



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

Kamil Barański<sup>1,a</sup>, Jan E. Zejda<sup>1,b</sup>

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

**Recebido:** 25 abril 2017.

**Aprovado:** 15 outubro 2017.

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

## RESUMO

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

**Descritores:** Óxido nítrico; Expiração; Asma.

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

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

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

Todas as medidas foram obtidas em escolas locais. As variáveis antropométricas (idade, estatura e massa corporal) foram medidas antes das medidas da  $F_{E}NO$  e da espirometria. A  $F_{E}NO$  foi medida com a criança sentada e com um dispositivo específico (NIOX MINO®; Aerocrine, Solna, Suécia). O teste consistiu em no máximo cinco tentativas até que se obtivesse uma medida aceitável. A segunda medida da  $F_{E}NO$  foi realizada uma semana depois da primeira. As variáveis espirométricas — CVF, VEF<sub>1</sub>, VEF<sub>1</sub>/CVF, FEF<sub>25%</sub>, FEF<sub>50%</sub> e FEF<sub>75%</sub> — foram obtidas de acordo com as recomendações da *American Thoracic Society/European Respiratory Society*, com um espirômetro (EasyOne®; nnd Medizintechnik AG, Zurique, Suíça), e expressas em valores absolutos. A espirometria foi realizada após a medição da  $F_{E}NO$ .

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

## Endereço para correspondência:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

$F_{E}NO$ : fração de óxido nítrico exalado. <sup>a</sup>Valores expressos em forma de média ± dp ou [mediana (intervalo interquartil)]. \*Teste de Kruskal-Wallis.

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

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

<sup>a</sup>Valores expressos em forma de n. \*Teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher.

grupo asma ( $r_{cc} = 0,99$ ; IC95%: 0,98-0,99). A Tabela 2 mostra as medidas divididas em diferentes faixas de  $F_{eNO}$  na amostra como um todo e em cada grupo. A  $F_{eNO} > 35$  ppb foi 100% reprodutível em ambas as medidas em cada grupo (sem pares discordantes). Os correlatos da variabilidade da  $F_{eNO}$  em um mesmo indivíduo foram avaliados por meio de análise de regressão linear, com a diferença relativa como variável dependente. Nem os modelos simples nem os multivariados revelaram associação entre a diferença relativa e o sexo, idade, estatura, índice de massa corporal, estado respiratório ou variáveis espirométricas.

Nossos achados revelaram muito boa repetibilidade das medidas da  $F_{eNO}$  em nossa amostra. Além disso, a repetibilidade foi igualmente boa em crianças saudáveis e em crianças com sintomas respiratórios crônicos ou asma, um achado que corrobora as evidências de variação diurna em crianças saudáveis e com asma.<sup>(4,5)</sup> Em nosso estudo, a variabilidade em curto prazo da  $F_{eNO}$  medida ao longo de uma semana foi independente das variáveis demográficas ou de função pulmonar. As diferenças entre medidas da  $F_{eNO}$  podem ser afetadas por fatores de confusão como teores de gordura, antioxidantes e nitratos em alimentos e o exercício físico.<sup>(3,7)</sup> Observou-se que a exposição à poluição do ar exterior também aumenta a variabilidade em curto prazo da  $F_{eNO}$ .<sup>(8)</sup> Não controlamos esses fatores, e nosso estudo foi realizado em condições comuns em pesquisas respiratórias com crianças.

Os resultados corroboram a opinião de que a  $F_{eNO}$  medida por meio de dispositivos portáteis é um

método não invasivo bem aceito para a avaliação da inflamação eosinofílica das vias aéreas em epidemiologia respiratória. Outro achado interessante de nosso estudo é um convincente gradiente da  $F_{eNO}$  entre os grupos, que reflete o estado respiratório das crianças identificado por meio de um questionário, uma relação que parece aumentar a confiabilidade de nossas medidas.

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

Em suma, nossos achados demonstram que medidas da  $F_{eNO}$  realizadas com um dispositivo portátil em trabalho de campo são altamente reprodutíveis e parecem corroborar a opinião de que a medida da  $F_{eNO}$  é uma ferramenta valiosa em pesquisas de saúde respiratória em crianças e, talvez, em programas de detecção de asma nessa faixa etária.

## REFERÊNCIAS

1. Taylor DR, Pijnenburg MW, Smith AD, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation. *Thorax* 2006;61(9):817-27. <https://doi.org/10.1136/thx.2005.056093>
2. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, Irvin CG, Leigh MW, Lundberg JO, et al. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;184(5):602-15. <https://doi.org/10.1164/rccm.9120-11ST>
3. Szefer SJ, Wenzel S, Brown R, Erzurum SC, Fahy JV, Hamilton RG, et al. Asthma outcomes: biomarkers. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(3 Suppl):S9-23. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.12.979>
4. Kharitonov SA, Gonio F, Kelly C, Meah S, Barnes PJ. Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. *Eur Respir J*. 2003;21(3):433-8. <https://doi.org/10.1183/09031936.03.00066903a>
5. Buchvald F, Baraldi E, Carraro S, Gaston B, De Jongste J, Pijnenburg MW, et al. Measurements of exhaled nitric oxide in healthy subjects age 4 to 17 years. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115(6):1130-6. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2005.03.020>
6. Asher MI, Weiland SK. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). ISAAC Steering Committee. 1998;28 Suppl 5:52-66; discussion 90-1. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.1998.028s5052.x>
7. Cardinale F, Tesse R, Fucilli C, Loffredo MS, Iacoviello G, Chinellato I, Armenio L. Correlation between exhaled nitric oxide and dietary consumption of fats and antioxidants in children with asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119(5):1268-70. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.01.028>
8. Berhane K, Zhang Y, Linn WS, Rappaport EB, Bastain TM, Salam MT, et al. The effect of ambient air pollution on exhaled nitric oxide in the Children's Health Study. *Eur Respir J*. 2011;37(5):1029-36. <https://doi.org/10.1183/09031936.00081410>
9. Alving K, Janson C, Nordvall L. Performance of a new hand-held device for exhaled nitric oxide measurement in adults and children. *Respir Res*. 2006;7:67. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-7-67>
10. Kapande KM, McConaghy LA, Douglas I, McKenna S, Hughes JL, McCance DR, et al. Comparative repeatability of two handheld fractional exhaled nitric oxide monitors. *Pediatr Pulmonol*. 2012;47(6):546-50. <https://doi.org/10.1002/ppul.21591>
11. Bohadana A, Michaely JP, Teculescu D, Wild P. Reproducibility of exhaled nitric oxide in smokers and non-smokers: relevance for longitudinal studies. *BMC Pul Med*. 2008;8:4. <https://doi.org/10.1186/1471-2466-8-4>