

**UNIVERSIDADE BRASIL  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOENGENHARIA  
CAMPUS ITAQUERA**

**JOSÉ EDUARDO GARBELINI FIGUEIREDO**

**ASMA EM ADULTOS X CRIANÇAS: DIFERENÇAS ENTRE A FUNÇÃO  
PULMONAR E A MECÂNICA E OS MEDIADORES FIBRÓTICOS PULMONARES**

São Paulo– SP

2022

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOENGENHARIA**

**JOSÉ EDUARDO GARBELINI FIGUEIREDO**

**ASMA EM ADULTOS X CRIANÇAS: DIFERENÇAS ENTRE A  
FUNÇÃO PULMONAR E A MECÂNICA E OS MEDIADORES  
FIBRÓTICOS PULMONARES**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Bioengenharia.

Prof. Dr. Rodolfo de Paula Vieira  
**Orientador**

São Paulo – SP  
2022

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade Brasil,  
com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

A858 Asma em adultos x crianças: diferenças entre a função pulmonar e a mecânica e os mediadores fibróticos pulmonares / José Eduardo Garbelini Figueiredo... [et al.]. -- Fernandópolis: Universidade Brasil, 2022. 38f. : il. ; 29,5cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Bioengenharia.

Orientador: Prof. Dr. Rodolfo de Paula Vieira.

1. Asma. 2. Inflamação pulmonar. Remodelamento pulmonar. 4. Fibrose. 5. Oscilometria de impulso. 6. Espirometria. I. Figueiredo, José Eduardo Garbelini. II. El-Marfajeh, Elias. III. Souza-Palmeira, Victor Hugo. IV. Tawanny R., Rayssa. V. Brandao-Rangel, Maysa Alves Rodrigues. VI. Moraes-Ferreira, Renilson. VII. Aquino-Santos, Helida Cristina. VIII. Frison CR, Claudio Ricardo. IX. Título.

CDD 616.24



**UNIVERSIDADE  
BRASIL**

**TERMO DE APROVAÇÃO**

**JOSÉ EDUARDO GARBELINI FIGUEIREDO**

**“ASMA LEVE EM ADULTOS X CRIANÇAS: DIFERENÇAS ENTRE A FUNÇÃO E  
MECÂNICA PULMONAR E MEDIADORES FIBRÓTICOS PULMONARES”**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre no Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia** da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:

Prof.(a) Dr.(a) Rodolfo de Paula Vieira (presidente-orientador)

Prof.(a) Dr.(a) Alessandra Baptista (UNIVERSIDADE BRASIL)

Prof.(a) Dr.(a) Manoel Carneiro de Oliveira Júnior (UNIFESP)

São Paulo, 10 de fevereiro de 2022

**Presidente da Banca Prof.(a) Dr.(a). Rodolfo de Paula Vieira**

Houve alteração do Título: sim ( ) não ( ):

---

---

---

## DEDICATÓRIA

A minha esposa, Érica, a meus filhos, Fábio e Miguel, pelo amor, apoio e compreensão neste período de turbulências e dificuldades em nossas vidas.

A minha Mãe, Celina, que nunca desistiu de me tornar quem eu sou.

A meu Pai, Ivo, cujo objetivo (sonho) era me tornar quem eu sou.

A minha Irmã, Luciana, pelo seu amor franco e autêntico.

Ao Professor Rodolfo, pela perseverança para comigo.

Às vítimas da COVID-19.

## **AGRADECIMENTOS**

Às Professoras Silvia, Alessandra e Amanda, pela ternura.

Aos pacientes que colaboraram para a realização deste trabalho.

À Universidade Brasil, pelos meios fornecidos.

“Há uma fase na vida onde os investimentos são altíssimos, principalmente no que diz respeito às metas e aos sonhos. Para viver bem é muito importante, além de ter algumas coisas materiais, ser capaz de carregar consigo uma bagagem repleta de experiências, de conhecimento e de compreensão do mundo.

A vida só é plena quando há clarezas existenciais.”  
FREI JAIME BETTEGA

## RESUMO

Asma é definida pela história de sintomas respiratórios, como chiado, falta de ar, aperto no peito e tosse, que variam com o tempo e em intensidade, juntamente com limitação variável do fluxo aéreo expiratório. No Brasil, por se tratar de país de dimensões continentais, temos grande variabilidade nessas taxas de óbito relacionadas à asma, sendo as mais altas no Nordeste Brasileiro, por provável desigualdade nas condições socioeconômicas e o seu impacto na saúde a muito aferidas e descritas por meio de indicadores de renda, escolaridade, emprego e acesso a recursos na área da saúde. Neste trabalho, retrata-se um tema pouco discutido em nosso meio que é o remodelamento brônquico, que pode ser descrito como moldar mais uma vez de forma diferente ou não, reorganizando e modificando células e o meio extracelular, formando um regime de reparação das lesões sofridas pelo processo inflamatório no órgão em questão. Assim, comparam-se os dados obtidos e as diferenças do desempenho pulmonar entre o teste ou prova de função pulmonar (espirometria com os seguintes parâmetros: CVF, VEF1, VEF1/CVF, PFE, FEF25%, FEF50%, FEF75% e CVI), a medida da mecânica pulmonar pela oscilometria de impulso com os parâmetros R5Hz, R20Hz, R5hz/R20Hz, X5Hz, Z5Hz, Rc: resistência central, Rp: resistência periférica das vias aéreas e os mediadores anti-fibróticos (Relaxina 1, Relaxina 3 e Klotho) e o pró-fibrótico (TGF-beta) pela medida destes mediadores no ar condensado pulmonar. São comparados 33 crianças asmáticas leves e 33 adultos asmáticos leves e 33 não asmáticos, para função pulmonar, mecânica pulmonar e para os níveis pulmonares no ar condensado respiratório de mediadores pró-fibróticos (TGF-beta) e anti-fibróticos. (relaxina 1, relaxina 3 e klotho). A sinalização pró-fibrótica começa precocemente detectada em crianças asmáticas.

**Palavras-chave:** Asma. Inflamação pulmonar. Remodelamento pulmonar. Fibrose. Espirometria. Oscilometria de impulso.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Função pulmonar (espiromeria) de asmáticos .....	24
Figura 2 – Mecânica pulmonar (oscilometria de impulso) de asmáticos.....	26
Figura 3 – Mediadores pro e anti-fibroticos de asmáticos (crianças e adultos) e adultos livres da doença .....	28

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	15
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	16
3.1 DESIGN DE ESTUDO .....	16
3.2 ESPIROMETRIA (PROVA DE FUNÇÃO PULMONAR).....	16
3.3 OSCILOMETRIA DE IMPULSO.....	18
3.4 MEDIADORES PRÓ E ANTI-FIBRÓTICOS PULMONARES ENCONTRADOS NA COLETA DO AR CONDENSADO .....	19
3.4.1 Relaxina.....	19
3.4.2 Klotho .....	20
3.4.3 Proteína TGF-Beta .....	21
<b>4 ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	22
<b>5 RESULTADOS</b> .....	23
5.1 FUNÇÃO PULMONAR ENTRE CRIANÇAS ASMÁTICAS E ADULTOS ASMÁTICOS.....	23
5.2 MECÂNICA PULMONAR ENTRE CRIANÇAS ASMÁTICAS E ADULTOS ASMÁTICOS.....	25
5.3 BIOMARCADORES PULMONARES DE RESPOSTA FIBRÓTICA EM CRIANÇAS ASMÁTICAS E ADULTOS ASMÁTICOS .....	27
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	29
<b>7 CONCLUSÕES</b> .....	31
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	33

## 1 INTRODUÇÃO

Asma tem sua definição pela cronologia de sintomas respiratórios, como chiado, falta de ar, aperto no peito e tosse, que variam com o tempo e em intensidade, juntamente com limitação variável do fluxo aéreo expiratório. É grande a repercussão nas comunidades, considerados os aspectos de cunho financeiro, afetando ambos os sexos nas mais diversas faixas etárias e com possibilidade de desfecho letal.

No Brasil, ocorreu uma diminuição expressiva nas taxas de mortalidade por asma em crianças e adolescentes nos últimos anos, proporcionando, assim, conjuntamente com vários fatores, maior expectativa de vida dos homens de 73,1 anos e das mulheres, de 80,1 anos, no ano de 2019, sendo a maior de nossa história registrada.

Por se tratar de um país de dimensões continentais, temos grande variabilidade nessas taxas de óbito relacionadas à asma, sendo as mais altas no Nordeste Brasileiro por provável desigualdade nas condições socioeconômicas e o seu impacto na saúde há muito aferidos e descritos por meio de indicadores de renda, escolaridade, emprego e acesso a recursos na área da saúde.

Globalmente em 2019, a asma afetou mais de 250 milhões de pessoas e causou quase meio milhão de mortes. A doença tem sua definição fundamentada nas suas características clínicas, fisiológicas e fisiopatológicas, sendo descrita e estruturada pelo *Global Initiative National of Asthma* (GINA, 2021), onde se lê que a

asma é uma doença heterogênea, geralmente caracterizada por inflamação crônica das vias aéreas. É definida pela história de sintomas respiratórios, como chiado, falta de ar, aperto no peito e tosse, que variam com o tempo e em intensidade, juntamente com limitação variável do fluxo aéreo expiratório.

Esse conceito também é adotado pelas recomendações atualizadas para o manejo da asma pela Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia no ano de 2020 (PIZZICHINI *et al.*, 2020), no entanto “não se sabe ao certo ainda se a limitação ao fluxo aéreo associada a asma já existe desde o nascimento ou se essa se desenvolve juntamente com os sintomas” (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA, 2012).

Sabe-se que “os aumentos na prevalência dos sintomas de asma na África, América Latina e partes da Ásia indicam que a carga global da asma continua

aumentando, mas as diferenças de prevalência globais estão diminuindo” (SOLE *et al.*, 2014). No Brasil, mesmo com a

redução da tendência temporal da mortalidade por asma em crianças e adolescentes nos 20 anos avaliados (1996 a 2015), com taxas de mortalidade variando nas diversas regiões geográficas do país, sendo, em geral, mais elevadas na região Nordeste, refletindo provavelmente iniquidades sociais, econômicas e na área da saúde, com a maioria dos óbitos ocorrendo em menores de cinco anos (DOS REIS, 2018).

Mesmo considerando este um avanço nos últimos 20 anos, esse nível de controle ainda é apontado como baixo e com morbidade elevada. Estudo brasileiro liderado por pneumologistas demonstrou que “em relação ao controle da asma, 51,2% dos pacientes apresentavam asma não controlada, 36,4% asma parcialmente controlada e 12,3% estavam totalmente controlados” (CANÇADO *et al.*, 2019). Outro “estudo realizado com informações de banco de dados do sistema de saúde suplementar brasileiro, entre 2010 e 2015, mostrou que cada hospitalização por asma representa, em média, um gasto de US\$ 8.655,00” (CARVALHO-PINTO *et al.*, 2021).

Isso atesta a grande repercussão de cunho financeiro neste grupo não controlado, macro e microeconomicamente, com aumento na frequência do uso de prontos socorros, medicações e deslocamentos, piorando o custo familiar, principalmente, dos mais carentes, que têm dificuldade para entender o manejo correto da doença, provavelmente, pela baixa educação nessa população.

As internações sobrecarregam o nosso tão penalizado Sistema Único de Saúde (SUS); existe, ainda, a possibilidade de desfecho letal relacionada à doença e à sua falta de controle, causando dano financeiro e emocional aos familiares e ao País, afetando homens, mulheres e crianças nas mais diversas faixas etárias.

“Asma é uma doença inflamatória crônica das vias aéreas, na qual diversas células e seus produtos estão envolvidos. Entre as células inflamatórias, destacam-se os mastócitos, eosinófilos, linfócitos T, células dendríticas, macrófagos e neutrófilos” (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA, 2012).

A complexidade e o caráter diverso da asma e dos seus processos fisiopatológicos distintos indicam diferentes fenótipos, cuja identificação pode indicar uma terapêutica mais assertiva. Fenótipo está relacionado com as características observáveis de um organismo, resultado da interação do seu genótipo com o ambiente em que vive: “A fenotipagem baseada na celularidade da resposta inflamatória

resultou no reconhecimento de dois fenótipos principais de asma, ou seja, asma eosinofílica e asma não eosinofílica” (CARVALHO-PINTO *et al.*, 2021): O eosinofílico é o fenótipo mais habitualmente encontrado.

Todas estas interações celulares das paredes das vias aéreas, com mediadores e células inflamatórias formam uma resposta aos estímulos como infectantes microbianos (virais, por exemplo), poluentes como a fumaça e o tabaco e também os alérgenos. Essa resposta ativa mediadores inflamatórios, que produzem um infiltrado eosinofílico, destacado marcador do processo inflamatório na asma, sendo este seu principal fenótipo (BARNIG; FROSSARD; LEVY, 2018). Este também pode ser classificado como fenótipo molecular (endotipo), que identifica uma via fisiopatológica específica, responsável pelo fenótipo (CARVALHO-PINTO *et al.*, 2021).

A interação dos alérgenos com as células dendríticas, que têm como função apresentá-los ao sistema imunológico, mais especificamente os linfócitos Th2 causando uma resposta inflamatória alérgica (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA, 2006). Esse endotipo anteriormente denominado Th2 alto em função do papel dos linfócitos Th2 na resposta inflamatória adaptativa da asma, com produção de interleucinas (IL) 4, 5 e 13, hoje terminologia evoluiu para T2 alto, pois se percebeu que a imunidade inata, por meio de group 2 innate lymphoid cells (ILC2, células linfoides inatas do grupo 2), também tem grande importância pois produz grandes quantidades de IL-5 e IL-13, produtores de citocinas de início e sustento da inflamação (CARVALHO-PINTO *et al.*, 2021).

A IL-4 ajuda na produção de anticorpos IgE específicos ao alérgeno (DOS REIS, 2018). Este também é um dos papéis da IL-13, estimulando os linfócitos B produzirem o IgE, já as IL-5 e IL-13, em conjunto, induzem a inflamação eosinofílica (CARVALHO-PINTO *et al.*, 2021).

Alguns mediadores inflamatórios, como histamina, leucotrienos, triptase e prostaglandinas, têm liberação por mastócitos; já os macrófagos produzem o fator de necrose tumoral (TNF-alfa), IL-6, óxido nítrico, os linfócitos T responsáveis pelas IL-2, 3, 4 e 5 e também pelo fator de crescimento de colônia de granulócitos, os eosinófilos liberam proteína básica principal, ECP, EPO, mediadores lipídicos e citocinas, os neutrófilos a elastase e as células epiteliais a endotelina-1, mediadores lipídicos e o óxido nítrico (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA, 2006).

Os mediadores celulares causam alterações e dano ao epitélio, como no equilíbrio neural autonômico pela substância P e neurocinina A, fatores como o tônus da via aérea, alterações na permeabilidade vascular, hipersecreção de muco, mudanças na função mucociliar e a hiperreatividade brônquica, atingindo musculatura lisa na via aérea, trazendo consequências às células do epitélio ciliado causando dano epitelial, fazendo com que os miofibroblastos migrem para a superfície criando depósitos intersticiais de colágeno, levando ao espessamento da membrana basal e dano cicatricial irreversível associados a outras alterações na musculatura local, o aumento das células calciformes, das glândulas submucosas, alteração na matriz extracelular, formando remodelamento brônquico (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA, 2006).

É de grande valor investigar e avaliar as vias aéreas e o processo inflamatório pulmonar para diagnóstico precoce e o controle não invasivo da asma, mas pela dificuldade prática em se medir diretamente e verificar a inflamação na pesquisa clínica, o monitoramento não invasivo pode auxiliar no reconhecimento precoce da asma, avaliar sua gravidade e a resposta ao tratamento, especialmente, durante as exacerbações da doença, com evidências de que a análise da respiração (coleta do ar condensado, onde o ar exalado é congelado e marcadores específicos do processo inflamatório podem ser analisados) pode ter um papel importante no manejo clínico da asma (KHARITONOV; BARNES, 2006), melhorando o tratamento e evitando a fibrose tecidual e o remodelamento causada por ele.

Fibrose é o acúmulo excessivo de matriz extracelular como os colágenos fibrilares dos tipos I e III pela ativação de fibroblastos (HINZ *et al.*, 2007) associada à diminuição na depuração da matriz extracelular que degrada o colágeno, e um aumento dos inibidores teciduais das metaloproteinases que degradam o colágeno e a elastina, este é o processo normal de cura após a lesão tecidual; se o processo continuar o resultado final é a produção contínua e a diminuição da depuração da matriz extracelular, resultando em cicatrizes do tecido e interrupção da função normal do órgão (BENNETT, 2009).

## 2 OBJETIVOS

Neste trabalho, o objetivo é retratar um tema pouco discutido em nosso meio que é o remodelamento brônquico, que pode ser descrito como: moldar mais uma vez, de forma diferente ou não, reorganizando e modificando células e o meio extracelular, formando um regime de reparação das lesões sofridas pelo processo inflamatório no órgão em questão.

Trata-se de um evento ativo de formação e decomposição de matriz celular, como resposta à inflamação sofrida, levando à reconstrução normal do tecido ou à geração de tecido doentio ou excessivo.

Outro objetivo é comparar os dados obtidos e as diferenças do desempenho pulmonar entre o teste ou prova de função pulmonar (espirometria com os seguintes parâmetros: CVF, VEF1, VEF1/CVF, PFE, FEF25%, FEF50%, FEF75% e CVI), a medida da mecânica pulmonar pela oscilometria de impulso com os parâmetros R5Hz, R20Hz, R5hz/R20Hz, X5Hz, Z5Hz, Rc: resistência central, Rp: resistência periférica das vias aéreas e os mediadores anti-fibróticos (Relaxina 1, Relaxina 3 e Klotho) e o pró-fibrótico (TGF-beta) pela medida destes mediadores no ar condensado pulmonar.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos realizados neste estudo foram aprovados pelo comitê de ética local da Universidade Brasil (registro número 2.939.688).

Utilizamos, na análise, valores dos dados fornecidos através de exames colhidos (espirometria, oscilometria de impulso e marcadores pró e anti-fibroticos coletados no ar condensado) de 33 crianças e 33 adultos ambos os grupos com diagnóstico de asma persistente leve e moderada e marcadores pró e anti-fibroticos 33 adultos livres da doença pelo Laboratório de Imunologia Pulmonar e do Exercício em São José do Campos – SP.

#### 3.1 DESIGN DE ESTUDO

Este estudo transversal envolveu vinte e três crianças e vinte e três adultos com asma leve persistente, segundo os critérios da GINA (2), além de vinte e três controles saudáveis não asmáticos. O termo de consentimento foi obtido de todos os participantes e para as crianças o termo de consentimento assinado pelos pais. Para serem incluídos no estudo, todos os voluntários asmáticos devem ter pelo menos  $\geq 6$  meses de tratamento clínico e estar clinicamente estáveis, ou seja, pelo menos 2 meses sem exacerbações. Os critérios de exclusão foram não obeso [(IMC  $\leq 20$ ) avaliado pelo IMC e bioimpedância octopolar multifrequencial Bioscan 920 II-S (% Gordura Corporal  $\leq 20\%$ ) Maltron Inc, Essex, Inglaterra], não hipertenso, não - dislipidêmicos, sem doenças cardiovasculares, nunca fumantes (mesmo não fumantes passivos), sem doenças respiratórias prévias (exceto asma e bronquite) e doenças neurológicas.

#### 3.2 ESPIROMETRIA (PROVA DE FUNÇÃO PULMONAR)

A espirometria é considerada um exame de escolha para o diagnóstico, pois é o mais acessível nos planos de saúde e no SUS, ajudando a classificar a gravidade e a realizar o monitoramento da conduta terapêutica. O diagnóstico de asma é baseado na anamnese e no exame clínico, mas a espirometria e a análise do quadro alérgico auxiliam este diagnóstico.

Após análise do quadro clínico, alérgico e dos sintomas relacionados à asma com valores do VEF1 inferior a 80% do predito, e o distúrbio ventilatório obstrutivo é demonstrado na espirometria pela presença da relação VEF1/CVF menor que o limite inferior do previsto, abaixo de 75% em adultos e 86% em crianças ou a melhora significativa da obstrução do fluxo aéreo ou seu desaparecimento após o uso de broncodilatador são indicativos de asma.

A reversibilidade dessa limitação pode ser avaliada após o uso de  $\beta$ 2-adrenérgico de curta ação (salbutamol em spray) inalado, com dose usual de 200 a 400 mcg e nova medida espirométrica, após 10 a 15 minutos com a resposta positiva, observando-se variação broncodilatadora significativa com o acréscimo de  $\geq 12\%$  e  $\geq 200$  mL ao VEF1 em relação ao valor basal ou de  $\geq 7\%$  e  $\geq 200$  mL sobre o seu valor de referência (CARVALHO-PINTO *et al.*, 2021). Quando se observa a reversão da obstrução, este é um sinal marcante de asma nos pacientes; por esse motivo, a prova broncodilatadora é sempre recomendada.

Utilizaremos estes parâmetros espirométricos fornecidos (figura 1) pelo exame:

- FVC = CVF (Capacidade vital forçada) representa o volume máximo de ar exalado com esforço máximo, a partir do ponto de máxima inspiração.
- FEV1 = VEF1 (Volume expiratório forçado no primeiro segundo) indica o volume de ar exalado no primeiro segundo durante a manobra de CVF.
- FVC/VEF1 = VEF1/CVF Razão entre volume expiratório forçado (cronometrado) e capacidade vital forçada. O diagnóstico de distúrbio obstrutivo é obtido a partir da razão entre as duas medidas. O resultado depende de equação, determinada conforme o paciente.
- PEF = PFE ou FEFmáx (Pico de fluxo expiratório forçado) representa o fluxo máximo de ar durante a manobra de capacidade vital forçada. Valores reduzidos para o PFE, isolados da espirometria, em pacientes sem diagnóstico de doença obstrutiva, têm escasso valor clínico, já que podem ser encontrados também em doenças restritivas, pela redução do volume pulmonar.
- MEF 25%, 50% e 75% = FEFx% – Fluxo expiratório forçado numa percentagem (25%, 50% e 75%) de volume da CVF, representa o fluxo expiratório forçado instantâneo relacionado a um volume do registro da manobra de CVF. Esta grandeza é expressa em litros/segundo.

- VC IN = CVI – Capacidade vital inspiratória representa o maior volume de ar mobilizado, podendo ser medido tanto na inspiração quanto na expiração.

Porém existe grande dificuldade em empregar a espirometria de forma habitual em grupos com idade inferior a seis ou sete anos e naqueles indivíduos com dificuldades para compreender o funcionamento do exame por déficit cognitivo, apresentando resultados que conduzem a diagnósticos e tratamentos imprecisos e por vezes ineficazes: “Uma espirometria normal não exclui o diagnóstico de asma” (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA, 2012).

Novas modalidades de exames têm surgido para dar mais precisão à análise da função pulmonar; a oscilometria de impulso (IOS, em inglês) tem se tornado um método seguro e fundamentado para avaliar a obstrução das vias aéreas proximais e distais e determinar o diagnóstico da asma nesses públicos em particular, com dificuldade em entender e colaborar com o feitiço da espirometria, pois requer pouca cooperação e habilidade destes indivíduos.

### 3.3 OSCILOMETRIA DE IMPULSO

A oscilometria de impulso (IOS) avalia a obstrução das vias aéreas pelas ondas sonoras sobrepostas à respiração habitual, método não invasivo e com baixa cooperação do paciente. A espirometria tem seus critérios e graduações definidos, mas a necessidade de esforço ventilatório e das manobras (MOREIRA, 2005) inviabiliza o uso prático e de maneira assertiva naqueles pacientes com dificuldades cognitivas e crianças.

Dubois *et al.* (1956) descreveram um método oscilatório para medida das propriedades mecânicas do pulmão e do tórax, com base na teoria das vibrações, que, até aquele momento, eram aplicadas somente à eletricidade, mas perderam o interesse após a redescoberta da pletismografia de corpo inteiro no mesmo ano, pelos autores (MOREIRA, 2005). Em 1965, Karl Muysers retomou os estudos sobre a IOS e, em 1968, Grimby *et al.* publicam outro ensaio sobre o método (MOREIRA, 2005).

O exame tem seus parâmetros expressos em diferentes frequências em Hertz (5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 Hz), no componente da medida da resistência pulmonar (R – reflete principalmente a perda da fricção que ocorre durante o fluxo de ar nos brônquios) e no da reatância pulmonar em variadas frequências (X – contempla a energia armazenada nos componentes mais periféricos do sistema respiratório),

realizando a análise da alternância da impedância respiratória ( $Z$  – resistência total respiratória) e da frequência de ressonância ( $F_{res}$  – representa a frequência em que a reatância é igual a zero) (ASSUMPÇÃO *et al.*, 2014).

Marotta *et al.* (2003) fizeram uma comparação entre a IOS e a espirometria tradicional quanto à resposta ao uso do broncodilatador em crianças de 4 anos com predisposição a serem asmáticas; os autores notaram variações nas resistências de 5Hz ( $R_5$ ) e em 10Hz ( $R_{10}$ ), somente nas crianças propensas à asma.

A IOS tem se demonstrado o melhor método para identificar e monitorar a asma, em comparação com a espirometria, porém ainda carece de mais pesquisa para validar o exame como de escolha para este público em particular.

### 3.4 MEDIADORES PRÓ E ANTI-FIBRÓTICOS PULMONARES ENCONTRADOS NA COLETA DO AR CONDENSADO

#### 3.4.1 Relaxina

Hormônio peptídico que apresenta semelhança estrutural com a insulina, sendo uma proteína contendo cadeias de peptídeos A e B, mas, apesar da semelhança, a relaxina e a insulina se ligam a receptores diferentes e sem relação, não causando efeitos celulares associados. Historicamente, esse hormônio está relacionado à procriação, inibindo a contração uterina e induzindo o crescimento e o amolecimento do colo do útero, aumentado no primeiro trimestre da gestação em humanos, diminuindo gradualmente no período antes do parto, sendo produzida pelas células luteais ovarianas, nas mulheres e, no homem, pela próstata, observada no fluido seminal e, raramente, no plasma sanguíneo; mas recentes evidências sugerem que pode ser produzida localmente, atuando de maneira autócrina ou parácrina em alguns órgãos (BENNETT, 2009).

Em 1929, Hisaw identificou a relaxina como um hormônio derivado do corpo lúteo que poderia induzir experimentalmente o relaxamento do ligamento pélvico (HISAW, 1929). O exame do ligamento revelou remodelamento do colágeno de feixes densos para fibras mais soltas e menos densas (CHIHAI; ESPEY, 1943). Posteriormente, percebeu-se que a relaxina é responsável pela remodelação da matriz extracelular no colo do útero, vagina e, em algumas espécies, na sínfise púbica na gravidez (HISAW, 1929).

Aparentemente, o pulmão parece ser um órgão alvo da relaxina (BENNETT, 2009). A relaxina de fibroblastos de pulmão humano diminuiu a produção de colágeno (I e III) e fibronectina como resposta ao fator de crescimento transformador beta (TGF $\beta$ ), potente agente fibrogênico, além disso, promoveu a degradação da matriz extracelular aumentando os níveis de metaloproteinases da matriz, o tratamento com relaxina *in vivo*, diminuiu drasticamente o espessamento alveolar e melhorou a fibrose (UNEMORI *et al.*, 1996).

Estudo com camundongo nulo de relaxina apresenta fibrose pulmonar associada à idade, a qual foi revertida usando relaxina (SAMUEL *et al.*, 2003). Camundongos nulos para RXFP1 (receptores de peptídeos da família da relaxina) desenvolveram mais rapidamente fibrose peribrônquica e perivascular do que os nulos para relaxina (KAMAT *et al.*, 2004).

A falta de relaxina resulta em fibrose relacionada à idade na pele, no pulmão, no rim e no coração (BENNETT, 2009).

### 3.4.2 Klotho

Gene identificado pela primeira vez por Kuro-o *et al.*, em 1997, e está envolvido na supressão de vários fenótipos de envelhecimento (KURO-O *et al.*, 1997). Camundongos com deficiência de Klotho têm envelhecimento prematuro, fibrose espontânea, enfisema pulmonar e disfunção vascular; já camundongos com aumento nos níveis de Klotho têm vida prolongada e alguma proteção contra lesão cardiopulmonar (KURO-O *et al.*, 1997).

Klotho é produzido, a princípio, nos rins e plexo coroide, mas está presente nos pulmões, nas glândulas paratireoides e no coração (KURO-O *et al.*, 1997). Foi demonstrado, também, que o Klotho pode atuar como um correceptor para o fator de crescimento de fibroblastos ou mesmo interagir com a membrana plasmática, alterando sua organização lipídica e modulando as vias biológicas que regulam o estresse oxidativo (RAVIKUMAR *et al.*, 2014), apoptose (IKUSHIMA *et al.*, 2006), renovação de células-tronco (LIU *et al.*, 2007), fibrogênese (DOI *et al.*, 2011) e angiogênese (KUSABA *et al.*, 2010). Klotho suprime a fibrose pela ligação ao receptor do fator de transformação de crescimento beta 1 (TGF- $\beta$ ) do tipo II, evitando a ligação do TGF- $\beta$  (DOI *et al.*, 2011).

### **3.4.3 Proteína TGF-Beta**

A TGF- $\beta$  é uma citocina multifuncional envolvida no controle da proliferação e diferenciação celular. Promove inibição da proliferação de células do tecido conjuntivo e diminuição da degradação do colágeno. Parte da resposta fibrótica induzida pelo TGF- $\beta$  parece estar relacionada com a modulação do sistema fibroblasto/fibrócito, levando ao acúmulo de colágeno tipo I e tipo III.

#### 4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

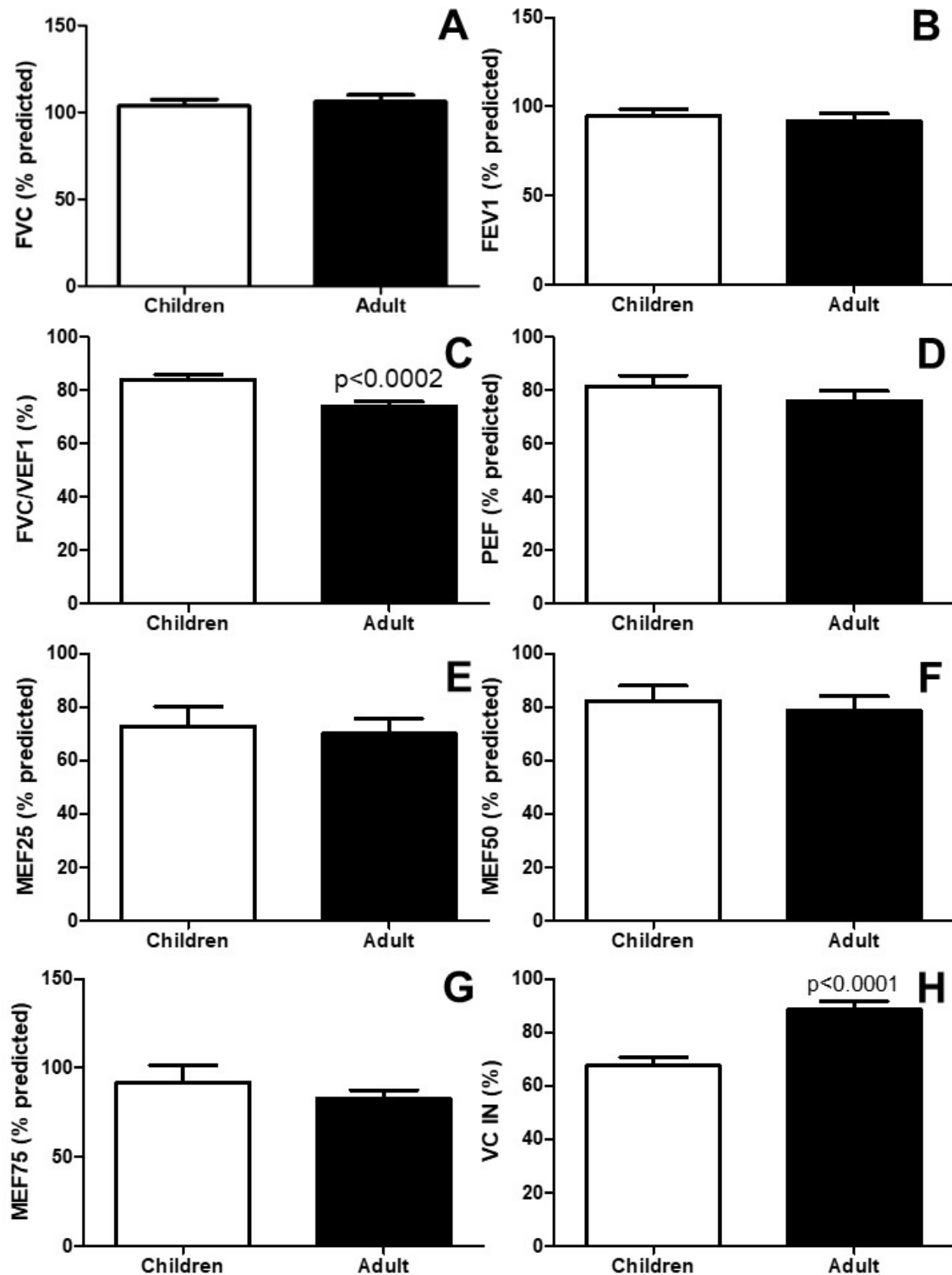
Os gráficos foram construídos e os dados analisados por meio do software Graph Pad Prism 5.0 (Graph Pad Software, CA, EUA). A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Os dados foram submetidos ao teste t não pareado para comparação entre os grupos e ao One Way Anova seguido do teste de Bonferroni quando apropriado. A significância estatística foi estabelecida em valor de  $p < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS

### 5.1 FUNÇÃO PULMONAR ENTRE CRIANÇAS ASMÁTICAS E ADULTOS ASMÁTICOS

A Figura 1 mostra a função pulmonar de crianças asmáticas em comparação com adultos asmáticos. A Figura 1C mostra que adultos asmáticos apresentaram redução do VEF1/CVF ( $p < 0,0002$ ) em relação às crianças asmáticas. A Figura 1H mostra que os adultos asmáticos apresentaram aumento da VC IN ( $p < 0,0001$ ) em relação às crianças asmáticas. Para CVF (Figura 1A), VEF1 (Figura 1B), PFE (Figura 1D), MEF25 (Figura 1E), MEF50 (Figura 1F) e MEF75 (Figura 1G) não foram encontradas diferenças comparando o grupo de crianças asmáticas com adultos asmáticos.

Figura 1 – Função pulmonar (espiromeria) de asmáticos

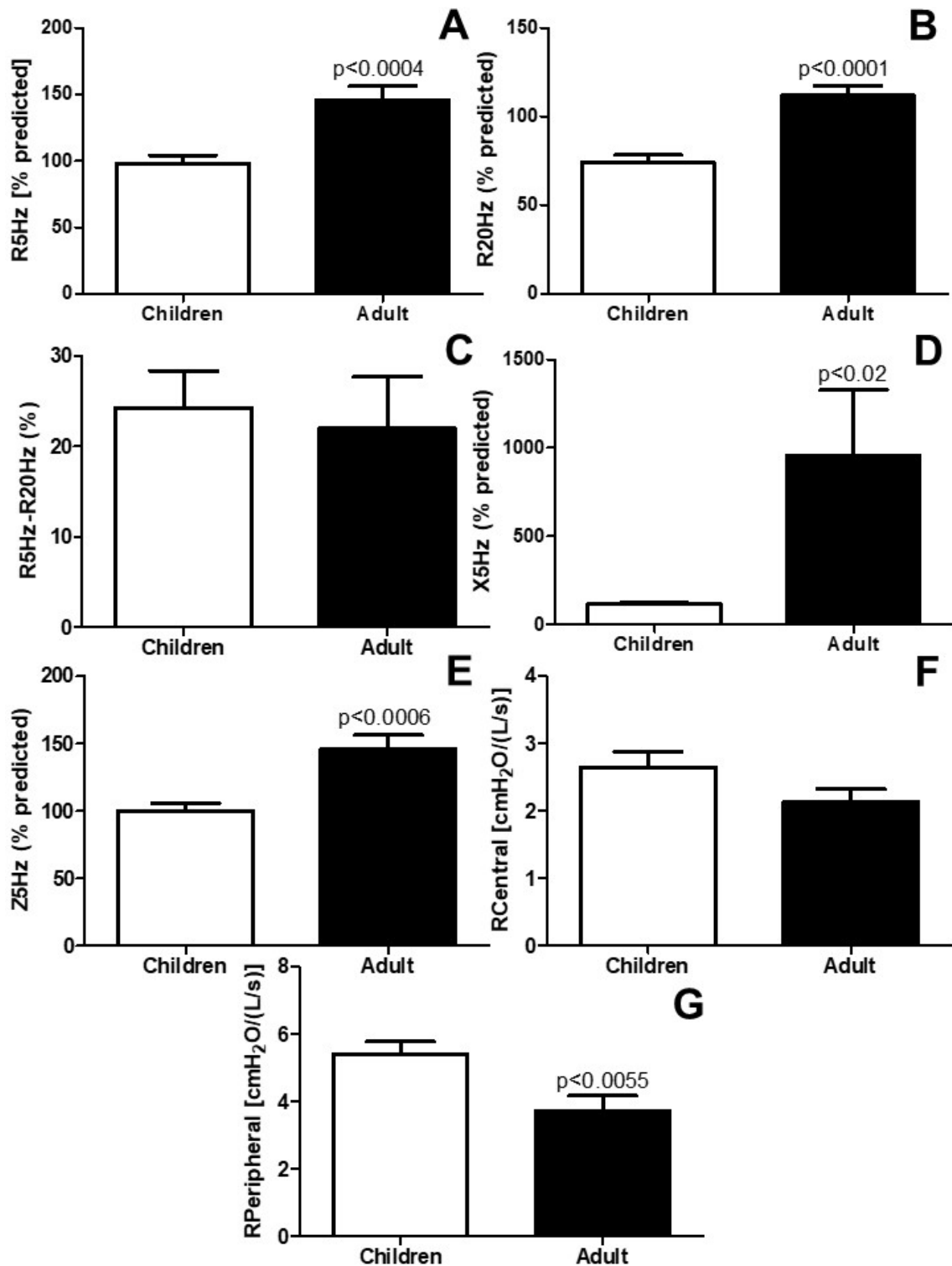


Função pulmonar de crianças asmáticas e adultos asmáticos. CVF = capacidade vital forçada. VEF1 = volume expiratório forçado no primeiro segundo. PFE = pico de fluxo expiratório. MEF25 = fluxo expiratório máximo a 25% da CVF. MEF50 = fluxo expiratório máximo a 50% da CVF. MEF75 = fluxo expiratório máximo a 75% da CVF. VC IN = capacidade vital inspiratória.

## 5.2 MECÂNICA PULMONAR ENTRE CRIANÇAS ASMÁTICAS E ADULTOS ASMÁTICOS

A Figura 2 mostra a mecânica pulmonar de crianças asmáticas em comparação com adultos asmáticos. A Figura 2A mostra que adultos asmáticos apresentaram aumento da resistência do sistema respiratório ( $R_{5\text{Hz}}$ ;  $p < 0,0004$ ), resistência das vias aéreas proximais ( $R_{20\text{Hz}}$ ;  $p < 0,0001$ ), reatância pulmonar ( $X_{5\text{Hz}}$ ;  $p < 0,02$ ), impedância respiratória ( $Z_{5\text{Hz}}$ ;  $p < 0,0006$ ) e resistência periférica ( $RP_{\text{periférica}}$ ;  $p < 0,0055$ ) em comparação com crianças asmáticas.

Figura 2 – Mecânica pulmonar (oscilometria de impulso) de asmáticos



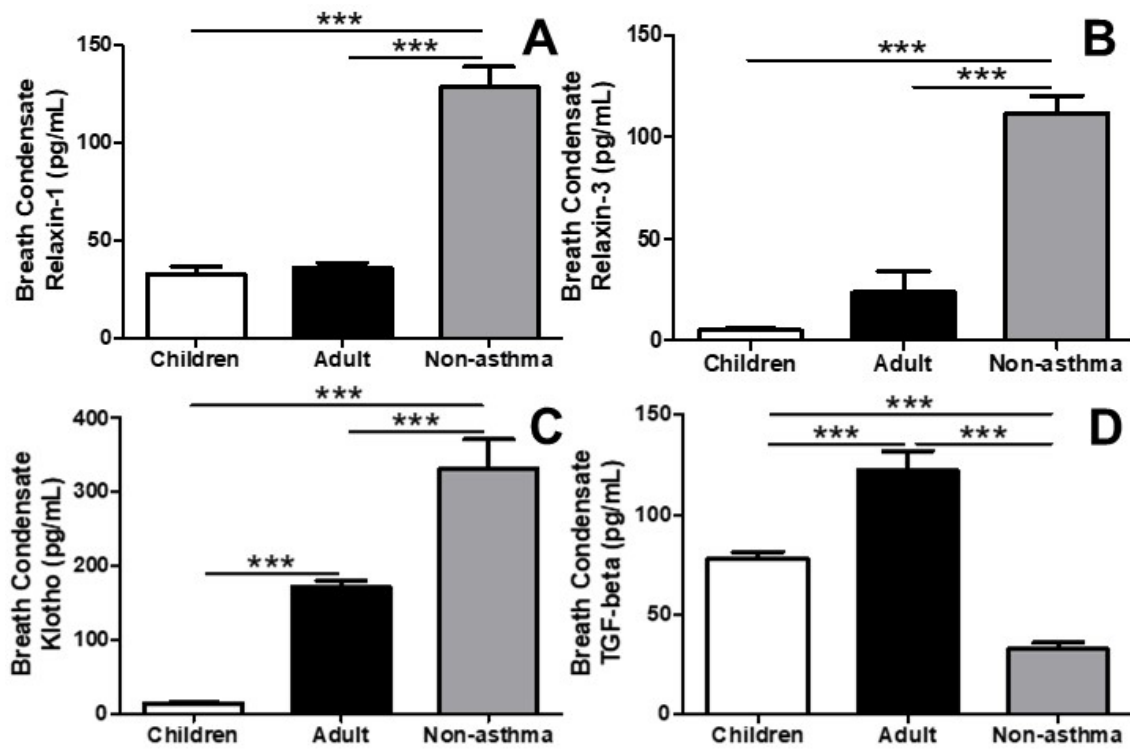
Mecânica pulmonar analisada pelo sistema de oscilometria de impulso (IOS) de crianças asmáticas e adultos asmáticos. R5Hz = resistência de todo o sistema respiratório. R20Hz = resistência das vias aéreas proximais. R5Hz-R20Hz = resistência das vias aéreas distais. X5Hz = reatância pulmonar.

Z5Hz = impedância pulmonar. RCentral = resistência das vias aéreas centrais. RPeriférico = resistência do tecido pulmonar periférico.

### 5.3 BIOMARCADORES PULMONARES DE RESPOSTA FIBRÓTICA EM CRIANÇAS ASMÁTICAS E ADULTOS ASMÁTICOS

A Figura 3 mostra os níveis pulmonares dos fatores anti-fibróticos e pró-fibróticos em crianças e adultos asmáticos e no grupo não asmático. A Figura 3A mostra que o grupo não asmático apresentou níveis muito mais elevados de proteína anti-fibrótica relaxina-1 em comparação com o grupo de crianças asmáticas ( $p < 0,001$ ) e adultos asmáticos ( $p < 0,001$ ). Da mesma forma, a Figura 3B mostra que o grupo não asmático apresentou níveis muito mais elevados de proteína antifibrótica relaxina-3 em comparação com o grupo de crianças asmáticas ( $p < 0,001$ ) e adultos asmáticos ( $p < 0,001$ ). A Figura 3C mostra que o grupo não asmático apresentou níveis muito mais elevados de proteína antifibrótica klotho em comparação com o grupo de crianças asmáticas ( $p < 0,001$ ) e adultos asmáticos ( $p < 0,001$ ). Por outro lado, a Figura 3D mostra que ambos os grupos de crianças asmáticas ( $p < 0,001$ ) e adultos asmáticos ( $p < 0,001$ ) apresentaram níveis mais elevados de fator pró-fibrótico TGF-beta em comparação ao grupo não asmático. No entanto, embora não estatisticamente significativo, em termos de valores absolutos, o grupo de adultos asmáticos apresentou níveis duplos de TGF-beta em comparação com crianças asmáticas.

Figura 3 – Mediadores pro e anti-fibróticos de asmáticos (crianças e adultos) e adultos livres da doença



Níveis pulmonares de biomarcadores fibróticos em crianças asmáticas e adultos asmáticos. TGF-beta = fator de crescimento transformador beta. \*\*\*p<0,0001.

## 6 DISCUSSÃO

Este estudo mostra que crianças e adultos asmáticos leves persistentes apresentam níveis semelhantes de mediadores antifibróticos (relaxina-1, relaxina-3 e klotho) e de mediador pró-fibrótico (TGF-beta), enquanto adultos asmáticos apresentam níveis mais elevados de pró -mediadores inflamatórios (IL-4, IL-5, GMCSF e TSLP) em comparação com crianças asmáticas e controles não asmáticos. Além disso, adultos asmáticos apresentaram mecânica pulmonar prejudicada, o que pode refletir as alterações funcionais decorrentes do remodelamento das vias aéreas.

A remodelação das vias aéreas permanece como o principal desafio no tratamento e gravidade da asma (CHIHAI; ESPEY, 1973). Originalmente, a fisiopatologia do remodelamento das vias aéreas era atribuída a um processo inflamatório não resolvido, mediado por células-chave e citocinas, levando a um processo contínuo de lesão e reparo na parede das vias aéreas, resultando no remodelamento (PEARCE *et al.*, 2007; DOS REIS, 2018).

No entanto, a descoberta do remodelamento das vias aéreas em crianças asmáticas na fase inicial e as manifestações da doença colocam em xeque a teoria do remodelamento induzido pela inflamação (CARVALHO-PINTO *et al.*, 2021; MOREIRA, 2005; BARNIG; FROSSARD; LEVY, 2018). Assim, aceita-se que o remodelamento das vias aéreas possa ocorrer de forma dependente ou independente do processo inflamatório (HISAW, 1929).

No presente estudo, identificamos que especificamente em pacientes asmáticos leves persistentes, apenas o grupo de adultos asmáticos apresentou resistência aumentada do sistema respiratório (R5Hz) e das vias aéreas proximais (R20Hz), sugerindo a presença de remodelamento das vias aéreas. Tais achados são reforçados pela desregulação imunológica observada como diminuição dos níveis da proteína anti-fibrótica pulmonar klotho, relaxina-1 e relaxina-3 e aumento dos níveis da proteína pró-fibrótica TGF-beta. No entanto, outro parâmetro RPeripheral, que analisa a resistência das vias aéreas periféricas, apresentou valores menores em adultos asmáticos. Tal resultado é contrário ao esperado, uma vez que é plausível que indivíduos com maior tempo de asma apresentem maior comprometimento das pequenas vias aéreas.

Observou-se, também, que a função pulmonar tradicional, por meio da espirometria, não observou diferenças em quase todos os parâmetros, exceto para VC IN, quando adultos asmáticos apresentaram valores maiores em comparação com crianças asmáticas como esperado. Além disso, o índice de VEF1/CVF foi reduzido em adultos asmáticos em comparação com crianças asmáticas, fato que não conseguimos explicar no presente estudo e constitui uma limitação do estudo.

O TGF-beta está entre os principais fatores de crescimento envolvidos no remodelamento das vias aéreas (UNEMORI *et al.*, 1996). Modula a quimiotaxia dos leucócitos (SAMUEL *et al.*, 2003.) e a estimulação das proteínas da MEC (KAMAT *et al.*, 2004.). No presente estudo, observou-se que crianças asmáticas e adultos asmáticos apresentaram níveis pulmonares de TGF-beta aumentados em relação aos controles não asmáticos, embora adultos asmáticos apresentassem aproximadamente 50% mais TGF-beta em comparação com crianças asmáticas. Além do mediador pró-fibrótico TGF-beta, os resultados demonstraram que os níveis pulmonares de relaxina-1 e relaxina-3, que possui efeitos antifibróticos, estavam reduzidos em crianças asmáticas e em adultos asmáticos.

No entanto, uma relação causal entre níveis reduzidos de relaxinas e aumento da resistência das vias aéreas ou redução do VEF1 não foi avaliada e não pôde ser feita no presente estudo. Além dos níveis reduzidos de proteínas anti-fibróticas relaxina-1 e relaxina-3 em crianças e adultos asmáticos, o presente estudo também observou níveis reduzidos de klotho, que é uma proteína com potentes propriedades anti-fibróticas (KURO-O *et al.*, 1997). De fato, a literatura indica o klotho como uma esperança para o tratamento de doenças pulmonares fibróticas graves, como a fibrose pulmonar idiopática (KURO-O *et al.*, 1997).

## 7 CONCLUSÕES

Asma é uma doença inflamatória crônica associada ao remodelamento de vias aéreas; nota-se que os asmáticos analisados apresentam aparente redução da função pulmonar quando comparados com os indivíduos saudáveis.

Feito o cruzamento dos resultados obtidos na oscilometria com a espirometria, demonstrou-se um aumento da resistência das vias aéreas, mais evidente na oscilometria em relação aos parâmetros obtidos pela espirometria.

Notamos a elevação das taxas dos fatores pró-fibróticos no ar condensado, permitindo traçar correlação entre o aumento da resistência das vias aéreas e a ampliação dos níveis do mediador pró-fibrótico (TGF- $\beta$ ) e a diminuição dos anti-fibróticos (relaxina-1, relaxina-3 e klotho) no ar condensado pulmonar dos asmáticos, quando comparados aos indivíduos saudáveis.

Crianças e adultos com asma persistente leve e moderada apresentam níveis semelhantes de mediadores antifibróticos (relaxina-1, relaxina-3 e klotho) e de mediador pró-fibrótico (TGF- $\beta$ ), em comparação com controles não asmáticos. Além disso, adultos asmáticos apresentaram mecânica pulmonar prejudicada, o que pode refletir as alterações funcionais decorrentes do remodelamento das vias aéreas.

Aqui, o raciocínio do presente estudo – de que crianças e adultos asmáticos apresentam aumento da resistência das vias aéreas, uma medida funcional da fibrose das vias aéreas – pode ser pelo menos parcialmente atribuído aos níveis reduzidos de proteínas anti-fibróticas.

Concluimos que a oscilometria de impulso detectou aumentos na resistência, impedância e reatância das vias aéreas tanto em crianças quanto adultos asmáticos, e que adultos asmáticos possuem maior resistência do aparelho respiratório, quando comparados a crianças, ambos com asma persistente leve e moderada.

Em relação ao mediador pró-fibrótico TGF- $\beta$ , que se apresentou elevado nas crianças e muito mais em adultos asmáticos, a diminuição da relaxina (1 e 3), o que pode ser uma justificativa para os valores aumentados detectados na resistência das vias aéreas.

Por fim, observou-se uma redução mais significativa dos mediadores anti-fibróticos nos pulmões dos adultos asmáticos em relação ao grupo controle, uma indicação de que os asmáticos, principalmente os com pouco controle, correm risco de desenvolver remodelamento brônquico.

Asma tem tratamento definido e eficaz. Devemos oferecer acesso a especialistas e centros de referência para melhorar os baixíssimos índices de controle adequado da doença, sendo o custo financeiro e à vida do paciente sem tratamento adequado muito maior no futuro.

Pesquisas sobre os mediadores anti-fibróticos precisam seguir, pois trata-se de um instrumento muito útil no diagnóstico, monitoramento e tratamento precoce da asma, diminuindo os casos de fibrose pulmonar causado pelo remodelamento brônquico.

A oscilometria de pulso pelo seu custo ainda não é o exame de referência, mas tem boas chances de se tornar pela qualidade dos resultados e pouca dificuldade em realizar o exame.

## REFERÊNCIAS

- BARNIG, Cindy; FROSSARD, Nelly; LEVY, Bruce D. Towards targeting resolution pathways of airway inflammation in asthma. **Pharmacology & therapeutics**, v. 186, p. 98-113, 2018.
- BENNETT, Robert G. Relaxin and its role in the development and treatment of fibrosis. **Translational Research**, v. 154, n. 1, p. 1-6, 2009.
- CANÇADO, Jose Eduardo Delfini *et al.* Respira project: Humanistic and economic burden of asthma in Brazil. **Journal of Asthma**, v. 56, n. 3, p. 244-251, 2019.
- CARVALHO-PINTO, Regina Maria de *et al.* Recomendações para o manejo da asma grave da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia-2021. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 47, 2021.
- CHIHAI, H. Jane; ESPEY, Lawrence L. Utilization of the relaxed symphysis pubis of guinea pigs for clues to the mechanism of ovulation. **Endocrinology**, v. 93, n. 6, p. 1441-1445, 1973.
- DOI, Shigehiro *et al.* Klotho inhibits transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) signaling and suppresses renal fibrosis and cancer metastasis in mice. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 10, p. 8655-8665, 2011.
- DOS REIS, Raquel Pitchon. **Mortalidade por asma em crianças e adolescentes no Brasil ao longo de 20 anos (1996-2015)**. 2018. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) –Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.
- HINZ, Boris *et al.* The myofibroblast: one function, multiple origins. **The American journal of pathology**, v. 170, n. 6, p. 1807-1816, 2007.
- HISAW, Frederick L. The corpus luteum hormone. I. Experimental relaxation of the pelvic ligaments of the guinea pig. **Physiological Zoology**, v. 2, n. 1, p. 59-79, 1929.
- IKUSHIMA, Masashi *et al.* Anti-apoptotic and anti-senescence effects of Klotho on vascular endothelial cells. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 339, n. 3, p. 827-832, 2006.
- KAMAT, Aparna A. *et al.* Genetic targeting of relaxin and insulin-like factor 3 receptors in mice. **Endocrinology**, v. 145, n. 10, p. 4712-4720, 2004.
- KHARITONOV, Sergei A.; BARNES, Peter J. Exhaled biomarkers. **Chest**, v. 130, n. 5, p. 1541-1546, 2006.
- KURO-O, Makoto *et al.* Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. **nature**, v. 390, n. 6655, p. 45-51, 1997.
- KUSABA, Tetsuro *et al.* Klotho is associated with VEGF receptor-2 and the transient receptor potential canonical-1 Ca<sup>2+</sup> channel to maintain endothelial

integrity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 45, p. 19308-19313, 2010.

LIU, Hongjun *et al.* Augmented Wnt signaling in a mammalian model of accelerated aging. **Science**, v. 317, n. 5839, p. 803-806, 2007.

MOREIRA, Maria Angela Fontoura. **A contribuição da oscilometria de impulso na obstrução das vias aéreas**. 2005. 64 f. Tese (Doutorado em Medicina) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

PEARCE, Neil *et al.* Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). **Thorax**, v. 62, n. 9, p. 758-766, 2007.

PIZZICHINI, Marcia Margaret Menezes *et al.* Recomendações para o manejo da asma da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia-2020. **Jornal brasileiro de pneumologia**, v. 46, 2020.

RAVIKUMAR, Priya *et al.*  $\alpha$ -Klotho protects against oxidative damage in pulmonary epithelia. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 307, n. 7, p. L566-L575, 2014.

SAMUEL, Chrishan S. *et al.* Relaxin deficiency in mice is associated with an age-related progression of pulmonary fibrosis. **The FASEB Journal**, v. 17, n. 1, p. 121-123, 2003.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia para o Manejo da Asma. **J Bras Pneumol**, v. 38, supl. 1, 2012.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA. IV Diretrizes brasileiras para o manejo da asma. **J bras pneumol**, v. 32, n. Suppl 7, p. S447-S474, 2006.

SOLÉ, Dirceu *et al.* A asma na criança e no adolescente brasileiro: contribuição do International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). **Revista Paulista de Pediatria**, v. 32, p. 114-125, 2014.

UNEMORI, Elaine N. *et al.* Relaxin induces an extracellular matrix-degrading phenotype in human lung fibroblasts in vitro and inhibits lung fibrosis in a murine model in vivo. **The Journal of clinical investigation**, v. 98, n. 12, p. 2739-2745, 1996.