram um estudo epidemiológico no qual a rinite foi encontrada em 80% dos pacientes com asma. Em outro estudo pelos mesmos pesquisadores com 1.245 indivíduos com diagnóstico de asma, 24% apresentaram rinite sazonal, 06% rinite alérgica perene e em 22% dos indivíduos as duas manifestações estavam presentes.

Bousquet; Van Cauwenberge; Khaltsev (2001) relataram que asma e rinite são comorbidades interligadas sugerindo o conceito de “uma via aérea, uma doença”. Ainda para estes autores, a rinite é fator de risco para o desenvolvimento da asma e pode estar associada com um pior controle da doença. Pacientes com rinite persistente podem apresentar algum sintoma de asma e pacientes com asma podem apresentar sintomas de rinite.

Segundo Togias (2003) em um estudo longitudinal foi constatado que a maioria dos pacientes com asma apresenta quadro de rinite associada, fazendo da rinite um fator de risco para o desenvolvimento da asma. A presença das duas manifestações em um indivíduo acometendo a

parte superior e inferior das vias aéreas caracteriza a “síndrome da alergia respiratória crônica”. O sucesso do tratamento da síndrome da alergia respiratória crônica requer a visão da união das vias aéreas e um entendimento das suas interrelações.

O presente estudo realizou a análise dos parâmetros espirométricos dos pacientes tentando verificar a presença de alterações na prova de função pulmonar de pacientes com rinite alérgica e compará-las às já conhecidas alterações dos asmáticos e aos indivíduos não-atópicos. Essa avaliação não revelou diferenças significativas entre os três grupos, embora uma tendência para menores valores de $FEF_{25-75\%}$ pré-broncodilatador foi observada nos pacientes asmáticos. Do mesmo modo, a comparação das variações pré e pós-broncodilatadores, demonstrou uma variação significativa para o VEF_1 que foi maior no grupo de asmáticos em relação aos pacientes com RA e não-atópicos.

Em dois recentes estudos de broncoprovocação com metacolina de um mesmo grupo de pesquisadores (CIPRANDI *et al.*, 2006; MARSEGLIA *et al.*, 2007), foram observadas alterações nos valores de $FEF_{25-75\%}$ em indivíduos com asma e naqueles com RA isolada em relação aos controles normais, diferente do encontrado no presente estudo, possivelmente devido aos pacientes estarem em período de intercrise.

Como ponto fundamental deste estudo, foi verificada a presença da citocina IL-5 em amostras de escarro induzido em níveis significantemente superiores em pacientes com diagnóstico de asma alérgica e de rinite alérgica em relação aos indivíduos não-atópicos enquanto os níveis de $IFN-\gamma$ não diferiram entre esses três grupos. Em adição, os pacientes participantes desse protocolo com diagnóstico de asma não apresentavam manifestações nasais enquanto os pacientes com rinite não apresentavam sintomas clínicos característicos de asma. Neste contexto, o aumento dos níveis de IL-5 no escarro induzido dos pacientes com asma está presente,

independente da gravidade da doença, sendo encontrada inclusive nos pacientes com asma leve intermitente (KUMAR, 2001; VIGNOLA *et al.*, 1998; HARGREAVE, 2007), porém este dado era desconhecido em indivíduos com rinite alérgica. Assim, neste estudo verificou-se, pela primeira vez, que pacientes com rinite alérgica mesmo sem asma associada apresentam níveis elevados de IL-5 no escarro induzido, indicando que além do processo inflamatório em mucosa nasal, parece estar acometendo a mucosa das vias aéreas inferiores. Além disso, neste estudo foi verificado que os níveis de IL-5 no escarro induzido de pacientes com RA eram similares aos dos pacientes com asma. Esse achado demonstra uma similaridade no perfil de citocinas Th2 no pulmão de indivíduos com RA isolada e dos pacientes com asma. Dessa forma, estes dados vêm reforçar a existência de um sistema interligado entre as vias aéreas superiores e inferiores em inflamações alérgicas mediadas por citocinas como a IL-5.

Outros autores realizaram estudos para tentar identificar a reatividade pulmonar dos indivíduos com RA isolada. Alvarez e colaboradores (2000a; 2000b), avaliaram, em 2 estudos, pacientes com asma moderada persistente, pacientes com rinite alérgica e controles saudáveis, submetendo-os a provocação inalatória com extratos de *D. pteronyssinus* ou com metacolina. Para tanto, verificaram os níveis de triptase, albumina, ECP, IL-5 e a contagem de eosinófilos no escarro antes da broncoprovocação e após 24 horas. Os níveis de ECP e contagem de eosinófilos (ambos sugestivos de resposta Th2) foram mais altos nos grupos de asma e rinite em comparação com os controles pré-broncoprovocação, e, após broncoprovocação a ECP aumentou seus níveis no grupo de asma em relação à rinite.

Em outro estudo, com indivíduos com asma alérgica e rinite alérgica sem sintomas de asma foi estudado no escarro a contagem de eosinófilos e os níveis de ECP, IL-8 e MPO, além da avaliação de eosinófilos no sangue periférico e IL-5 no soro. Ambos os grupos apresentaram aumento no número de eosinófilos e ECP no escarro pré e pós-broncoprovocação, mas não houve

diferença entre eles nos dois momentos. Também não houve diferença nos níveis de IL-5 e de eosinófilos nas amostras de sangue, correspondente ao escarro (LOPUHAA *et al.*, 2002).

Mais recentemente, um estudo verificou IL-5, ECP, sICAM e IL-10 no escarro, antes e após 24 horas de provocação nasal com alérgenos, em pacientes com rinite sem manifestações de asma e, quatro semanas após, provocação com placebo no mesmo grupo. Foi encontrado aumento na ECP, sICAM e decréscimo da IL-10 no escarro comparando a provocação com alérgenos e placebo. Esse estudo também não conseguiu detectar IL-5 no escarro (BEEH *et al.*, 2003).

A não detecção de IL-5 no escarro de pacientes com RA em diversos estudos pode ter diversas causas, principalmente o uso de concentração de DTT mais elevada, uso do vórtex para homogeneização, centrifugação não refrigerada e temperatura da estocagem. O presente protocolo foi adaptado para tentar minimizar os prováveis fatores de degradação de citocinas, visando sua preservação para o momento do teste.

Em relação à dosagem de IFN- γ , no presente estudo mostrou-se menores níveis no grupo de asma, mas não foram significativamente diferentes com os grupos de rinite a não-atópicos. Em um recente estudo que verificou nível de IFN- γ em indivíduos com asma ocupacional, rinite ocupacional e controles saudáveis, foi verificada a redução de IFN- γ nos grupos de asma e rinite comparado com controles (MAMESSIER *et al.*, 2007).

Embora os pacientes com RA não apresentassem manifestações broncopulmonares nem sintomas clínicos característicos de asma, a presença de níveis de IL-5 nas amostras analisadas, similares aos encontrados em pacientes asmáticos, poderia ser um importante fator de positividade de diagnóstico precoce de asma alérgica subclínica nestes indivíduos. Este dado vem sustentar o papel da resposta imune Th2 em vias aéreas inferiores que poderiam contribuir para o

desenvolvimento de asma em pacientes com RA, reforçando o conceito da via aérea unida.

A capacidade de produção de IFN- γ e IL-5 detectadas em amostras de escarro de pacientes com asma ou rinite alérgica vem denotar que existe uma exacerbação da resposta do tipo Th2, sem, no entanto, estar comprometida a resposta do tipo Th1. Assim, foi possível visualizar um desequilíbrio do eixo da resposta Th1-Th2, o qual pode ser resultante da falha do desenvolvimento de células T regulatórias mais do que a incapacidade de ativação das células Th1, como proposto por Akdis (2006).

Os dados deste estudo permitem concluir que as alterações espirométricas encontradas não foram capazes de prever a ocorrência de broncoconstrição nos pacientes com RA, mas os níveis predominantes de IL-5 sobre IFN- γ no escarro induzido destes pacientes reforçam o papel da resposta imune Th2 em vias aéreas inferiores. A ampliação dos dados encontrados neste estudo será necessária para confirmar os achados e a interrelação entre asma e rinite alérgicas.

6 CONCLUSÕES

- 1 Os valores espirométricos demonstraram menor valor de $FEF_{25-75\%}$ pré-broncodilatador e maior variabilidade pré/pós broncodilatador de VEF_1 no grupo de pacientes com asma em relação aos pacientes com rinite alérgica e indivíduos não-atópicos.
- 2 Não houve diferença significativa nos níveis de $IFN-\gamma$ no escarro induzido entre os grupos asma, rinite e não-atópicos.
- 3 Os níveis de IL-5 foram significativamente maiores no escarro induzido de pacientes com asma e rinite alérgica comparados aos não-atópicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H. **Imunologia celular e molecular** 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. 596 p.

AKDIS, M. Healthy immune response to allergens; t regulatory cells and more. **Current Opinion in Immunology**, Oct. 2006. n. 18, 738-744 p.

ALVAREZ, M.J.; OLAGUIBEL, J.M.; GARCÍA, B.E.; RODRÍGUEZ, A.; TABAR, A.I.; URBIOLOA, E. Airway inflammation in asthma and perennial allergic rhinitis. Relationship with nonspecific bronchial responsiveness and maximal airway narrowing. **Allergy**, Pamplona, v.55, n.4, p. 355–362, Apr. 2000.

ALVAREZ, M.J.; OLAGUIBEL, J.M.; GARCÍA, B.E.; RODRÍGUEZ, A.; TABAR, A.I.; URBIOLOA, E. Comparison of allergen-induced changes in bronchial hyperresponsiveness and airway inflammation between mildly allergic asthma patients and allergic rhinitis patients. **Allergy**, Espanha, v. 55, n.6, p. 531-539, Jun. 2000.

BEEH, K.M.; BEIER, J.; KORNMAN, O.; MEIER, C.; TAEUMER, T.; BUHL, R. A single nasal allergen challenge increases induced sputum inflammatory markers in non-asthmatic subjects with seasonal allergic rhinitis: correlation with plasma interleukin-5. **Clinical and Experimental Allergy**, Mainz, v. 33, n.4, p. 475-482, Apr. 2003.

BLAISS, M.S. Quality of life in allergic rhinitis. **Ann Allergy Asthma Immunol**, Memphis, v. 83, n.5, p. 449-454, Nov. 1999.

BOUSQUET, J.; VAN CAUWENBERGE, P.; KHALTAEV, N.; ÁRIA WORKSHOP GROUP; WORLD HEALTH ORGANIZATION. Allergic rhinitis and its impact on asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, Montpellier, v. 108, p. 147-334, 2001. Supplmentum 5.

BUSSE, W.W.; LEMANSKE, R.F.Jr. Asthma. **N Engl Journal Med**, 344, n. 5, p. 350-362, Feb. 2001. Comment in: **N Engl J Med**, v. 344, n. 21, p. 1643-1644, May 2001.

CHAVES-BORGES, F. A.; MINEO, J. R. **Medidas de biossegurança em laboratório**. EDUFU, Uberlândia, 55p., 1997.

CIPRANDI, G.; CIRILLO, I.; KLERSY, C.; MARSEGLIA, GL.; VIZZACCARO, A; PALLESTRINI, E.; TOSCA, M. Role of FEF25-75 as an early marker of bronchial impairment in patients with seasonal allergic rhinitis. **American Journal Rhinol**, Genoa, v. 20, n.6, p. 641-647, Nov 2006.

DATASUS. Brasília: Sistema Único de Saúde. Disponível em:

<http://w3.datasus.gov.br/datasus/datasus.php?area=361A3B372C2D613E4F361G76H0I1Jd7L47M0N&VInclude=../site/din_sist.php&VSis=1&VCoit=613&VAba=0>.

Acesso em: 15/abril/2007.

EGGLESTON, P.A. et al. Relationship of indoor allergen exposure to skin test sensitivity in inner-city children with asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, Baltimore, v. 102, n.4, p. 563-570, Oct. 1998.

GINA - Global Initiative for Asthma guidelines on asthma and beyond. **Classify Asthma Severity**, p. 9, 2005.

HARGREAVE, F.E. Quantitative sputum cell counts as a marker of airway inflammation in clinical practice. **Curr Opin Allergy Clin Immunol**, Ontário, v. 7, n. 1, p. 102-106, Feb. 2007.

HELLINGS, P.W.; FOKKENS, W.J. Allergic rhinitis and its impact on otorhinolaryngology. **Allergy**, Leuven, v. 61, n. 6, p. 653-664, Jun. 2006.

HOLGATE, S.T.; DJUKNOVIC, R. **An Atlas of asthma**. New York: Parthenon Publishing. 1999.

II CONSENSO BRASILEIRO SOBRE RINITES. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, São Paulo, v.29, n. 1, p. 29-58, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE) 2004. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat>>. Acesso em: 12 jan. 2007.

IV DIRETRIZES BRASILEIRAS PARA O MANEJO DA ASMA. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, São Paulo, v. 29, n. 5, p. 222, 2006.

JANEWAY, Charles A. et al. **Imunobiologia**: o sistema imune na saúde e na doença. Tradução de Cristina Bonorino et al. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002. 767 p.

JOHANSSON, S.G. et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, Stockholm, v. 113, n. 5, p. 832-836, May 2004.

KUMAR, RK. Understanding airway wall remodeling in asthma: a basis for improvement in therapy? **Pharmacol Ther**, Sydney, v. 91, n. 2, p. 93-104, Aug. 2001.

LEYNAERT, B.; BOUSQUET, J.; NEUKIRCH, C.; LIARD, R.; NEUKIRCH, F. Perennial rhinitis: An independent risk factor for asthma in nonatopic subjects: results from the European Community Respiratory Health Survey. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, Paris, v. 104, n.2, p. 301-304, Aug. 1999.

LIERL, M.B. **Allergy of upper respiratory tract**. Manual of Alergy and Immunology, 3. ed. Boston: Little, Brown and Company,. 1995. 94-102 p.

LOPUHAA, C.E.; OUT, T.A.; JANSEN, H.M.; AALBERSE, R.C.; VAN DER ZEE, J.S. Allergen-induced bronchial inflammation in house dust mite-allergic patients with or without asthma. **Clinical and Experimental Allergy**, Amsterdam, v. 32, n. 12, p. 1720-1727, Dec. 2002.

LUNDBACK, B. Epidemiology of rhinitis and asthma. **Clinical and Experimental Allergy**, Sweden, v. 28, p. 3-10, Jun. 1998. Supplmentum 2.

MAMESSIER, E. MILHE F, GUILLOT C, BIRNHAUM J, DUPUY P, LOREC AM, VERVLOET D, MAGNAN A. T-cell activation in occupational asthma and rhinitis. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, Marceille, v.62, n.2, p. 162-9, feb. 2007.

MARSEGLIA, G.L. et al. Role of forced expiratory flow at 25-75% as an early marker of small airways impairment in subjects with allergic rhinitis. **Allergy Asthma Proc**, Italy, v. 28, n. 1, p. 74-78, Jan./Feb. 2007.

MELTZER, E.O. Quality of life in adults and children with allergic rhinitis. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, San Diego, v. 108, p. 45-53, Jul. 2001. Supplmentum 1.

OPPENHEIMER, J.; NELSON, H.S. Skin Testing. **Ann Allergy Asthma Immunol**, v. 96, n. 2, p. 6-12, Feb. 2006. Supplementum 1.

PEARCE, N. et al. Comparison of asthma prevalence in the ISAAC and the ECRHS. ISAAC Steering Committee and the European Community Respiratory Health Survey. International Study of Asthma and Allergies in Childhood. **The European Respiratory Journal**, New Zealand v. 16, n. 3, p. 420-426, Sep. 2000.

PIZZICHINI, E. et al. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, Ontario, v. 154, n. 2 Pt 1, p. 308-317, Aug. 1996.

PLATTS-MILLS, T.A. et al. The role of intervention in established allergy: avoidance of indoor allergens in the treatment of chronic allergic disease. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, Charlottesville, v. 106, n. 5, p. 787-804, Nov. 2000.

ROITT, I.; BROSTOFF, J.; MALE D. **Imunologia**. Tradução: Ida Cristina Gubert. 6. ed. São Paulo: Manole, 2006. 500 p.

RULLO, V.E. et al. Daycare centers and schools as sources of exposure to mites, cockroach, and endotoxin in the city of São Paulo, Brazil. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, Ribeirão Preto, v. 110, n. 4, p. 582-588, Oct. 2002.

SANDFORD, A.J. et al. Polymorphisms in the IL-4, IL4RA, and FCER1B genes and asthma severity. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, Columbia, v. 106, n. 1 Pt 1, p. 135-140, Jul. 2000.

SETTIPANE, R.J.; HAGY, G.W.; SETTIPANE, G.A. Long-term risk factors for developing asthma and allergic rhinitis: a 23-year follow-up study of college students. **Allergy Proceedings**, Providence, v. 15, n. 1, p. 21-25, Jan./Feb. 1994.

SKONER, D.P. Allergic rhinitis: definition, epidemiology, pathophysiology, detection, and diagnosis. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, Pittsburgh, v. 108, p. s2-s8, Jul. 2001. Supplementum 1.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA. Diretrizes para testes de função pulmonar. **Jornal de Pneumologia**, São Paulo, v. 28, p. 1-221, 2002.

SOLÉ, D. et al. Prevalence of rhinitis and related-symptoms in schoolchildren from different cities in Brazil. **Allergol Immunopathol**, Madri, v. 32, n. 1, p. 7-12, Jan./Feb. 2004.

SOLÉ, D.; WANDALSEN, G. F.; CAMELO-NUNES, I.C.; NASPITZ, C. K.; ISAAC – Grupo Brasileiro. Prevalence of symptoms of asthma, rhinitis, and atopic eczema among Brazilian children and adolescents identified by International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISSAC) – Fase 3. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 5, p. 341-346, 2006.

SQUILLACE, S.P. et al. Sensitization to dust mites as a dominant risk factor for asthma among adolescents living in central Virginia. Multiple regression analysis of a population-based study. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, Charlottesville, v. 156, n. 6, p. 1760-1764, Dec. 1997.

TERR, A.I. Mechanisms of hypersensitivity. In: STITES, D.P.; TERR, A.I.; PARSLow, T.G. **Medical Immunology**. 9.ed. Stamford: Appleton & Lange, 1997a. p.376-388.

TERR, A.I.; PARSLow, T.G.; STITES, D.P. **The atopic diseases**. **Medical Immunology**. 9.ed. Stamford: Appleton & Lange, 1997b. p.389-408.

THE INTERNATIONAL STUDY OF ASTHMA AND ALLERGICS IN CHILDHOOD (ISAAC) STEERING COMMITTEE. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. **Lancet**; v. 351, n. 9111, p. 1225-1232, Apr. 1998.

TOGIAS, A. Rhinitis and asthma: evidence for respiratory system integration. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, Baltimore, v. 111, n. 6, p. 1171-1183, Jun. 2003.

VAN HAGE-HAMSTEN, M.; VALENTA, R. Specific immunotherapy--the induction of new IgE-specificities? **Allergy**, v. 57, n. 5, p. 375-378, May 2002. Comment in: **Allergy**, v. 57, n. 5, p. 423-430, May 2002.

VIGNOLA, A.M. et al. Airway inflammation in mild intermittent and in persistent asthma. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, Montpellier, v. 157, n. 2, p. 403-409, Feb. 1998.

VON PIRQUET, C. **C Allergie**, Munch Med Wschr, v. 30, p. 1457, 1906.

WOOLCOCK, A. J. The busben of asthma. **American Concrete Institute Supplement**, Michigan, v. 1, p. 53-56, 2000.

ANEXOS

ANEXO A



Universidade Federal de Uberlândia
 Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP
 Av. João Naves de Ávila, nº 2160 - Bloco J - Campus Santa Mônica - Uberlândia-MG –
 CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4131

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA Nº 247/05

Registro CEP: 182/04

Projeto Pesquisa: *“Avaliação da função pulmonar e níveis de IL-5 e IFN-γ no escarro induzido de pacientes com asma sob manobras fisioterápicas”*

Pesquisador Responsável: Ernesto Akio Taketomi

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, o CEP manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Projeto aprovado

Uberlândia, 06 de setembro de 2005.

Profa. Dra. Sandra Terezinha de Farias Furtado
 Coordenadora do CEP/UFU

Orientações ao pesquisador:

(Para parecer Aprovado ou Aprovado com Recomendações)

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 - Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item III.2.e). O prazo para entrega de relatório é de 120 dias após o término da execução prevista no cronograma do projeto, conforme norma da Res. 196/96 CNS.

ANEXO B



Universidade Federal de Uberlândia
 Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP
 Av. João Naves de Ávila, nº 2160 - Bloco J - Campus Santa Mônica - Uberlândia-MG -
 CEP 38400-089 - FONE/FAX (034) 239-4131

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA Nº 255/04

Registro CEP: 182/04

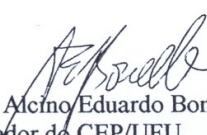
Projeto Pesquisa: *“Avaliação da função pulmonar e níveis de IL-5 e IFN-γ no escarro induzido de pacientes com asma sob manobras fisioterápicas”.*

Pesquisador Responsável: Ernesto Akio Taketomi

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, o CEP manifesta-se pela aprovação, do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Projeto aprovado.

Uberlândia, 05 de novembro de 2004.


 Prof. Dr. Alcino Eduardo Bonella
 Coordenador do CEP/UFU

Orientações ao pesquisador:

(Para parecer Aprovado ou Aprovado com Recomendações)

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 - Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item III.2.e). O prazo para entrega de relatório é de 120 dias após o término da execução prevista no cronograma do projeto, conforme norma da Res. 196/96 CNS.

ANEXO C



Universidade Federal de Uberlândia
Instituto de Ciências Biomédicas
Unidade de Pesquisa em Alergia e Imunologia Clínica
Campus Umuarama - Bloco 4C - Uberlândia - MG - Brasil - 38.400-902
Telefone: 034-3218-2195 - TELEFAX: 034-3218-2333

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMADO

Eu, _____, concordo em participar do projeto de pesquisa intitulado: "Avaliação da Função Pulmonar e Níveis de IL-5 e IFN γ em Pacientes com Asma alérgica, rinite alérgica e controles" a ser realizado no ambulatório de alergia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia -UFU. O referido projeto tem como objetivo verificar os níveis das citocinas IL-5 e INF- γ no escarro induzido de pacientes com asma alérgica, rinite alérgica e controles. Um total de 60 pacientes serão dividido de forma randomizada em três grupos: asma alérgica, rinite alérgica e controle. O escarro será coletado através de nebulização de solução salina hipertônica, o teste espirométrico será realizado no ambulatório de alergia do Hospital de Clínicas de Uberlândia, todos os procedimentos serão acompanhados por um médico e um fisioterapeuta responsáveis. Este projeto é desenvolvido pelo Professor e Pesquisador Dr. Ernesto Akio Taketomi, chefe da disciplina de Imunologia da Universidade Federal de Uberlândia.

Estou ciente dos seguintes procedimentos que serão realizados durante o experimento clínico: Realização de exame de teste cutâneo com alérgenos inalantes, 2 Necessidade de coleta de sangue, 3 Coleta de escarro induzido, 4 teste espirométrico.

Terei a garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida a cerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a investigação. Terei a liberdade de me retirar do estudo a qualquer momento em que desejar sem necessidade de explicações. Caso haja desistência, não receberei repesália por parte dos pesquisadores e nem serei prejudicado em meu atendimento na instituição.

Será respeitado o caráter confidencial das informações fornecidas, não sendo permitida a minha identificação. Os resultados do estudo serão apresentados em reuniões e revistas científicas.

Uberlândia, _____ de _____ de 200 ____.

Assinatura do paciente ou responsável legal

Responsáveis pela pesquisa:

Sheila Mara Gonçalves Marra

Rua: Irmã Adalgisa, 68 B. São Vicente. Patrocínio, MG. Tel.: (034)3832-4384

Dr. Ernesto A Taketomi, Dr. Gesmar R. Silva Segundo e Dra. Deise A O Silva

Avenida Pará, 1720 Bloco 4C, Campus Umuarama

Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG

Tel.(034)3218-2195/ Telefax (034)3218-23333

Comissão de Ética em Pesquisa Av. João Naves de Ávila, 2160 - Bloco IJ, Campus Santa Mônica Uberlândia - MG
 CEP 38.400-902 · Fone/Fax: (34) 3239 - 4334

ANEXO D**QUESTIONÁRIO DE IDENTIFICAÇÃO**

Nome: _____

Idade: _____

Endereço: _____

Telefone: _____

Peso: _____

Altura: _____

Você tem diagnóstico de rinite alérgica?

() sim () não

Você tem diagnóstico de asma alérgica?

() sim () não

Você tem diagnóstico de DPOC?

() sim () não

Você tem alguma outra alteração no sistema respiratório?

() sim. Qual? _____

() não

Fuma?

() sim

Há quanto tempo? _____

() não

Você tem pais alérgicos?

() sim () pai () mãe

() não

Há casos de doenças alérgicas na família?

Quando você teve a última crise? _____

Quantas crises você tem por mês? _____

Você usa medicação inalatória para asma e/ou rinite?

() sim. Qual? _____ Com que frequência? _____

() não

Você usa medicação oral ou injetável para asma e/ou rinite?

() sim. Qual? _____ Com que frequência? _____

Quando você levou a última medicação? _____

Você tem doenças de coração?

() sim. Qual? _____

() não

Onde você trabalha? _____

Há pó em seu ambiente de trabalho? _____

Quantas horas é exposto você por um dia? _____

Como você está agora em relação a rhinitis/asthma?

() Ótimo, nenhum sintoma.

() Bom, com pouco desconforto.

() Ruim, em crise.

Data: ____/____/____

Hora: ____:____

Responsável pelo questionário: _____

ANEXO E



Universidade Federal de Uberlândia
 Instituto de Ciências Biomédicas
 Unidade de Pesquisa em Alergia e Imunologia Clínica
 Av. Pará, 1720, Campus Umuarama - Bloco 4C
 Uberlândia, MG - Brasil - 38.400-902
 Telefone: (34) 3218-2195 - TELEFAX: (34) 3218-2333

Teste Cutâneo de Punctura

Data: ____/____/____

Nome: _____

Data de Nascimento: ____/____/____

Endereço: _____

Telefone: _____

Antígeno	Pápula	Eritema
Der p (2)		
Der f (4)		
Blo t (6)		
Cão (3)		
Gato (5)		

Antígeno	Pápula	Eritema
<i>Periplaneta sp.</i> (8)		
<i>B. germanica</i> (7)		
<i>A. alternata</i> (9)		
Controle (1)		
Histamina (10)		

Valores de Referência:

POSITIVO: diâmetros ortogonais maiores ou iguais a 3mm, em relação ao controle negativo, medidos a partir do maior diâmetro.

NEGATIVO: diâmetros ortogonais menores do que 3mm, em relação ao controle negativo, medidos a partir do maior diâmetro.