

ADRIANA VIDAL SCHMIDT

**AVALIAÇÃO CLÍNICA, DA HIPERREATIVIDADE
BRÔNQUICA E DE UM MARCADOR DA
INFLAMAÇÃO NO TRATAMENTO
DA ASMA**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre. Curso de Pós-Graduação em Pediatria, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Nelson A. Rosário Filho

CURITIBA
1996

ADRIANA VIDAL SCHMIDT

AVALIAÇÃO CLÍNICA, DA HIPERREATIVIDADE BRÔNQUICA E DE UM
MARCADOR DA INFLAMAÇÃO NO TRATAMENTO DA ASMA

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Pediatria da Universidade Federal do Paraná, pela comissão formada pelos professores:

Orientador: Professor Dr. Nelson Augusto Rosário Filho
Setor de Ciências da Saúde, UFPR

Professor Dr. Roberto Pirajá Moritz de Araujo
Setor de Ciências da Saúde, UFPR

Professor Dr. Rodney Luiz Frare e Silva
Setor de Ciências da Saúde, UFPR

Curitiba, 20 de dezembro de 1996

Dedico este trabalho a grande figura humana e avô inesquecível que tive a alegria e o orgulho de ter tido, Sady Vidal (in memoriam).

Aos meus pais, Dyra e José Alberto, que, em detrimento de seus sonhos proporcionaram a realização dos meus, tornando-os nossos.

Ao meu irmão César para que persevere nos seus ideais.

Ao ex-colega de turma, companheiro na arte de ser mestrando e futuro esposo, Marcelo.

AGRADECIMENTOS

A autora agradece às pessoas e Instituições que colaboraram na formulação dessa dissertação:

- Prof. Dr. Nelson Augusto Rosário Filho. Prof. Adjunto do Departamento de Pediatria - UFPR e orientador deste trabalho.
- Prof. Dr. Rômulo Sandrini Neto. Coordenador do Curso de Pós-graduação - Mestrado em Pediatria - UFPR.
- Prof. Dr. Mitsuru Miyaki. Chefe do Departamento de Pediatria - UFPR.
- Prof. Dr. Izrail Cat. Responsável pela UTI Pediátrica. Departamento de Pediatria - Setor de Ciências da Saúde - UFPR.
- Prof. Martha Garcia Gomensoro de Sánchez Professora de Metodologia Científica. Departamento de Métodos e Técnicas da Educação - UFPR.
- Prof. Luiz Gonzaga Caleffe. Departamento de Estatística - UFPR.
- Prof. Dr. Francisco Moraes Silva . Professor de Ética Médica. Departamento de Medicina Forense - UFPR.
- Prof. Dra. Leide Parolin Marinoni. Departamento de Pediatria - UFPR.
- Prof. Dr. Dinarte José Giraldi e Prof. Dr. Noboro Miasaki, Departamento de Pediatria - UFPR.

- Dra. Loreni Kovalhuk e Dr. Flávio P. Ferrari, colegas mestrandos do Departamento de Pediatria - UFPR.
- Dr. Orlei Kantor Júnior, ex-mestrando do Departamento de Pediatria - UFPR.
- Bioquímico Antônio Franco e funcionárias do Laboratório do Departamento de Pediatria, Sra. Terezinha Souza Fogaça e Sra. Rozeli da Rosa Pinto.
- Sr. Carlos do Amaral, técnico do Laboratório de Função Pulmonar do HC - UFPR.
- Serviço de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas (S.A. C.) nas Sessões de Hematologia, Micologia, Parasitologia e Medicina Nuclear.
- Dra Kátia Sheyla Purin , bioquímicas Marissol Dominguez Muro , Gisele Pesqueiro F. Bordignon e técnicas Emília Marico Giussane e Adriana de Fátima Gabriel, da Sessão de Micologia do HC - UFPR.
- Bioquímicas Vivian Mara Cortes Camargo , Gislaine Piovesan e Flávia Kazumi Shibata, e funcionárias da Sessão de Proedimentos *in vitro* do Serviço de Medicina Nuclear do HC - UFPR.
- Bioquímica Lismara K. do Bomfim e funcionárias da Sessão de Hematologia do HC - UFPR.
- Secretárias Clara Lara de Freitas, Emília Regina Krainski, Cláudia Camargo da Silva e Maria Bernadete Oliveira, do Departamento de Pediatria do HC - UFPR.
- Isabel Hisae Tanaka, secretária do Serviço de Análises Clínicas do HC - UFPR.
- Bibliotecária Áurea Maria Costin e funcionários da Biblioteca de Ciências da Saúde - UFPR.
- Dr. Ricardo Bertini Renzetti e Dr. José Carlos Breviglieri, pela supervisão do trabalho.
- Mírian Reis e Claudete F. Seadi, bioquímicas responsáveis pelas dosagens de ECP.

- Maria Cristina Iecco, pela análise estatística.
- Boehringer de Angeli Química e Farmacêutica Ltda.
- Pharmacia Biotech do Brasil Ltda.
- Laboratório Weimann Ltda.
- Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq).
- Às crianças que concordaram em participar deste estudo e seus pais, pela contribuição indispensável à pesquisa e ao conhecimento médico.

SUMÁRIO

	LISTA DE TABELAS	viii
	LISTA DE FIGURAS	ix
	LISTA DE ABREVIATURAS	x
	RESUMO	xii
	ABSTRACT	xiii
1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	13
3	CASUÍSTICA	14
3.1	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	14
3.2	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	15
4	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	16
5	MÉTODOS	18
5.1	ANAMNESE ALERGOLÓGICA E EXAME FÍSICO.....	18
5.2	PROVAS DE FUNÇÃO PULMONAR.....	18
5.3	PROVAS DE BRONCOPROVOCAÇÃO	19
5.4	DIÁRIO / PICO DE FLUXO EXPIRATÓRIO.....	20
5.5	COLETA DE SANGUE	21
5.6	CULTURA PARA CÂNDIDA	21
5.7	PROTEÍNA CATIONICA EOSINOFÍLICA	22
5.8	DOSAGEM DE CORTISOL	22
5.9	CRONOGRAMA	23
5.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA	24
6	MATERIAIS	26
7	RESULTADOS	28
7.1	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	28
7.2	NÚMERO DE CRISES	30
7.3	SINTOMAS	31

7.4	ESPIROMETRIA	33
7.5	AVALIAÇÃO DOS DIÁRIOS DOS PACIENTES	35
7.6	PROVA DE METACOLINA	40
7.7	CORTISOL	44
7.8	PROTEÍNA CATIÔNICA EOSINOFÍLICA (ECP).....	44
7.9	HEMOGRAMA	45
7.10	CULTURA PARA CÂNDIDA	46
7.11	EXAME FÍSICO	48
7.12	AVALIAÇÃO GLOBAL DO TRATAMENTO	49
7.13	EFEITOS INDESEJÁVEIS	52
7.14	CORRELAÇÕES	54
8	DISCUSSÃO	57
9	CONCLUSÕES	66
	ANEXOS	67
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES E DA DOENÇA.	29
TABELA 2	NÚMERO DE CRISES DE ASMA NO DECORRER DO TRATAMENTO.....	30
TABELA 3	MEDIDAS DO VEF ₁ ANTES E APÓS O TRATAMENTO	34
TABELA 4	RESULTADOS DAS PROVAS DE METACOLINA (PC ₂₀)	41
TABELA 5	RESULTADOS DAS DOSAGENS DE ECP	45
TABELA 6	AVALIAÇÃO DO NÚMERO DE EOSINÓFILOS	46
TABELA 7	CULTURAS PARA CÂNDIDA	47
TABELA 8	INVERSÕES DOS RESULTADOS DAS CULTURAS PARA CÂNDIDA COM OS TRATAMENTOS	48
TABELA 9	EFEITOS INDESEJÁVEIS	53
TABELA 10	CORRELAÇÕES PRÉ-TRATAMENTO	54
TABELA 11	CORRELAÇÕES PÓS-TRATAMENTO	55

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	ESCORE CLÍNICO MENSAL	32
FIGURA 2	MÉDIA SEMANAL DOS VALORES DO PFE NOTURNO	37
FIGURA 3	MÉDIA SEMANAL DOS VALORES DO PFE DIURNO	38
FIGURA 4	PFE MÍNIMO MATINAL	39
FIGURA 5	PC ₂₀ PRÉ E PÓS-TRATAMENTO - FLUNISOLIDA.....	42
FIGURA 6	PC ₂₀ PRÉ E PÓS-TRATAMENTO - FENOTEROL	43
FIGURA 7	AVALIAÇÃO GLOBAL DO TRATAMENTO - FLUNISOLIDA	50
FIGURA 8	AVALIAÇÃO GLOBAL DO TRATAMENTO - FENOTEROL	51
FIGURA 9	CORRELAÇÃO ENTRE PC ₂₀ E FEV ₁	56

LISTA DE ABREVIATURAS

AMP	- Adenosina cíclica monofosfato.
BAL	- Lavado bronco-alveolar.
CS	- Corticoesteróides.
CVF	- Capacidade vital forçada.
C5a	- Fração 5ª do Complemento.
ECF	- Proteína catiônica eosinofílica.
EDN	- Neurotoxina derivada do eosinófilo.
EH	- Eosinófilo hipodenso.
EOS	- Eosinófilo.
EPO	- Peroxidase eosinofílica.
EPX	- Proteína eosinofílica X .
FEF 25-75%	- Fluxo expiratório forçado 25-75%.
FEN	- Fenoterol.
FLU	- Flunisolida.
GM-CSF	- Fator estimulador de colônias de macrófagos e granulócitos.
HRB	- Hiperreatividade brônquica.
ICAM-1	- Molécula de adesão intercelular.
IFN	- Interferon.
IgE	- Imunoglobulina E.
IgA	- Imunoglobulina A.
IL	- Interleucina.
IL-2	- Interleucina-2.
IL-3	- Interleucina-3.
IL-4	- Interleucina-4.
IL-5	- Interleucina-5.
IL-8	- Interleucina-8.
LT	- Leucotrienos.

MBP	- Proteína alcalina principal.
PC₂₀	- Concentração de Metacolina que à provocação é capaz de reduzir em 20% o VEF ₁ .
PD₂₀	- Dose de Metacolina que à provocação é capaz de reduzir em 20% o VEF ₁ .
PFE	- Pico de fluxo expiratório.
Th₂	- Linfócito T helper 2.
VA	- Vias aéreas.
VCAM-1	- Molécula de adesão vascular.
VEF₁	- Volume expiratório forçado no primeiro segundo.
VLA-4	- Antígeno de ativação tardia.

RESUMO

A proteína catiônica eosinofílica (ECP) tem sido considerada nos últimos anos um marcador útil da ativação eosinofílica em pacientes asmáticos. Comparou-se a variação do número de eosinófilos e dos valores de ECP em crianças com asma atópica moderada pré e pós-tratamento com corticosteróide inalatório (Flunisolida 1000 mcg/dia) e com Fenoterol 800 mcg/dia. Para tanto, foram selecionadas 58 crianças com asma atópica moderada, com idades entre 7 e 16 anos. Elas foram divididas em 2 grupos homogêneos, sendo que concluíram o estudo 52 pacientes. Vinte e dois pacientes receberam 3 meses de tratamento broncodilatador (Fenoterol spray) e 30 receberam tratamento antiinflamatório (Flunisolida spray). Todos foram submetidos a avaliações clínicas e espirométricas mensais, prova de broncoprovocação com Metacolina antes e após o tratamento, e receberam um diário para anotação dos sintomas e PFE . Dos parâmetros analisados, houve correlação significativa entre o VEF₁ e a broncoprovocação com Metacolina (PC₂₀). A diminuição dos níveis de ECP com o tratamento por corticóide inalatório foi significativa, bem como a redução no número de eosinófilos. No entanto, o tratamento com Fenoterol também reduziu os valores de ECP mas não o número de eosinófilos. Embora os níveis de ECP fossem elevados nestes asmáticos antes do tratamento, eles não se mostraram fiéis para expressar a inflamação, pois mesmo com o β_2 agonista também houve redução de seus níveis. Neste grupo de pacientes, discordante com alguns dados de literatura, a ECP não demonstrou ser um marcador útil da inflamação das V.A., por não ter refletido a atividade da doença nem ter apresentado correlação com parâmetros espirométricos objetivos.

ABSTRACT

The Eosinophilic Cationic Protein (ECP) has been considered in the past few years as an useful marker of disease activity in asthma. We compared the variation of the number of eosinophils and ECP levels in atopic asthmatic children before and after treatment with inhaled corticosteroid (Flunisolide 1000 mcg/day) and Fenoterol 800 mcg/day. Fifty eight asthmatic children aged 7 to 16 years were divided into two treatment groups, 52 concluded the study. Twenty two patients were treated with Fenoterol and 31 with Flunisolide for 3 months. They were submitted to clinical and spirometric monthly evaluations, and received a diary for symptom score and peak-flow measurements (morning and evening). Among the analyzed parameters, we noted a significant correlation between the FEV₁ and the PC₂₀. The decrease in ECP levels with corticosteroid treatment was significant, as was the decrease in eosinophil absolute number, although Fenoterol treatment also reduced the ECP levels without affecting the eosinophil number. Even though the ECP levels were elevated in these patients before treatment, they didn't appear to be useful to express the airway inflammation, once bronchodilator treatment (Fenoterol) reduced its levels. In this group of asthmatic patients, discording to some literature data, the ECP level wasn't an useful marker of airway inflammation, neither reflecting disease activity nor presenting any correlation with spirometric parameters.

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1	PACIENTES INCLUÍDOS NO ESTUDO	
ANEXO 2	CONSENTIMENTO INFORMADO	
ANEXO 3	DIÁRIO DE SINTOMAS E PEAK-FLOW	
ANEXO 4	HISTÓRIA PESSOAL DE ATOPIA	
ANEXO 5	HISTÓRIA FAMILIAR DE ATOPIA	20
ANEXO 6	AMBIENTE	21
ANEXO 7	EVOLUÇÃO DO NÚMERO DE CRISES	22
ANEXO 8	EVOLUÇÃO DA SOMA DOS ESCORES DOS SINTOMAS SUBJETIVOS (TOSSE, SIBILOS, DISPNEIA, ASMA DE EXERCÍCIO, RISO/CHORO)	31
ANEXO 9	EVOLUÇÃO DO VOLUME EXPIRATÓRIO FORÇADO NO 1º SEGUNDO (VEF ₁) EM LITROS	
ANEXO 10	EVOLUÇÃO DA CAPACIDADE VITAL FORÇADA (CVF) EM LITROS	
ANEXO 11	EVOLUÇÃO DO FLUXO EXPIRATÓRIO FORÇADO (FEF 25- 75%) EM LITROS	
ANEXO 12	AVALIAÇÃO DO DIÁRIO DO PACIENTE	
ANEXO 13	DOSAGEM DE CORTISOL	
ANEXO 14	HEMOGRAMA	
ANEXO 15	PARÂMETROS AVALIADOS NO EXAME FÍSICO	
ANEXO 16	PRINCIPAIS PARÂMETROS AVALIADOS - VEF-1 PD20 EOS	

1 INTRODUÇÃO

A asma é a doença crônica mais comum da infância, com um índice de prevalência de 5 a 12% na maioria dos países industrializados (CANNY & LEVISON, 1990, p. 406). Esta prevalência tem aumentado nos últimos anos, assim como a morbidade e mortalidade da doença (WARNER et al., 1989, p. 1065). No Hospital de Clínicas de Curitiba, a asma é responsável por 5% das consultas Pediátricas (ROSÁRIO FILHO et al., 1986, p. 57).

As características patológicas da asma incluem a deposição de colágeno sub-membrana basal, descamação epitelial, hipertrofia da musculatura lisa, hiperplasia das glândulas mucosas, presença de rolhas de muco e edema da sub-mucosa com infiltração leucocitária, própria do processo inflamatório celular. Concomitantemente ocorre a disjunção do epitélio das vias aéreas, edema e espessamento das paredes, com hipertrofia da musculatura lisa, das glândulas secretoras de muco e infiltração de células inflamatórias (LIEBERMAN, 1994, p. S8). Todos têm sido implicados na patogênese da hiperresponsividade brônquica (HRB), uma característica essencial da asma (AHLSTEDT et al., 1992, p. 100). A contração dos músculos lisos das vias aéreas (V.A.), hipersecreção de muco, edema e estreitamento das paredes da V.A., a presença de proteínas séricas e células inflamatórias e seus produtos corroboram para a progressão da HRB (PUERINGER & HUNNINGHAKE, 1992, p. 32S).

A perda do epitélio das vias aéreas pode aumentar a reatividade a estímulos inespecíficos através da exposição dos receptores irritantes dos nervos e aumentar o tônus de

repouso da musculatura lisa (a disjunção do epitélio tem sido associada com a liberação de produtos dos mastócitos que causam contração da musculatura lisa das vias aéreas).

Estudos com o lavado bronco-alveolar (BAL) e histopatológico de biópsias pulmonares têm demonstrado a presença de inflamação nas V.A. de asmáticos. Uma característica fundamental da inflamação asmática é a presença de elevado número de eosinófilos ativados na mucosa brônquica. O eosinófilo tem funções importantes no processo inflamatório que é responsável pela doença asmática. A extensão da ativação dos eosinófilos está relacionada à gravidade da asma (SEMINARIO & GLEICH, 1994, p. 860; VENGE, 1995, p. 34) e é provável que os eosinófilos estejam fortemente envolvidos, e talvez sejam diretamente responsáveis por muitos dos sinais e sintomas da asma (VENGE, 1995, p. 34). Entretanto, o mecanismo da eosinofilia, da ativação eosinofílica e o papel que o eosinófilo desempenha na reatividade brônquica não estão ainda completamente entendidos.

Eosinófilos e seus produtos têm sido identificados no escarro, no fluido de lavado broncoalveolar (BAL) e material de biópsia de pacientes com asma. Além disso, o número destas células e a quantidade de seus produtos parecem se correlacionar com a intensidade da HRB (PUERINGER & HUNNINGHAKE, 1992, p. 33S - 34S; BOUSQUET et al., 1990, p. 1036).

Os eosinófilos se acumulam no tecido pulmonar dos pacientes com asma, especialmente durante uma exacerbação da doença. Além disso, uma quantidade aumentada de grânulos protéicos dos eosinófilos indicam que eles foram ativados. Os grânulos protéicos dos eosinófilos causam danos às células epiteliais, similares àqueles vistos em biópsias de pacientes com asma (HAKANSSON et al., 1995, p. 941).

Os eosinófilos circulantes têm sido usados na monitorização do tratamento da asma, e o número de eosinófilos parece estar relacionado à gravidade da asma. Em grupos de pacientes

com asma, há correlação entre a responsividade à Metacolina ou Histamina e as contagens de eosinófilos no sangue (DAHL, 1993, P. 77).

O eosinófilo é produzido na medula óssea, sendo uma célula tissular, e é distribuído aos tecidos pela corrente sanguínea. Os eosinófilos e leucócitos são recrutados da medula óssea para a parede brônquica através de uma série de processos. Em seguida às inalações de alérgenos, citocinas e fatores quimiotáticos são liberados pelas células epiteliais, mastócitos e linfócitos, os quais aumentam a eosinopoiese, ativam o metabolismo eosinofílico, aumentam a sua quimiotaxia, a expressão de moléculas de adesão pelas células endoteliais brônquicas e levam à expressão aumentada dos seus ligantes pelos eosinófilos. Na mucosa brônquica, os eosinófilos são ativados e liberam mediadores e citocinas que amplificam o processo inflamatório e aumentam a responsividade brônquica e os sintomas asmáticos (LAVIOLETTE, et al., 1994, p. 288).

A razão do acúmulo preferencial dos eosinófilos nas vias aéreas dos asmáticos ainda não foi estabelecida. O mecanismo ou mecanismos responsáveis pelo acúmulo seletivo de eosinófilos no tecido pulmonar são essenciais para o desencadeamento do processo inflamatório em pacientes com asma, por serem o pré-requisito para a presença de eosinófilos no tecido pulmonar.

O mecanismo que regula a atividade e a acumulação dos eosinófilos no pulmão asmático é provavelmente comandado por linfócitos T helper 2 (Th₂). Uma consequência da ativação desta célula é a produção de citocinas tais como interleucina-4 (IL-4) e interleucina 5 (IL-5). A IL-4 promove a indução da produção de IgE pelas células Beta e a ativação dos mastócitos. A IL-5 é a principal citocina eosinofílica - estimula a produção de eosinófilos, afeta muitas funções da maturação eosinofílica e mantém sua viabilidade (VENGE, 1995, p. 34).

Níveis aumentados de atividade quimiotática no lavado bronco-alveolar foram obtidos de pacientes com asma alérgica durante a estação polínica. A atividade quimiotática, entretanto, atraiu ambos, eosinófilos e neutrófilos. A aderência dos eosinófilos às células endoteliais das paredes dos vasos sanguíneos é um requisito absoluto para a migração dos eosinófilos nos tecidos, em resposta às substâncias quimiotáticas. A adesão dos granulócitos em geral é mediada pela indução e ativação dos receptores de aderência nos granulócitos e células endoteliais. Os eosinófilos são capazes de aderir aos receptores de aderência endotelial P-Selectina, E-Selectina, Molécula de Adesão Celular Vascular (VCAM-1) e Molécula de Adesão Intercelular (ICAM-1). A adesão ao VCAM-1 é exclusiva para os eosinófilos e mediada através do antígeno de ativação tardia (VLA-4) nos eosinófilos (HAKANSSON et al., 1995, p. 941-950). O VCAM-1 e o VLA-4 estão implicados na adesão dos eosinófilos *in vitro*. A adesão leucocitária e a migração é induzida por um número de citocinas como C5a, IL-8, leucotrieno B₄ (LTB₄), IL-2, e IL-5 que promoveriam a migração do eosinófilo (SEMINARIO & GLEICH, 1994, p. 861).

As citocinas que promovem o recrutamento dos eosinófilos estão envolvidas na ativação dos mesmos: IL-5, GM-CSF e IL-3. A cultura dos eosinófilos com esses fatores gera células hipodensas ou ativadas e com sobrevida aumentada. A IL-5 pode levar as células Beta a produzirem IgA e pode iniciar a degranulação dos eosinófilos após a ativação com esta imunoglobulina. Outros potentes ativadores dos eosinófilos incluem C5a, fator ativador de plaquetas e IFN- α e IFN - γ (SEMINARIO & GLEICH, 1994, p. 862).

Eosinófilos isolados do sangue venoso de pacientes com asma mostraram constituir-se de uma população mais heterogênea em termos de densidade. Acima de 40% dos eosinófilos periféricos foram descritos como hipodensos (densidade < 1.080 mg/ml). Esses eosinófilos têm sido considerados como formas imaturas ou *ativadas*. Os eosinófilos hipodensos obtidos

de pacientes com asma demonstram uma capacidade aumentada de liberar mediadores tais como leucotrienos C₄. Eosinófilos ativados estão presentes na sub-mucosa das vias aéreas dos asmáticos logo abaixo da camada de colágeno sub-epitelial e no epitélio (EVANS et al., 1993, p. 649).

O conteúdo protéico dos eosinófilos humanos é dominado pela presença de quatro proteínas maiores, a Proteína Catiônica Eosinofílica (ECP), a Peroxidase Eosinofílica (EPO), a Proteína Eosinofílica X (EPX) ou Neurotoxina Derivada do Eosinófilo (EDN) e a Proteína Alcalina Principal (MBP) (VENGE & PETERSON, 1987, p. 164).

A principal característica destas 4 proteínas é seu ponto isoelétrico elevado, algumas delas com pH acima de 11. Os grânulos protéicos têm a capacidade de causar dano às células. No trato respiratório, a exposição das células epiteliais a concentrações micromolares de MBP produziram dano extenso e mudanças histopatológicas como as vistas na asma brônquica, afetando também a função mucociliar (prejudicando o batimento ciliar). A instilação de pequenas quantidades de ECP produziram quadros muito semelhantes. Por técnicas imunohistoquímicas, ambas ECP e MBP foram demonstradas no tecido pulmonar de pacientes que foram a óbito por asma. A coloração foi sugestiva de deposição extracelular de proteínas, indicando a degranulação dos eosinófilos no trato respiratório (VENGE & PETERSON, 1987, p. 164-168).

A ECP sérica parece ser dependente da distribuição de eosinófilos no sangue e na habilidade das células de degranularem e secretarem suas proteínas. O processo de degranulação pode ser visto como uma reação em cascata, onde quanto mais eosinófilos ativados na amostra, maiores quantidades de ECP serão secretadas, resultando em níveis proporcionalmente mais elevados de ECP comparado com o número de eosinófilos. A ECP sérica pode ser um indicador muito sensível da asma (DAHL, 1993, p. 78).

A concentração normal de ECP no soro humano varia de 5 a 15 microgramas por litro, e em pacientes com eosinofilia, pode alcançar concentrações de até 20,0 mcg/l, mas são raras (VENGE & PETERSON, 1987, p. 171).

As proteínas citotóxicas contidas nos grânulos dos eosinófilos são liberadas para o meio extracelular por um processo de degranulação estimulado pela IL-5, e supõe-se que esta seja produzida nas vias aéreas de asmáticos e esteja envolvida na progressão da inflamação e na *up-regulation* das moléculas de superfície IL-2 e de adesão (DAHL, 1993, p. 77).

Estudos do lavado bronco-alveolar de asmáticos indicaram que os níveis de marcadores eosinofílicos como a ECP estão aumentados e são diretamente relacionados não apenas à gravidade da doença, mas também ao tratamento da asma, com níveis elevados relacionados ao aumento da expressão da atividade da doença (VENGE, 1994, p. 140).

Devido a considerações de ordem ética e prática, estudos de crianças asmáticas utilizando lavado bronco-alveolar têm sido raramente realizados. A medida sérica das proteínas eosinofílicas, incluindo ECP e EPX, têm sido propostas como um acesso não-invasivo para avaliação da inflamação pulmonar em crianças asmáticas (ZIMMERMAN, 1994, p. 143). As crianças parecem reagir com níveis muito mais elevados de ECP que adultos (VENGE, 1993, p. 129).

A contagem de eosinófilos no sangue tem, por várias décadas, sido apreciada como instrumento útil para indicar a gravidade da doença, possivelmente porque refletem o grau e a extensão da inflamação no pulmão do asmático. A ECP sérica pode refletir não apenas o número de eosinófilos, mas também o seu grau de ativação. A ECP sérica é, portanto, de vantagem potencial como instrumento para monitorizar a asma brônquica e como guia para ajustes terapêuticos (DAHL, 1993, p. 79; ZIMMERMAN, 1994, p. 143-144; ZIMMERMAN & TSUI, 1993, p. 129-131; VENGE, 1994, p. 140). Os marcadores da inflamação, como a

ECP, têm tornado possível o estabelecimento de parâmetros objetivos da inflamação (MIDANDER, 1993, p. 13).

O aumento nos níveis de ECP encontrados em vários fluidos tem demonstrado que os eosinófilos também estão envolvidos em uma grande variedade de doenças, tais como artrite reumatóide, síndrome do desconforto respiratório do adulto, asma, rinite, fibrose pulmonar idiopática, otite média crônica, doença celíaca, doenças inflamatórias intestinais, meningites, convulsões, esclerose múltipla, cistite crônica, psoríase e eczema. Medidas de ECP no soro também sugerem envolvimento dos eosinófilos na dermatite atópica, vasculite, esclerodermia, espondilite anquilosante, infarto agudo do miocárdio, infecções bacterianas agudas e doença de Hodgkin. As mais difundidas aplicações da ECP sérica tem sido em asma e dermatite atópica (VENGE, 1993, p. 129).

Os agonistas β -adrenérgicos são compostos de estrutura química simples e são úteis no tratamento das doenças pulmonares caracterizadas por obstrução reversível das V.A. Eles agem através da estimulação dos receptores β_1 e β_2 nas células, resultando em alterações na adenil-ciclase e elevações na adenosina cíclica monofosfato (AMP). Seus efeitos nas V.A. são:

- a) relaxamento da musculatura lisa com broncodilatação;
- b) aumento na frequência do batimento ciliar;
- c) redução na viscosidade do muco.

Eles também têm ações significantes no coração, fígado, e músculos esqueléticos (Mc. FADDEN, 1995, p. 641).

Os broncodilatadores (β_2 -agonistas inalados) são freqüentemente utilizados para tratar os sintomas dos pacientes com asma leve ou episódica, reservando os corticosteróides inalados, que diminuem a inflamação e a HRB, para pacientes com sintomas mais graves. Estudos têm demonstrado, entretanto, que mesmo pacientes com asma leve apresentam

inflamação crônica das vias aéreas (RACHELEFSKY & SIEGEL, p. 130, 1992). Este conceito tem tido profundo efeito no manejo clínico da asma.

O uso das drogas antiinflamatórias na asma é atualmente o tratamento de primeira linha, com a expressão clínica da inflamação sendo variável, mantendo-se uma correlação de proporcionalidade entre a inflamação e a intensidade e frequência dos sintomas. A ação antiinflamatória dos corticosteróides sistêmicos é devida à inativação das células endoteliais, impedindo a migração de neutrófilos, e também inibição da migração de outras células para os tecidos. Os corticoesteróides (CS) também têm intensa ação sobre a produção de substâncias que provocam inflamação. Assim sendo, os principais mecanismos de ação dos CS são:

- a) interferência no metabolismo do ácido araquidônico e na síntese de leucotrienos e prostaglandinas;
- b) prevenção da migração e ativação das células inflamatórias;
- c) aumento da responsividade dos β -receptores da musculatura lisa dos brônquios.

Corticosteróides inalatórios são drogas anti-inflamatórias potentes muito efetivas no controle dos sintomas da asma e são considerados o tratamento de escolha. Entretanto, os mecanismos básicos através dos quais eles diminuem a inflamação nas V.A. e melhoram o controle da asma não são completamente entendidos. Seus efeitos na asma poderiam ocorrer através da inibição da liberação brônquica de fatores quimiotáticos e citocinas e, conseqüentemente, o recrutamento e ativação dos eosinófilos (LAVIOLETTE et al., 1994, p. 288). Eles podem levar à inibição da transcrição de citocinas como IL-3 e IL-5 e aumento na síntese da lipocortina-1, que, inibindo a fosfolipase A_2 , reduz a produção dos metabólitos do ácido araquidônico e aumenta a responsividade dos β -receptores (PRICE, 1995 p. S25). A administração de corticosteróides inalatórios por várias semanas pode inibir as fases imediata e

tardia após a exposição a alérgenos, e diminuir a hiperresponsividade brônquica à Histamina e à Metacolina.

A inibição da ativação eosinofílica pode ser refletida por uma redução no número de eosinófilos hipodensos e pode estar associada à melhora na responsividade brônquica após a corticoterapia inalatória (EVANS et al., 1993, p. 649). A terapêutica com corticosteróides inalatórios inibe o número de eosinófilos circulantes em asma e estudos *in vitro* têm mostrado que os esteróides inibem a indução de eosinófilos hipodensos humanos (EVANS et al., 1993, p. 643). Os corticosteróides também inibem a ativação das células Th2 e a eosinofilia brônquica e suprimem a inflamação associada a eosinófilos por um efeito na IL - 5 (SEMINARIO & GLEICH, 1994, p. 862).

É sabido que a terapêutica com corticosteróides pode suprimir o eixo hipotálamo-hipofisário a nível hipotalâmico e pituitário, supressão essa mais comumente observada com corticoterapia sistêmica. O grau de supressão é proporcional à dose administrada, número de doses e via de administração, sendo muito menos comum quando o corticosteróide é administrado topicamente. Doses de corticosteróides inalatórios (Beclometasona) de 400µg/d mostraram não suprimir a excreção basal de cortisol, e doses até 800µg/d não tiveram efeito nos marcadores do metabolismo ósseo (PRICE, 1996, p. S25-S26).

A flunisolida é um potente glicocorticóide tópico, fluorado na posição 6 e polar devido a uma acetona nas posições 16 e 17. A potência sistêmica é equivalente à da triamcinolona, aproximadamente 5 vezes a potência do cortisol. Esta droga tem sido usada em aerossol para asma (WEBB; MULLARKEY & FREEDMAN, 1979, p. 80 - 82).

A flunisolida em aerossol em doses de 0,5 mg 2 vezes ao dia pareceu ser topicamente ativa e diminuiu as necessidades de corticóide oral sem efeitos adversos aparentes (SHAPIRO et al., 1981, p. 671).

Estudos sugerem que a flunisolida é efetiva em melhorar a sintomatologia e é mais efetiva que a Beclometasona para a qual é vista como uma alternativa viável (DRY et al., 1985, p. 289-293).

Quando a efetividade das intervenções em asma são avaliadas no âmbito de pesquisa, a manifestação fisiológica da asma - obstrução variável das vias aéreas - é medida objetivamente por alguns dos testes de função pulmonar seguintes:

- a) espirometria basal;
- b) prova broncodilatadora;
- c) provas de provocação brônquica;
- d) monitorização domiciliar do Pico do Fluxo Expiratório (*Peak-Flow*);
- e) outros testes de função pulmonar, que podem trazer dados confirmatórios.

Os resultados de todos os testes de função pulmonar acima estariam correlacionados uns aos outros e com escores de sintomas e medicação utilizados em grupos de pacientes com asma de diferentes gravidades. Desde que não existe um teste *padrão ouro* com o qual medir a gravidade da asma, todos estes testes contribuem com informações adicionais quando se avalia evolutivamente a asma em estudos clínicos (ENRIGHT, LEBOWITZ & COCKROFT, 1994, p.S9).

Testes de função pulmonar- São instrumentos importantes no diagnóstico e manejo da asma. Especificamente, os testes de função pulmonar constituem um método objetivo e reprodutível para avaliar a doença pulmonar e seguir a resposta à terapia, permitindo ao médico seguir uma medida diretamente associada com a doença pulmonar em processo (MUELLER & EIGEN, 1992, p. 1243). A espirometria pode ser realizada em algumas crianças já a partir do 5 ou 6 anos de idade.

Prova broncodilatadora - A resposta a um β -adrenérgico inalado em asmáticos indica um componente reversível da obstrução em vias aéreas (V.A.) Uma melhora de 10%, na Capacidade Vital Forçada (CVF) e Volume Expiratório Forçado no 1º segundo (VEF_1), de 25% no Fluxo Expiratório Forçado entre 25-75% da expiração (FEF 25-75%) e de 12% para o Pico de Fluxo Expiratório (PFE) é considerada significativa (MUELLER & EIGEN, 1992, p. 1249). O teste é feito 10 a 15 minutos após a inalação do broncodilatador. MUELLER & EIGEN recomendam o uso de altas doses (400 microgramas) para garantir que não haja resposta pobre em virtude de dose insuficiente.

Provas de Broncoprovação - As medidas da hiperreatividade brônquica (H.R.B.) têm sido tradicionalmente empregadas para identificar indivíduos que tenham ou estão em risco de desenvolver asma ou doenças afins. A Histamina e a Metacolina têm sido usadas com grande frequência, existindo um elevado grau de concordância entre elas.

A variável mais utilizada para quantificar a magnitude da resposta é a concentração do agonista que induz uma queda pré-fixada na função pulmonar (20% de redução no VEF_1). A resposta é expressa como uma dose provocativa (PD_{20}) ou concentração provocativa (PC_{20}). Uma representa a dose cumulativa dispensada e a outra, a concentração administrada. Na realidade, ambas medem o mesmo fenômeno e quando alteradas são geralmente consideradas como indicativas da presença de hiperreatividade brônquica (HRB), sendo potencialmente concordantes com o diagnóstico da asma dentro do contexto clínico apropriado (SMITH & MCFADDEN, 1995, p. 454-456).

Testes da responsividade brônquica a agentes inalados têm sido exaustivamente utilizados na investigação da asma tanto para diagnóstico quanto para pesquisa. Para propósitos de pesquisa, a Metacolina é mais útil por ter menos efeitos colaterais mesmo em

altas doses (*flush* facial e cefaléia), permitindo que menores graus de HRB possam ser quantificados (TRIGG & DAVIES, 1989, p. 285).

PFE - O pico de fluxo expiratório é o maior fluxo obtido na expiração forçada após inspiração. As medidas do PFE são úteis no manejo da asma, com benefícios diversos da espirometria. Ele é de fácil manuseio e o equipamento é barato e portátil. O amplo desvio-padrão e o fato de ser dependente de esforço reduz a utilidade de um valor isolado, mas o PFE é particularmente útil como medida seriada no domicílio e tem demonstrado boa correlação com as medidas do FEV₁. A técnica é similar a da espirometria, registrando a melhor de três tentativas, não sendo, entretanto, necessária a expiração completa. Para determinar a variabilidade diurna, medidas pela manhã e à noite no mesmo horário a cada dia são indicadas (MUELLER e EIGEN, 1992, p. 1252-1253).

Crianças podem ser treinadas por irmãos ou pais, de tal forma que algumas são capazes de utilizar o PFE desde a idade de 4 anos (LEBOWITZ, 1991, p.171). Em um estudo feito com 55 crianças asmáticas, a medida do PFE demonstrou ser um método muito útil que deveria tornar-se rotina no manejo de todos os pacientes com asma rebelde ao tratamento (BATTU, COLLINS-WILLIAMS & ZALESKEY, 1982, p. 37).

2 OBJETIVOS

- a) Determinar os níveis de ECP, um marcador sérico da inflamação das vias aéreas, em crianças asmáticas;
- b) correlacionar os níveis de ECP com: evolução clínica, PFE, provas de função pulmonar, grau de hiperresponsividade brônquica e número de eosinófilos no sangue;
- c) verificar os resultados do tratamento antiinflamatório no controle da doença;
- d) relacionar o resultado do tratamento aos níveis de ECP.

3 CASUÍSTICA

Foram selecionadas 58 crianças e adolescentes com asma diagnosticada segundo critérios do NATIONAL HEART, LUNG AND BLOOD INSTITUTE 1995., clinicamente estáveis, mas dependentes do uso contínuo de medicação para controle do quadro (anexo 1).

3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- a) Asma atópica moderada, com sintomas persistentes ou crises frequentes;
- b) idade entre 7 e 16 anos, de ambos os sexos;
- c) teste cutâneo alérgico, por punção, positivo para o *Dermatophagoides pteronyssinus*;
- d) VEF₁ basal menor que 80% dentro de 3 meses antes da consulta inicial e com resposta broncodilatadora de pelo menos 10% após o uso de β_2 -adrenérgico inalatório;
- e) habilidade e compreensão para uso do aerossol e da realização de provas de função pulmonar e para monitorar o Pico de Fluxo Expiratório (PFE);
- f) pacientes em acompanhamento nos ambulatórios de Alergia, Imunologia e Pneumologia do Departamento de Pediatria - UFPR.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Médica do Hospital de Clínicas e todos os pais e pacientes foram informados da natureza do estudo e consentiram em participar com liberdade de abandoná-lo se assim sentissem necessário (anexo 2).

Classificamos a asma de acordo com os critérios do NATIONAL HEART, LUNG AND BLOOD INSTITUTE 1995, segundo o qual a combinação das medidas dos sintomas e função pulmonar oferecem uma classificação útil da gravidade. A asma pode então ser classificada como intermitente, leve persistente, moderada persistente e grave persistente. Todos os pacientes selecionados se enquadravam no grupo asma moderada persistente, por apresentarem sintomas diários, exacerbações afetando o sono ou atividades diárias, sintomas noturnos semanais, uso diário de medicação sintomática, e FEV₁ ou PFE entre 60 e 80%. Por serem enquadrados na doença moderada persistente, todos tinham necessidade de medicação contínua. (GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA, 1995, p. 48-60).

3.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- a) Evidências clínicas de outras doenças relevantes ou parasitoses;
- b) infecções respiratórias ou crises graves de asma nas últimas 6 semanas;
- c) uso de cromoglicato, cetotifeno, anti-histamínicos e corticosteróides orais nas últimas 4 semanas.

4 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL: ESTUDO PROSPECTIVO COMPARATIVO COM GRUPO CONTROLE

Os pacientes foram divididos em 2 grupos, homogêneos quanto a gravidade da doença, idade e sexo:

grupo 1 (n=31): recebeu tratamento antiinflamatório (flunisolida 250 microgramas 2 *puffs* 2 vezes ao dia), e medicação de alívio (Fenoterol) conforme a necessidade;

grupo 2 ou controle (n=27): recebeu tratamento broncodilatador (fenoterol 100 microgramas 2 *puffs* 4 vezes ao dia).

Todos foram submetidos a:

- teste de provocação brônquica com Metacolina em doses crescentes (PC₂₀) no início e ao final do estudo;
- avaliação do número de eosinófilos, hemograma, e exame parasitológico de fezes no início e ao final do estudo;
- culturas de orofaringe para *Cândida* pré e pós-tratamento;
- dosagens de ECP (fluoroenzima imunoensaio) e cortisol plasmático pré e após 3 meses de tratamento;
- registro diário de Pico de Fluxo Expiratório (PFE) pela manhã e ao deitar, antes das medicações (melhor de 3 tentativas);
- todos os pacientes receberam um diário para anotação dos sintomas e necessidade de medicação adicional e registros de PFE. O diário era preenchido durante todo o tratamento,

pela manhã e a noite, anotando a ocorrência de tosse, sibilância, dispnéia, número de vezes que utilizou broncodilatador (medicação de apoio), e o pico de fluxo expiratório. Os sintomas relacionados à asma: tosse, sibilos, dispnéia, asma de exercício e riso/choro, também foram avaliados quanto a sua intensidade, utilizando-se a seguinte escala de valores: 0 = ausente, 1 = leve, 2 = moderado e 3 = intenso (anexo 3);

- consultas mensais com coleta de dados dos diários, avaliação clínica e escore clínico baseado nos sintomas referidos pelos pacientes no último mês (tosse, sibilos, dispnéia, asma de exercício e riso-choro), similar ao escore preenchido pelos pacientes no domicílio e com a mesma escala de valores.

Seis pacientes previamente selecionados não concluíram o estudo, sendo excluídos da avaliação estatística, restando para análise 52 pacientes: 22 que receberam Fenoterol e 30 que receberam Flunisolida.

- Pac. nº 18 (Fenoterol): abandonou o tratamento na 2ª consulta (não tolerou o medicamento, referindo dispnéia, taquicardia e tremores quando do uso da medicação);
- Pac nº 35 e 37 (Fenoterol): não compareceram à última consulta;
- Pac nº 39 e 40 (Fenoterol): só compareceram à 1ª consulta;
- Pac nº 51 (Flunisolida): apresentou crise asmática, recebendo corticóide parenteral antes da última consulta.

5 MÉTODOS

5.1 ANAMNESE ALERGOLÓGICA E EXAME FÍSICO

Os indivíduos do estudo foram submetidos inicialmente a anamnese alergológica, procurando detectar doenças alérgicas associadas e antecedentes familiares de doenças alérgicas, além de exame clínico. Foram realizados testes cutâneos de leitura imediata para *Dermatophagoides pteronyssinus*, pela técnica de puntura (PEPYS, 1975, p. 412). O teste foi considerado positivo quando a pápula era > 3mm de diâmetro.

5.2 PROVAS DE FUNÇÃO PULMONAR

Foram realizadas várias espirometrias até que houvessem 3 provas com valores de VEF₁ com diferença menor que 5% entre elas (MUELLER & EIGEN, 1992, p. 1246-1247; ATS, 1987, p. 1289), e escolhido o melhor valor para a medida da capacidade vital forçada (CVF), volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF₁) e o fluxo expiratório forçado entre 25% e 75% da capacidade vital forçada (FEF 25-75%) (KANNER et al., 1983, p. 723; ATS, 1987, p. 1291). A prova broncodilatadora foi realizada com erogações de salbutamol na dose de 400 microgramas por meio de aerocâmara com 750 ml de volume (Fisonair).

Foram observadas as recomendações da ATS (1987) para estes procedimentos e os valores de referência estabelecidos por POLGAR & PROMADHAT (1971).

5.3 PROVAS DE BRONCOPROVOCAÇÃO

Existem muitas técnicas para testes de broncoprovocação. Um método padronizado por COCKROFT e col., empregando o volume corrente, foi utilizado neste estudo (TRIGG & DAVIES, 1989, p. 279-298).

Foram registrados o volume expiratório forçado (VEF_1) e capacidade vital forçada (CVF) basal. Se o VEF_1 estivesse $< 60\%$ do predito para idade e altura, a provocação era cancelada. A *European Society for Clinical Respiratory Physiology* recomenda que pacientes com $VEF_1 < 80\%$ não deveriam ser submetidos à broncoprovocação para propósitos clínicos, entretanto, na experiência de TRIGG e DAVIES, estas provocações podem ser feitas com segurança em pacientes com VEF_1 mais baixo, desde que o índice VEF_1 / CVF esteja pelo menos em 60% (TRIGG & DAVIES, 1989, p. 296).

O paciente era solicitado a respirar normalmente através de uma peça bucal inicialmente uma solução de soro fisiológico a $0,9\%$ (SF), como controle. O nebulímetro era operado durante um período de 2 minutos a um fluxo de $8l/min$, num volume total de 3 ml de solução à temperatura ambiente (com nebulizador com fluxo de $8 \pm 1l / min$) (COCKCROFT, 1985, p. 530). O VEF_1 era registrado 180 segundos após o término da inalação. Seguindo uma resposta insignificante ao controle, a provocação era repetida utilizando doses seriadas de Metacolina ($0,025 - 0,25 - 2,5 - 10$ e 25 mcg/ml), até uma queda de 20% no VEF_1 do valor de controle ou a máxima concentração alcançada.

O teste era interrompido se o VEF₁ diminuísse 20% ou mais dos valores basais .A concentração requerida para produzir uma queda de exatamente 20% no VEF₁, a PC₂₀, era então calculada por interpolação linear dos últimos 2 pontos da curva dose-resposta e seu valor era transformado em logaritmo para linearidade. A broncoconstrição era então revertida com a administração de 400 microgramas de salbutamol via erogação .

5.4 DIÁRIO / PICO DE FLUXO EXPIRATÓRIO

Nos diários recebidos à cada consulta (anexo 3), os pacientes anotavam pela manhã e à noite a ocorrência de sintomas como tosse, sibilos e dispnéia, graduados em intensidade de 0 (ausente = sem sintomas), 1 (leve = sintoma pouco intenso, com atividades habituais não prejudicadas), 2 (moderado = sintomas prejudicaram as atividades, ou acordou mais de uma vez por causa da asma), ou 3 (intenso = sintomas impedindo a atividade habitual ou sono). No mesmo diário, eram anotados o PEF e a necessidade de medicação adicional (broncodilatador).

Na análise final foi avaliado o pico de fluxo expiratório mínimo matinal, em porcentagem do melhor valor, para cada semana de tratamento. Este valor foi obtido a partir do menor valor do PFE matinal de cada semana dividido pelo melhor (maior) valor obtido pelo paciente, matinal ou noturno, no decorrer das 12 semanas, e multiplicado por 100 [(menor valor ÷ melhor valor) × 100].Este índice foi escolhido por ter sido considerado o mais adequado entre 9 índices avaliados no estudo de Hellen e colaboradores, que recomenda o PFE mínimo matinal como melhor índice de PFE e labilidade das VA em pacientes com asma estável, porque foi o que melhor se correlacionou com a HRB. (REDDEL et al, 1995, p. 1.320-25).

5.5 COLETA DE SANGUE

As amostras de sangue foram obtidas entre as 8:00 e 9:00 horas. Foram colhidas por meio de agulhas e seringas descartáveis, amostras de 20 ml de sangue venoso distribuídas em frascos não heparinizados, sendo 10 ml para a dosagem da ECP, 5 ml para a dosagem do cortisol e 5ml para o hemograma, acondicionado em frasco próprio, com anticoagulante. O hemograma foi realizado pelo sistema Coulter e a contagem diferencial manual de 100 células. O hemograma e o cortisol eram imediatamente enviados ao laboratório.

O sangue para determinação de ECP foi deixado em temperatura ambiente durante 60 minutos para a retração do coágulo e posteriormente fracionado por centrifugação (10 min) e congelado a - 20°C até a realização do exame.

5.6 CULTURA PARA CÂNDIDA

Simultaneamente à coleta do sangue, foram obtidas amostras pela técnica de esfregaço, de 3 regiões diferentes da cavidade oral (mucosa oral - na face interna das bochechas, pilar amigdaliano e sublingual), utilizando-se 3 swabs, basal e após o tratamento. O material era imediatamente enviado ao laboratório, para exame micológico direto e cultura para Cândida em agar Sabouraud, à temperatura ambiente por 3 semanas. O crescimento de Cândida no agar era considerado uma cultura positiva. Infecção por Cândida era considerada quando uma

cultura positiva era associada a achados clínicos ou sintomas de infecção. Uma colonização era definida por uma cultura positiva sem achados clínicos.

5.7 PROTEÍNA CATIÔNICA EOSINOFÍLICA

Os níveis séricos de ECP foram determinados por fluoroenzima imunoensaio, que utiliza anticorpos monoclonais de camundongo anti-ECP e a enzima β -galactosidase. A reação é do tipo fluorimétrica e medida no fluorocount 96. A fluorescência é diretamente proporcional à concentração de ECP da amostra. Os valores das amostras são comparados a uma curva de referência com concentração de 2, 5, 15, 100 e 200 mcg/l (VENGE et al., 1977, p. 331). Os valores normais de acordo com o fabricante (Pharmacia Cap Systems) se distribuem entre 1,8 e 18 mcg/dl.

5.8 DOSAGEM DE CORTISOL

A dosagem do cortisol plasmático foi realizada por radioimunoensaio, onde um cortisol marcado com iodo compete com a amostra do cortisol do paciente por anticorpos presos à parede de um tubo de polipropileno, utilizando-se para quantificação um contador gama, fornecendo um número que é convertido através de uma curva de calibração à dosagem de cortisol presente na amostra do paciente. (RUDER et al, 1972, p.219). Os valores normais de acordo com o fabricante (Diagnostic Products Corporation) encontram-se entre 5 e 25 mcg/dl.

5.9 CRONOGRAMA

MÊS	0	1	2	3
Avaliações clínicas	X	X	X	X
PFE diário	X	X	X	X
Espirometria	X	X	X	X
Prova de Metacolina	X			X
Contagem de eosinófilos	X			X
Hemograma	X			X
Parasitológico de fezes	X			X
Dosagem de ECP	X			X
Cultura para Cândida	X			X
Dosagem de Cortisol	X			X

O estudo foi realizado entre setembro de 1994 a janeiro de 1996.

5.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada utilizando-se testes bicaudais e nível de significância de 5%. A utilização de testes bicaudais é recomendada para estudos clínicos por possibilitar que diferenças tanto em relação a aumento como diminuição dos valores possam ser detectadas.

O teste de Friedman com comparações múltiplas foi empregado para avaliar os resultados da soma dos escores dos sintomas, pois os escores são medidas ordinais que não requerem o uso de testes não - paramétricos para sua avaliação.

As características iniciais do paciente e da doença foram analisadas no sentido de verificar a homogeneidade dos grupos antes do início do tratamento. Foram empregados os testes qui-quadrado ou teste t de Student para amostras independentes, de acordo com a natureza dos parâmetros avaliados. Para avaliação dos parâmetros que caracterizam a asma com o decorrer do tratamento foi empregado o teste de Friedman.

Para avaliação da evolução do peso, altura e pico de fluxo expiratório, foi empregada a Análise de Variância para medidas repetidas com comparações múltiplas. As comparações múltiplas foram realizadas em relação ao pré-tratamento (1ª consulta).

A comparação entre pré-tratamento e após 3 meses de tratamento para o PC₂₀, cortisol plasmático, ECP, e para os parâmetros do hemograma, foi realizada utilizando-se o teste t de Student para amostras pareadas. Para a proporção de pacientes com Cândida na orofaringe empregou-se o teste de Mac-Nemar. Para a comparação entre os grupos de tratamento quanto aos sintomas associados à asma e parâmetros da espirometria, empregou-se o teste de Mann-Whitney. Para avaliação intra e entre grupos dos parâmetros do hemograma e do pico de fluxo respiratório, foi empregada a análise de Perfis (ANOVA). Para avaliação entre-grupos do

PC₂₀, cortisol e ECP foi utilizado o teste t de Student para amostras independentes e para comparação do resultado do exame micológico da orofaringe e da avaliação global do tratamento, o teste qui-quadrado.

Foi empregado o coeficiente de correlação de Spearman para verificar as associações entre VEF₁, PC₂₀, Eosinófilos e ECP.

6 MATERIAIS

- Espirômetro eletrônico Spirosift 3000 da Fukuda Denshico, Japão.
- Nebulizador De Vilbiss Pulmo-Aide model nº 561 da De Vilbiss Co.; Somerset, PA, U.S.A.
- Nebulímetro De Vilbiss DV 644 da De Vilbiss Co.; Somerset, PA 15501; U.S.A.
- Espaçador Fisonair, da Fisons Pharmaceutical Division, Loughborough, Leicestershire, England.
- Metacolina - reagente da Sigma Chemical Co, St Louis, Missouri; USA.
- Peak-Flow Meter Assess - Healthscan Products Inc. Cedar Grove; USA.
- Seringas 20 ml Plastipack Becton Dickinson Ind. Cirúrgicas Ltda.; IND. BRAS.
- Agulhas 13x4,5 (26G 1/2) Becton Dickinson Ind. Cirúrgicas Ltda.; IND. BRAS.
- Extrato alergênico *Dermatophagoides pteronyssimus* 426,3 mcg/ml Ifidesa-Aristegui; Espanha.
- Bromidrato de Fenoterol 100 mcg em aerossol dosificador da Boehringer Ingelheim Química e Farmacêutica Ltda.; Itapecerica da Serra - SP; IND. BRAS.
- Flunisolida 0,25 mg/puff Boehringer Ingelheim Química e Farmacêutica Ltda.; Itapecerica da Serra - SP; IND. BRAS.
- Cloreto de Sódio 0,9% Laboratório Halex e Istar Ltda; Goiânia-GO; IND. BRAS.

Cada paciente recebeu um aparelho para monitorar, na sua residência, o pico de fluxo expiratório forçado, bem como a medicação a ser utilizada.

As avaliações clínicas, contagem de eosinófilos, Provas de Metacolina e Provas de Função Pulmonar foram realizadas no laboratório de Função Pulmonar do Departamento de

Pediatria do HC - UFPR. Os demais exames (hemograma e parasitológico de fezes) seguiram a rotina do laboratório clínico do HC.

As dosagens de Cortisol foram realizadas no laboratório de Medicina Nuclear e as culturas para Cândia foram realizadas no Laboratório de Micologia, ambos do HC-UFPr.

As dosagens de ECP foram realizadas no Laboratório Weimann, Porto Alegre (RS).

7 RESULTADOS

7.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Os grupos foram homogêneos quanto a sexo, idade por ocasião da entrada no estudo e idade de início da doença, gravidade, história pessoal e familiar de atopia e alguns fatores do ambiente. A maioria dos pacientes, em ambos os grupos, era do sexo masculino (61%), com média de idade de 11 anos, variando de 7 a 16 anos. A média de idade do início da doença foi de $2,8 \pm 2,7$ anos para o grupo FLU e $3,7 \pm 3,0$ para o grupo FEN . A maioria dos pacientes do grupo FLU (80%) apresentou crises no último ano, no mínimo mensais (43% mensais, 17% quinzenais e 20% mais freqüentes que quinzenais). Também foi observado que 53% dos pacientes já haviam sido internados no mínimo uma vez por asma. No grupo FEN, 78% dos pacientes apresentaram crises a intervalos mensais ou inferiores no último ano, enquanto que no grupo FLU isto equivaleu a 80% dos pacientes. A tabela 1 apresenta as características dos pacientes e da doença.

TABELA 1 - CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES E DA DOENÇA

		Flunisolida	Fenoterol	Comparação entre grupos
Sexo	masculino	18 (60%)	14 (64%)	$\chi^2 = 0,07$ p= 0,79 (n.s)
	feminino	12 (40%)	8 (36%)	
Idade (anos)	média ± d.p	11,1 ± 2,6	11,0 ± 2,3	t= -0,19 p= 0,85 (n.s)
	min. - max.	7 - 16	7 - 15	
Idade do início da asma	média ± d.p	2,8 ± 2,7	3,7 ± 3,0	t= 1,09 p= 0,28 (n.s)
	min. - max.	2 meses - 9 anos	1 mês - 9 anos	
Frequência (nº crises/mês) no último ano	<quinzenal	6 (20%)	2 (9%)	$\chi^2 = 0,82$ p=0,66 (n.s)
	quinzenal	5 (17%)	3 (14%)	
	mensal	13 (43%)	12 (55%)	
	bimensal	5 (17%)	4 (18%)	
	>bimensal	1 (3%)	1 (4%)	
Internações devido a asma	nenhuma	14 (47%)	14 (64%)	teste de Mann - Whitney p>0.05 (n.s.)
	uma	7 (23%)	2 (9%)	
	duas	3 (10%)	1 (4,5%)	
	três	2 (7%)	2 (9%)	
	quatro	1 (3%)	1 (4,5%)	
	acima de quatro	3 (10%)	2 (9%)	

A história pessoal de atopia, revelou que 87% dos pacientes do grupo FLU e 91% do grupo FEN apresentavam outra doença alérgica associada, sendo a rinite alérgica perene a mais freqüente (anexo 4). A freqüência de pacientes com algum parente de 1º ou 2º grau apresentando atopia também foi alta, 93% para o grupo Flunisolida e 91% para o grupo Fenoterol (anexo 5). Apenas 4 pacientes de ambos os grupos não referiam atópicos na família. Com relação ao ambiente, o anexo 6 mostra que para 37% dos pacientes havia familiares que

fumavam no mesmo ambiente em que o paciente vivia. A maioria (80%) possuía animais domésticos, representados por cães, gatos e pássaros.

7.2 NÚMERO DE CRISES

A tabela 2 apresenta a evolução do número de crises de asma. Houve decréscimo significativo ($p < 0,05$) do número de crises com o decorrer do tratamento para o grupo FLU, passando de 16 pacientes (53%) sem crises no final do primeiro mês de tratamento para 23 pacientes (77%) após 3 meses de tratamento.

Para o grupo FEN, não houveram alterações significantes do número de crises com o decorrer do tratamento, com 12 dos pacientes (55%) sem crises no primeiro mês de tratamento e 13 (59%) no final do terceiro mês.

TABELA 2- NÚMERO DE CRISES DE ASMA NO DECORRER DO TRATAMENTO

Número de crises	Flunisolida			Fenoterol		
	1 mês	2 meses	3 meses	1 mês	2 meses	3 meses
Nenhuma	16 (53,0)	18 (60,0)	23 (77,0)	12 (55,0)	11 (50,0)	13 (59,0)
1	8 (26,0)	7 (23,0)	7 (23,0)	8 (36,0)	8 (36,5)	7 (32,0)
2	2 (7,0)	4 (14,0)	—	2 (9,0)	1 (4,5)	2 (9,0)
3	2 (7,0)	1 (3,0)	—	—	1 (4,5)	—
4	2 (7,0)	—	—	—	1 (4,5)	—
Total	30 (100)	30 (100)	30 (100)	22 (100)	22 (100)	22 (100)

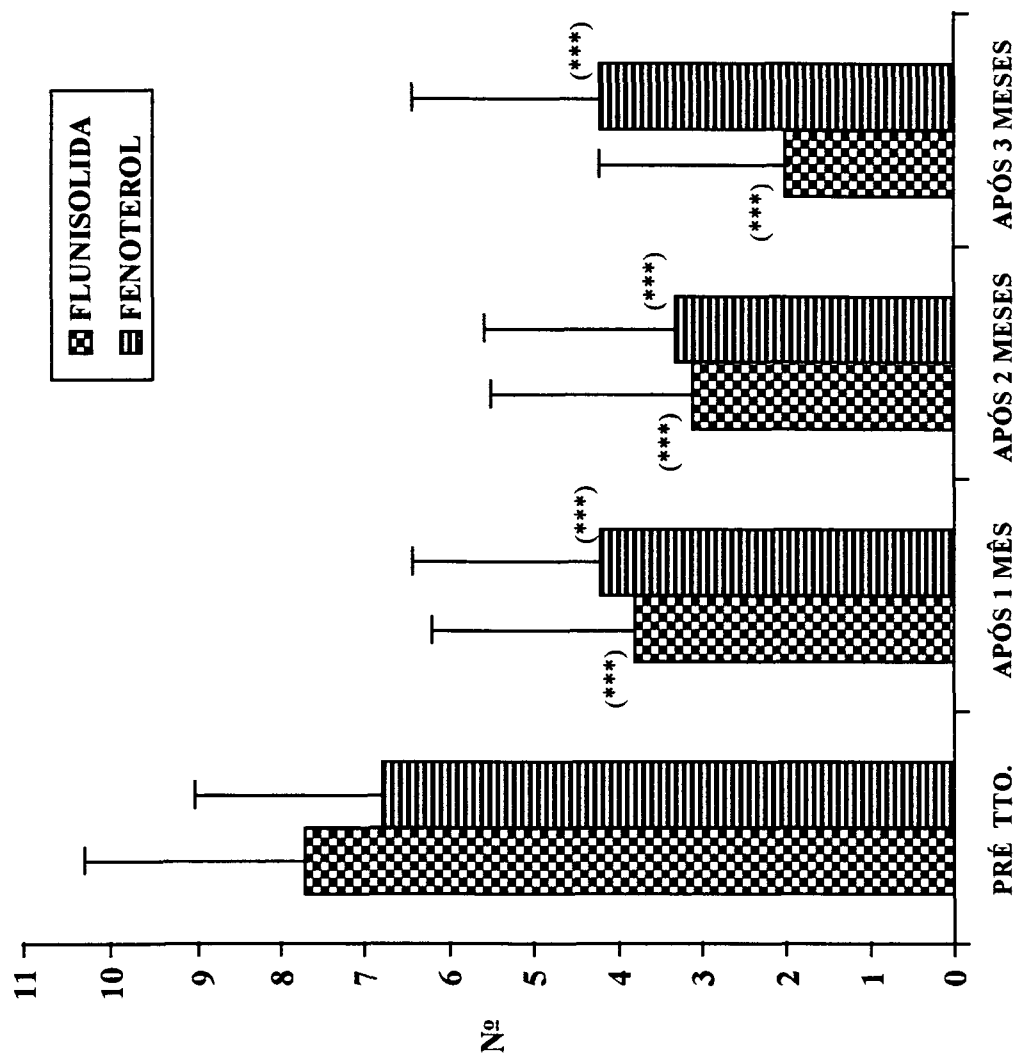
Evolução com o decorrer dos meses: grupo Flunisolida - decréscimo significativo ($p < 0.05$)
grupo Fenoterol - não significativa (teste de Friedman)

7.3 SINTOMAS

Para avaliação da intensidade dos sintomas, considerou-se a soma dos seguintes escores relatados pelo paciente e anotados pelo médico mensalmente: tosse, sibilos, dispnéia, asma de exercício e asma desencadeada por riso/choro. Cada sintoma podia ser classificado como: ausente (0), leve (1), moderado (2) e intenso (3); logo, a soma dos escores dos sintomas poderia variar de um máximo de 15 (todos os sintomas presentes em grau intenso) a um mínimo de 0 (todos os sintomas ausentes).

Os grupos tinham escore inicial médio similar, mostrando semelhança na expressão clínica da doença em ambos.

Houve decréscimo significativo ($p < 0,001$) da soma dos escores da intensidade dos sintomas com o decorrer do tratamento para ambos os grupos, sendo que a comparação com o pré-tratamento foi significativa a partir do 1o. mês de tratamento. A comparação entre os grupos mostrou diferença estatisticamente significativa após 3 meses de tratamento, com o grupo Flunisolida apresentando sintomas menos intensos que o grupo Fenoterol. Os resultados estão sumarizados no anexo 7 e figura 1.



Comparação com o pré-tratamento: (***) $p < 0.001$ (teste de Friedman com comparações múltiplas)

FIGURA 1 - ESCORE CLÍNICO MENSAL (TOSSE, SIBILOS, DISPNEIA, ASMA DE EXERCÍCIO, RISO/CHORO)
 média \pm desvio padrão

7.4 ESPIROMETRIA

A exemplo do que ocorreu com o escore clínico, os parâmetros da função pulmonar também eram semelhantes antes do tratamento para os dois grupos.

A avaliação do volume expiratório forçado no 1o. segundo (VEF_1) em porcentagem do valor normal, encontra-se na tabela 3 . Houve aumento significativo ($p < 0,001$) de seus valores com o decorrer do tratamento sendo que a comparação com o pré-tratamento apresenta significância estatística a partir do 1o. mês de tratamento para o grupo Flunisolida, não havendo diferenças para o grupo Fenoterol. Os grupos foram estatisticamente diferentes entre si no 3º mês de tratamento, com o grupo Flunisolida apresentando valores superiores ao do grupo Fenoterol.

A melhora do VEF_1 no grupo FLU ocorreu a partir do 1º mês de tratamento, com valores de 69,8% no pré-tratamento, para 81,4% após 3 meses de tratamento. No grupo FEN, os valores percentuais de VEF_1 se mantiveram estáveis, com diminuição sem significância estatística no 3º mês de tratamento, partindo de 73,6% no pré-tratamento para 70,6% após 3 meses de tratamento.

TABELA 3 - MEDIDAS DO VOLUME EXPIRATORIO FORÇADO NO 1º. SEGUNDO (VEF₁) ANTES E APÓS O TRATAMENTO EM AMBOS OS GRUPOS

Os valores são expressos em média ± desvio padrão e os limites máximo e mínimo.

Grupo	Pré-trat	Após 1 mês	Após 2 meses	Após 3 meses	
VEF ₁ pré-broncod (% normal)	Flunisolida	69,8 ± 10,7 41 - 89	80,2 ± 15,2 (***) 55 - 123	77,8 ± 13,0 (**) 46 - 102	81,4 ± 12,6 (***) 56 - 110
	Fenoterol	73,6 ± 8,3 56 - 88	73,9 ± 14,7 41 - 99	72,8 ± 16,1 38 - 106	70,6 ± 9,6 56 - 89
VEF ₁ pós-broncod (% normal)	Flunisolida	85,4 ± 14,6 51 - 114	95,0 ± 13,3 (***) 70 - 124	95,4 ± 20,7 (**) 54 - 158	88,3 ± 12,1 (ns) 64 - 118
	Fenoterol	86,2 ± 13,2 65 - 125	86,2 ± 14,0 59 - 121	87,1 ± 12,1 61 - 103	82,2 ± 9,5 64 - 102

Comparação entre grupos diferenças significantes : VEF₁ após 1 mês p = 0,01

VEF₁ após 3 meses p = 0,002

Comparação com o pré-tratamento: *** p < 0,001 ** p < 0,01
(Teste de Friedman com comparações múltiplas).

A CVF no grupo FLU aumentou de $89,1 \pm 14,9$ % antes do tratamento para $91,8 \pm 23,5$ % 3 meses após o tratamento, enquanto que no grupo FEN houve uma redução de $90,1 \pm 11,2$ para $86,4 \pm 8,4$ litros no terceiro mês de tratamento. Apesar de haverem tendências inversas, estas variações não foram significativas e tampouco havia diferença significativa entre os grupos. A resposta broncodilatadora, embora verificada em ambos os grupos antes e após os tratamentos, também não atingiu nível de significância estatística (anexo 8).

Quanto à evolução do fluxo expiratório forçado (FEF 25-75%), no grupo Flunisolida houve aumento estatisticamente significativo ($p < 0,001$) dos valores com o decorrer do tratamento. Esse aumento foi significativo a partir do 1o. mês de tratamento (anexo 9).

7.5 AVALIAÇÃO DOS DIÁRIOS DOS PACIENTES

A análise foi feita separadamente para o período noturno e diurno. Os valores adotados para a análise foram as médias semanais dos seguintes parâmetros: soma dos escores dos sintomas (tosse, chiado e cansaço no peito), PFE e número de vezes que o paciente utilizou medicação adicional (broncodilatador).

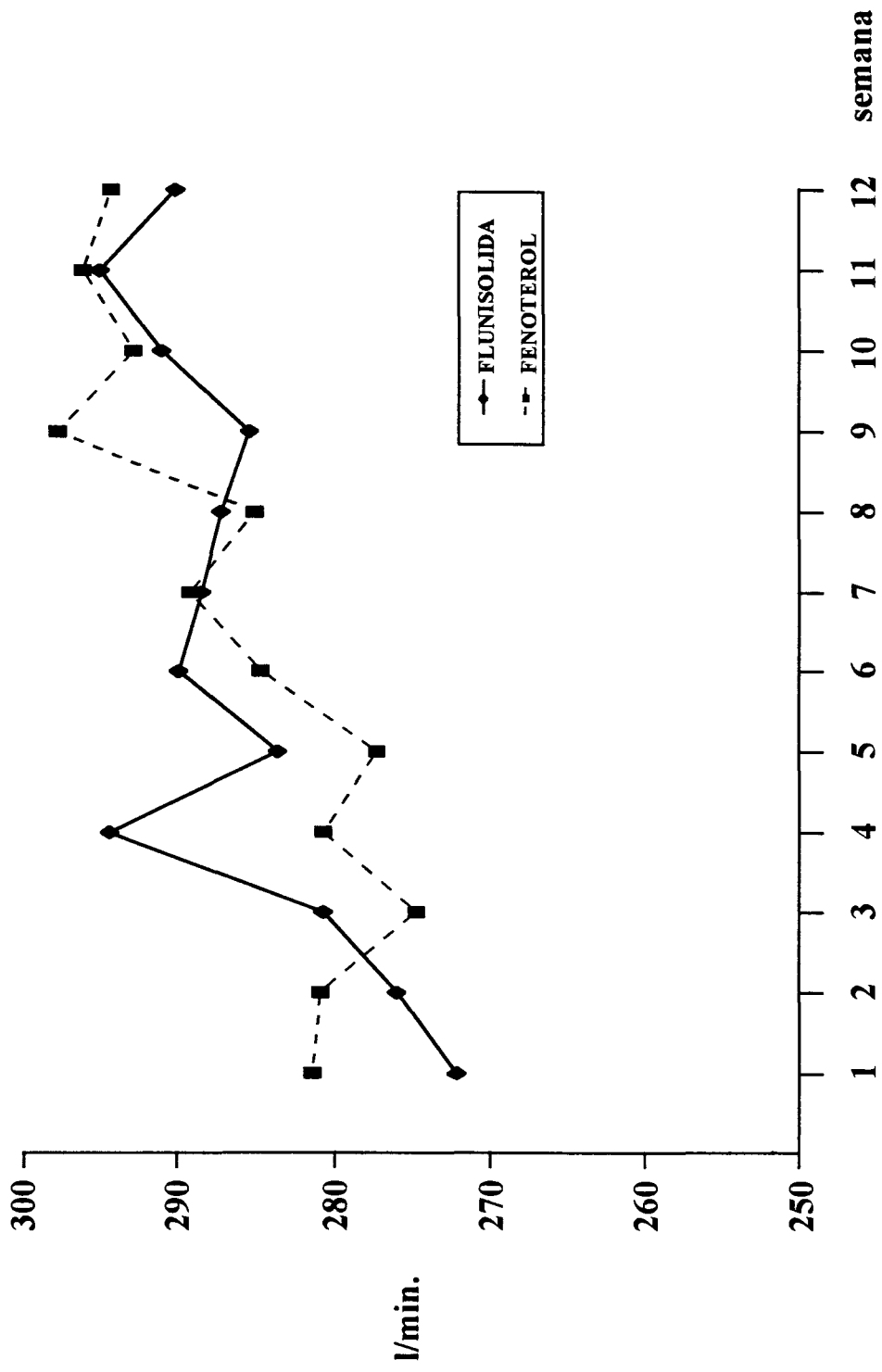
Considerando-se o período de tratamento como um todo, houve diminuição significativa da soma dos escores dos sintomas no grupo da FLU, tanto no período noturno ($p < 0,05$), como no período diurno ($p < 0,01$), porém a comparação da semana 1 com as semanas subsequentes foi significativa apenas nas semanas 2, 3 e 8 para a avaliação noturna, e nas semanas 2, 7, 8, 10 e 11 para a avaliação diurna. O grupo FEN somente apresentou diminuição significativa da soma dos escores dos sintomas para o período noturno ($p < 0,05$),

em relação a semana 1 nas semanas 5 ,6 ,7, 8, 9, 10. Não houve diferença significativa entre os grupos de tratamento (anexo 10).

Para o número de vezes que o paciente utilizou medicação de alívio (broncodilatador) à noite e durante o dia (média semanal), não foi detectada diferença significativa com o decorrer do tratamento em nenhum dos grupos, e nem houve diferença entre eles.

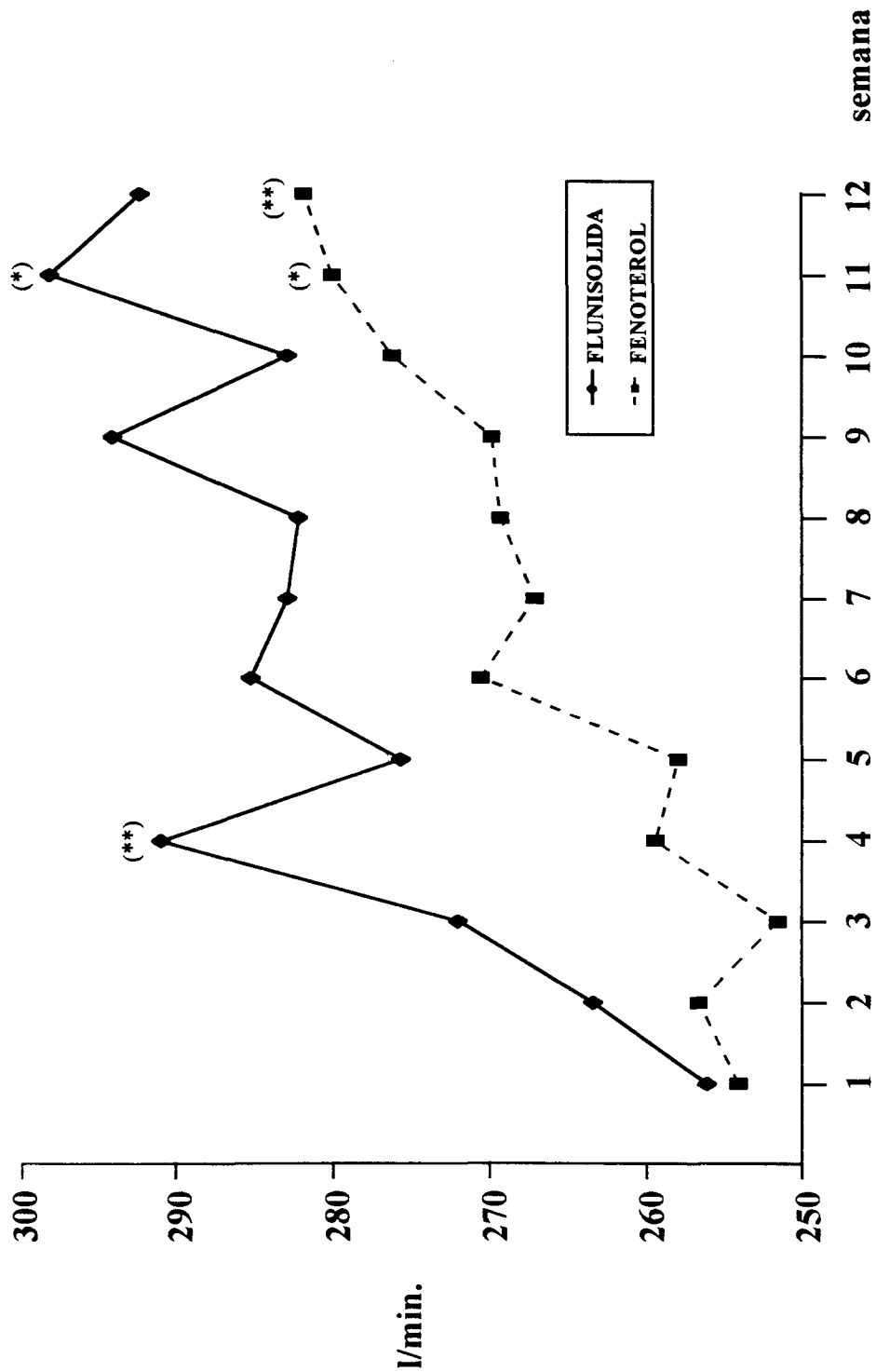
As avaliações das médias do PFE encontram-se no anexo 11 . O PFE avaliado à noite (média semanal), não apresentou diferença significativa com o decorrer do tratamento para ambos os grupos, porém observou-se uma tendência em se obter valores maiores que os da semana 1 (figura 2). Para o pico de fluxo expiratório avaliado pela manhã (média semanal) houve aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$) com o decorrer do tratamento para ambos os grupos (figura 3).

Houve aumento estatisticamente significativo do pico de fluxo expiratório mínimo matinal ($p < 0,001$), a partir da 3a. semana em ambos os grupos, e não houve diferenças entre eles (figura 4).



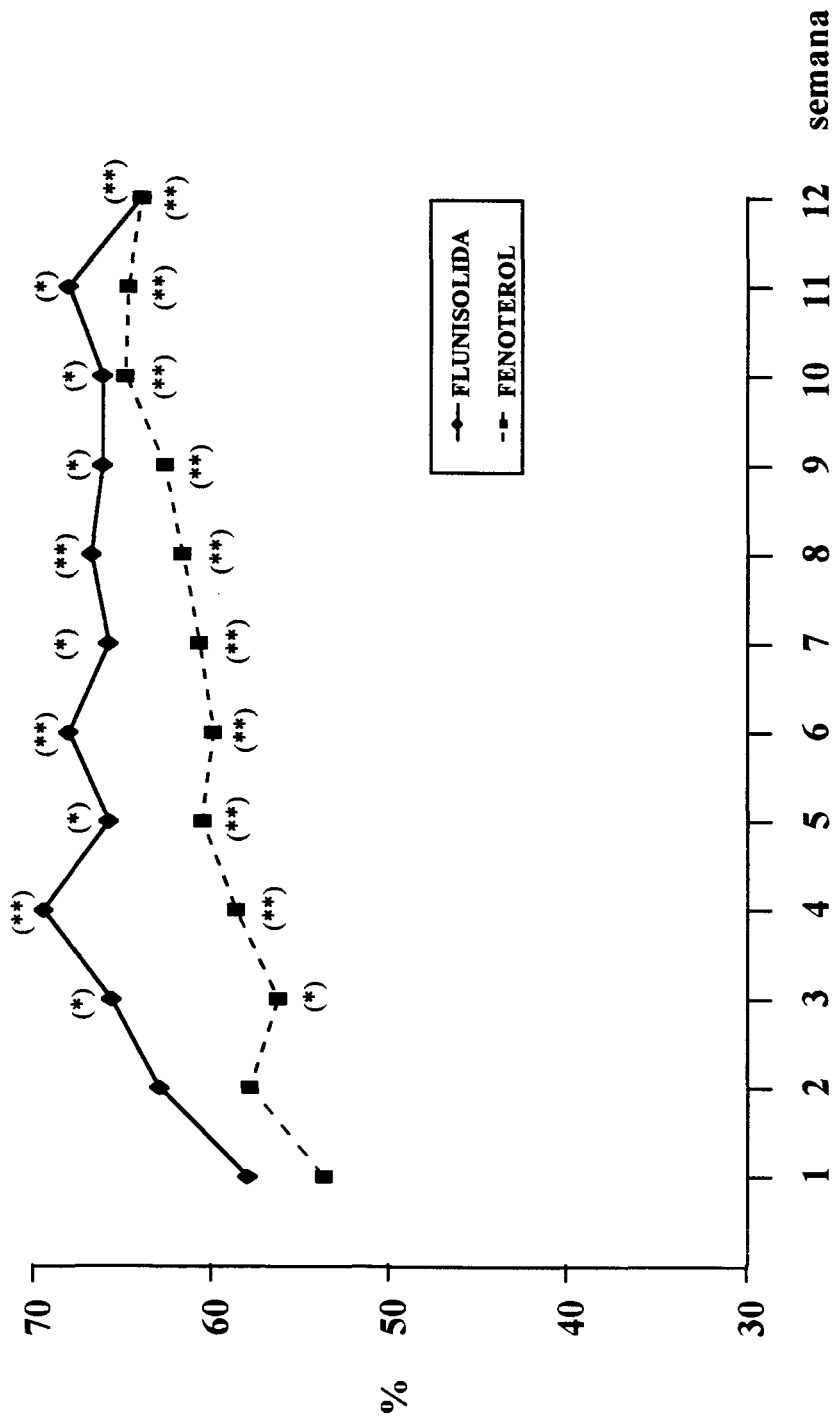
Comparação entre grupos: não significativa Comparação entre as avaliações: não significativa

FIGURA 2 - MÉDIA SEMANAL DOS VALORES DO PFE NOTURNO



Comparação entre grupos: não significativa Comparação com a semana 1: * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$

FIGURA 3 - MÉDIA SEMANAL DOS VALORES DO PFE DIURNO



Comparação entre grupos: não significante Comparação com a semana 1: *p<0.05 **p<0.01

FIGURA 4 - PFE MÍNIMO MATINAL

7.6 PROVA DE METACOLINA (PC_{20})

Para a PC_{20} , no grupo FLU houve aumento da média (geométrica) dos valores após 3 meses de tratamento em relação ao início, de 0,20mg para 0,27mg, porém sem significância estatística (figura 5). Na avaliação após 3 meses, um paciente não apresentou hiperreatividade mesmo com a dose máxima preconizada de Metacolina (25 mg), sendo excluído da análise. Para o grupo FEN, houve uma diminuição da média dos valores de 0,21 para 0,14 após 3 meses, também sem significância estatística (figura 6).

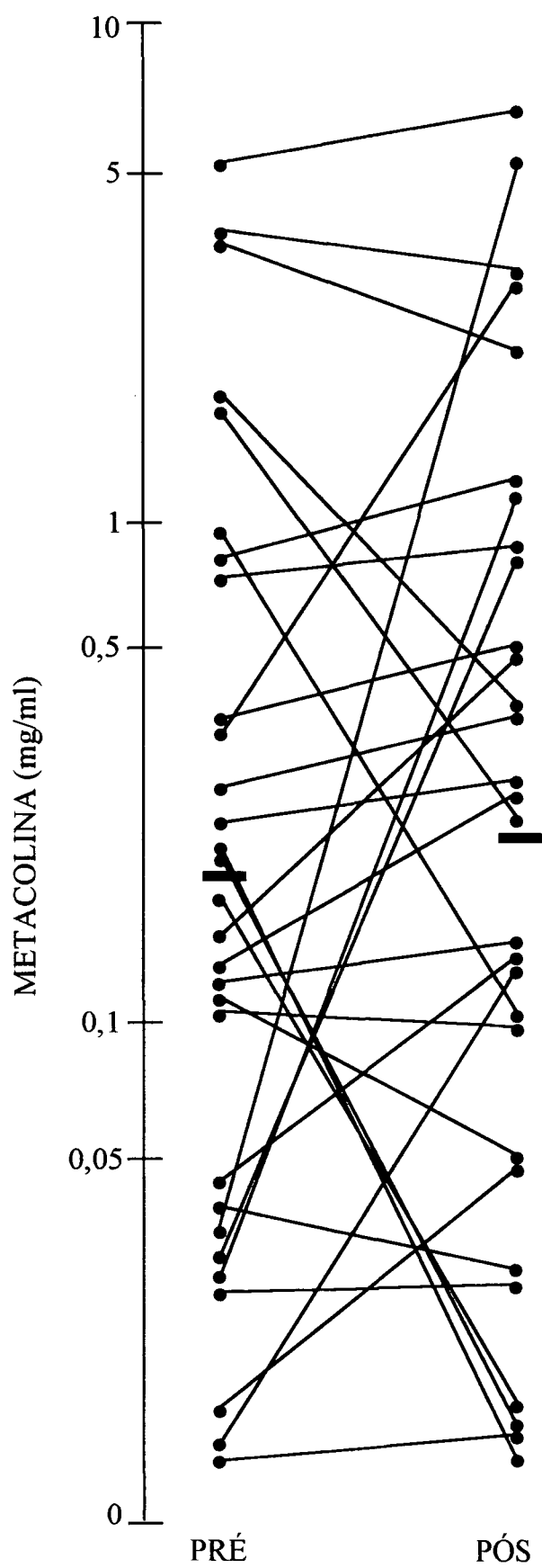
No grupo FLU, 16 pacientes tiveram melhora nos testes de broncoprovocação (maior PC_{20} no pós-tratamento) e 12 pioraram. Esta proporção, no grupo FEN foi de 8 melhoras para 13 pioras. Não houve diferença significativa entre os grupos, apesar da tendência do grupo FLU em aumentar os níveis de PC_{20} e do grupo FEN de diminuir os níveis, indicando uma possível piora na HRB nestes pacientes. Como um paciente do grupo FLU não apresentou HRB nem com a dose máxima utilizada e seu valores não puderam então ser conhecidos para entrar na análise, os resultados deste grupo poderiam ter sido mais significativos. As médias geométricas da Metacolina pré e pós-tratamento em ambos os grupos encontram-se sumarizadas na tabela 4.

TABELA 4- RESULTADOS DAS PROVAS DE METACOLINA (PC₂₀) EM mg/ml
média geométrica

	Grupo	Pré-trat	Pós-trat	Diferença entre pré e pós-trat*
PC ₂₀ (mg)	Flunisolida	0,20	0,27	n. s. (p=0,26)
	Fenoterol	0,21	0,14	n. s.(p = 0,43)
	Diferença entre grupos**	n. s. (p = 0,77)	n. s. (p = 0,28)	

* teste t de Student para amostras pareadas.

** teste t de Student para amostras independentes

FIGURA 5 - PC₂₀ PRÉ E PÓS TRATAMENTO - FLUNISOLIDA

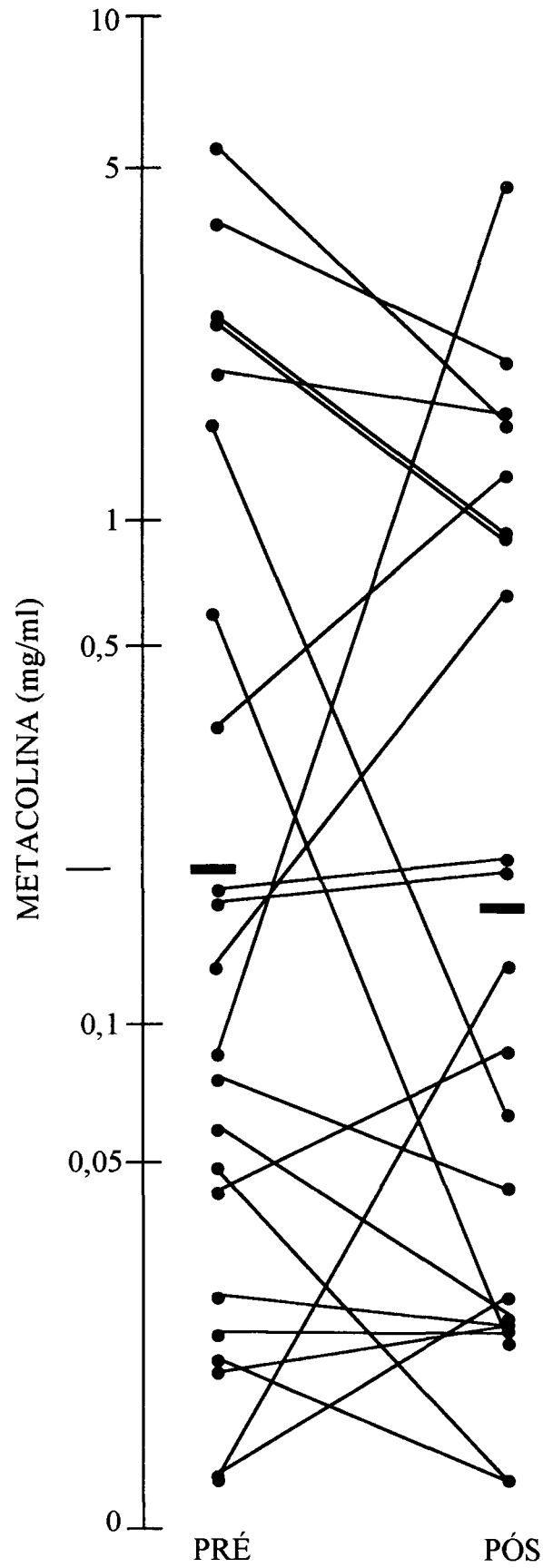


FIGURA 6 - PC₂₀ PRÉ E PÓS TRATAMENTO - FENOTEROL

7.7 CORTISOL

Os níveis de cortisol passaram de uma média de 13,05mg/dl no pré para 15,19 mcg/dl após 3 meses de tratamento no grupo FLU e de 10,58 para 13,40 no grupo FEN. As diferenças entre pré e pós-tratamento e entre os grupos não foram estatisticamente significativas (anexo 12).

7.8 PROTEÍNA CATIÔNICA EOSINOFÍLICA (ECP)

Para análise deste parâmetro não foram incluídos 6 pacientes que apresentaram exame parasitológico positivo no pós-tratamento (pacientes de nº 13, 26, 33, 43, 50 e 52).

Houve diminuição estatisticamente significante em ambos os grupos, passando de uma média de 27,7 microgramas/l antes do tratamento para 9,1 após 3 meses (FLU), e de 19,1 para 9,2 microgramas/l no grupo FEN. A diferença entre os grupos não foi significativa, mesmo os pacientes do grupo FLU tendo níveis mais elevados antes do tratamento e apresentando uma redução aparentemente mais apreciável (tabela 5).

TABELA 5- RESULTADOS DAS DOSAGENS DE ECP
 média \pm desv. pad. (mínimo - máximo)

	Grupo	Pré-tratamento	Pós-tratamento	Diferença entre pré e pós-tratamento*
ECP	Flunisolida	27,7 \pm 38,2 0,3 - 168,6	9,1 \pm 12,9 0,2 - 60,3	p<0.01
	Fenoterol	19,9 \pm 22,0 1,4 - 79,9	9,2 \pm 15,8 0,3 - 58,4	p < 0.05
	Diferença entre grupos**	n. s. (p = 0.38)	n. s. (p = 0.98)	

* Teste t de Student para amostras pareadas.

** Teste t de Student para amostras independentes

7.9 HEMOGRAMA

Para análise do hemograma, também não foram considerados os 6 pacientes com exame parasitológico positivo ao final do tratamento.

A análise dos parâmetros do hemograma encontra-se no anexo 13, não havendo diferença significativa entre pré e pós-tratamento para eritrócitos, leucócitos, hemoglobina e hematócrito.

Com relação aos eosinófilos, a análise foi feita para os valores absolutos, e houve um decréscimo estatisticamente significativo da média antes e após tratamento ($p < 0,05$) para o grupo FLU (806,5 para 561,3/mm³), enquanto que no grupo FEN esta redução (843,0 para 680,0/mm³) não foi significativa (tabela 6).

TABELA 6 - AVALIAÇÃO DO NÚMERO DE EOSINÓFILOS
 média ± desv. pad. (mínimo - máximo)

Parâmetro	Grupo	Pré-tratamento	Pós-tratamento	Diferença entre pré e pós-tratamento*
Eosinófilos (/mm ³)	Flunisolida	806,5 ± 599,5 165 - 3024	561,3 ± 337,3 52 - 1679	p < 0,05
	Fenoterol	843,0 ± 474,0 136 - 1776	680,0 ± 544,0 69 - 1862	n. s
	Diferença entre grupos**	n. s.	n. s.	

* Teste t de Student para amostras pareadas.

** Teste t de Stendnt para amostras independentes.

7.10 CULTURA PARA CÂNDIDA

A tabela 7 apresenta os resultados do exame micológico da orofaringe realizado para identificação de Cândida.

No exame da 1ª consulta, 11 pacientes (37%) do grupo FLU e 4 pacientes (18 %) do grupo FEN apresentavam culturas positivas, entretanto, nenhum dos pacientes apresentava candidíase ao exame clínico. Após o tratamento, 33% dos pacientes (n=10) do grupo FLU e 14% (n=3) do grupo FEN apresentaram culturas positivas, porém sem apresentação clínica.

A diferença na positividade de culturas para Cândida pré-tratamento entre os grupos FLU e FEN não foi significativa, assim como a diferença entre pré e pós-tratamento.

TABELA 7 - CULTURAS PARA CÂNDIDA sp.

	Pré-tratamento		Pós-tratamento	
	Flunisolida	Fenoterol	Flunisolida	Fenoterol
Positivo p/ Cândida	11 (37%)	4 (18%)	10 (33%)	3 (14%)
negativo	19 (63%)	18 (82%)	20 (67%)	19 (86%)
Total	30 (100%)	22 (100%)	30 (100%)	22 (100%)
Diferença entre grupos (teste qui-quadrado)	p= 0.25 (n.s.)		p= 0.19 (n.s.)	

No pré-tratamento a cultura foi positiva em 11 pacientes (37%) e negativo em 19 pacientes (63%) no grupo FLU, enquanto que no grupo FEN esta proporção foi de 18 para 82%. No pós-tratamento, dos 11 pacientes com resultado positivo no pré, 6 apresentaram resultado negativo, e dos 19 pacientes com resultado negativo no pré, 5 apresentaram resultado positivo, sendo que a proporção de pacientes que passaram de positivo para negativo foi estatisticamente a mesma dos que passaram de negativo para positivo (tabela 8).

TABELA 8 - INVERSÕES DOS RESULTADOS DAS CULTURAS PARA CÂNDIDA COM OS TRATAMENTOS

	Pré-tratamento	Pós-tratamento		Diferença entre pré e pós-trat.*
		Negativo	Positivo	
Flunisolida	negativo	14	5	n.s.
	positivo	6	5	
Fenoterol	negativo	16	2	n.s.
	positivo	3	1	

*Teste de McNemar

7.11 EXAME FÍSICO

O anexo 14 apresenta um resumo dos resultados do exame físico realizado nas 4 avaliações.

Houve aumento estatisticamente significativo do peso e da altura com o decorrer do tratamento para ambos os grupos, com médias de peso variando de 34,3 a 35,2 Kg no grupo FLU e de 36,6 a 38,9 Kg no grupo FEN enquanto que a altura aumentou de uma média de 141,4 cm para 142,7 cm no grupo FLU e 144,5 cm para 146,9 cm no grupo FEN. Os grupos não apresentaram diferenças significativas entre si no que diz respeito aos parâmetros físicos avaliados.

As frequências cardíaca e respiratória não se alteraram significativamente com o decorrer do tratamento.

Quanto às observações efetuadas na ausculta e no exame da orofaringe, ocorreram pequenas alterações no pós-tratamento em relação ao pré-tratamento. Houve diminuição de 8 para 5 pacientes com sibilos no grupo Flunisolida e aumento de 1 para 3 no grupo do Fenoterol, e desaparecimento de hiperemia na orofaringe presente em 1 paciente no pré-tratamento e em 2 pacientes após 1 mês de tratamento no grupo da Flunisolida.

7.12 AVALIAÇÃO GLOBAL DO TRATAMENTO

Os pacientes, ao final do estudo, foram classificados pelo pesquisador como tendo apresentado melhora acentuada em 80% dos casos no grupo Flunisolida e em 32% dos casos no grupo Fenoterol. Houve diferença significativa entre os grupos ($p < 0,01$), com o grupo Flunisolida apresentando uma proporção maior de pacientes classificados como *melhora acentuada*.

Na avaliação do paciente houve melhora acentuada em 77% dos casos no grupo Flunisolida e em 32% do grupo Fenoterol. A diferença entre os grupos foi estatisticamente significativa ($p < 0,01$). Os resultados estão apresentados no anexo 15 e nas figuras 7 e 8.

A avaliação global do tratamento pelo pesquisador foi concordante com a do paciente tanto com a Flunisolida quanto com o Fenoterol.

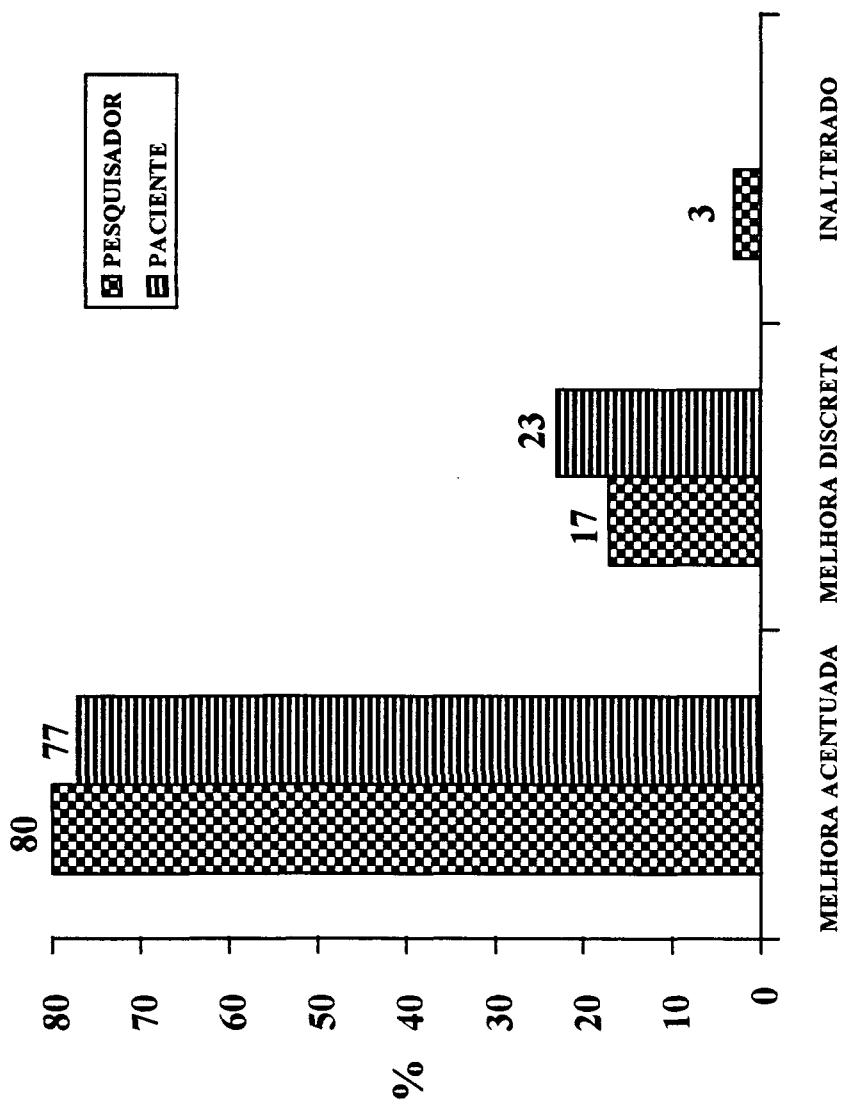
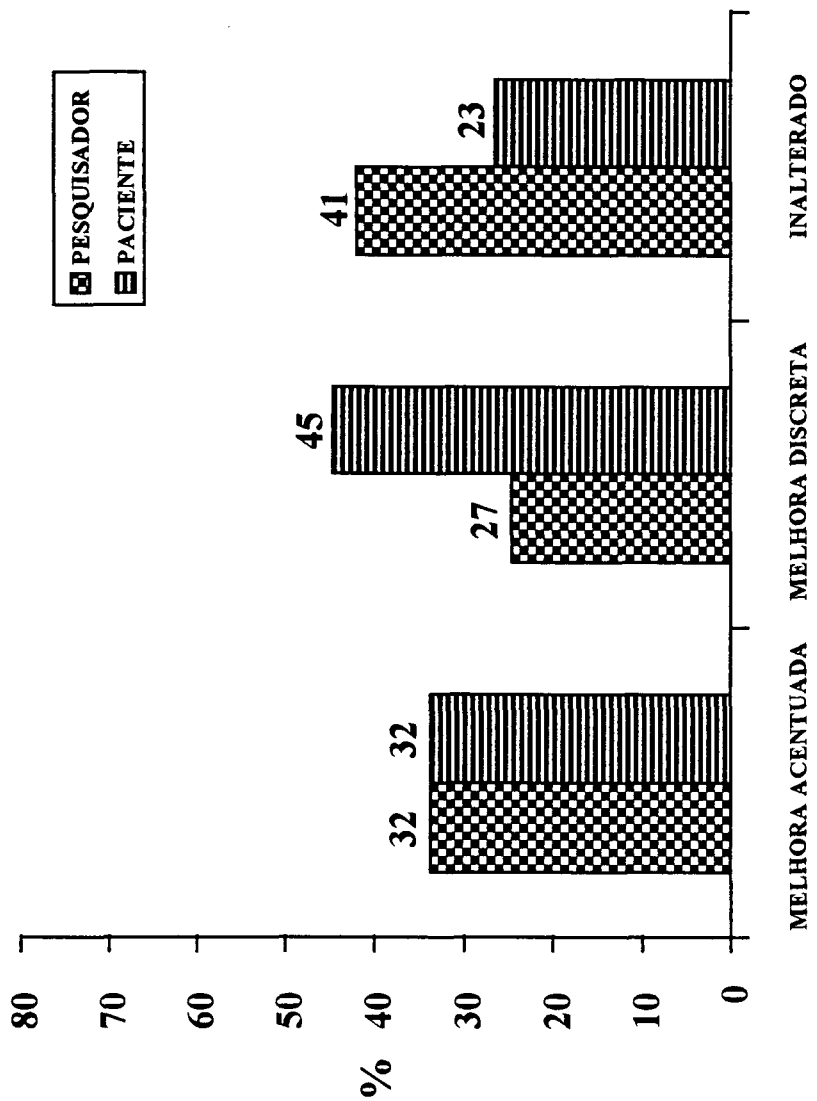


FIGURA 7 - AVALIAÇÃO GLOBAL DO TRATAMENTO - FLUNISOLIDA



Diferença entre grupos $p < 0,01$

FIGURA 8 - AVALIAÇÃO GLOBAL DO TRATAMENTO - FENOTEROL

7.13 EFEITOS INDESEJÁVEIS

No grupo Flunisolida um paciente apresentou sudorese, de intensidade moderada, com início no 1º dia de tratamento e com duração de 2 meses e outro paciente apresentou ardência na faringe, de intensidade leve. Em ambos os casos os sintomas foram tolerados sem a necessidade de interrupção do tratamento.

Também foi relatada, por 20 pacientes (66,6%), a ocorrência de gosto amargo na boca após o uso da medicação.

No grupo Fenoterol foi observada a ocorrência de tremores relacionados ao uso da medicação em 5 pacientes, taquicardia em 2 pacientes e tremores e taquicardia em 1 paciente. Estes sintomas foram descritos como de intensidade leve, tiveram início no 1º dia de tratamento e cederam após 15 a 20 dias de uso da medicação, com exceção de um paciente que apresentou tremor durante todo o estudo (tabela 9).

TABELA 9 - EFEITOS INDESEJÁVEIS

Sintoma	Grupo de tratamento	
	Flunisolida	Fenoterol
Sudorese	1	—
Ardência na faringe	1	—
Tremores quando do uso da medicação	—	5
Taquicardia	—	2
Taquicardia e tremores	—	1
Total	2 (7%)	8 (36 %)

Obs.: No grupo flunisolida, 20 pacientes relataram a ocorrência de gosto amargo na boca após o uso da medicação

7. 14 CORRELAÇÕES

Analisamos as principais correlações entre as variáveis estudadas (VEF_1 , PC_{20} , eosinófilos e ECP), através do método não paramétrico de Spearman (Spearman's Rho), com nível de significância de 5%. Somente os parâmetros VEF_1 e PC_{20} tiveram correlação significativa (figura 9), tanto no pré-tratamento quanto no pós-tratamento. A correlação foi positiva, ou seja, quanto maior o VEF_1 maior a concentração de Metacolina para causar redução de 20% do VEF_1 basal. As correlações entre os parâmetros avaliados no pré-tratamento, encontram na tabela 10, e as correlações entre os parâmetros avaliados após 3 meses de tratamento encontram-se na tabela 11. Note-se que para a avaliação dos parâmetros de eosinófilos e ECP foram excluídos os pacientes de nº 13, 26, 33, 43, 50 e 52, que apresentaram parasitológico positivo ao final do estudo.

TABELA 10 - CORRELAÇÕES PRÉ-TRATAMENTO

Parâmetro	Coef. Correl. Spearman - R	Probabilidade
VEF_1 x PC_{20}	0,40	0,03
VEF_1 x Eosinófilos	0,08	0,56
VEF_1 x ECP	0,02	0,86
PC_{20} x Eosinófilos	0,004	0,98
PC_{20} x ECP	0,08	0,59
Eosinófilos x ECP	0,13	0,37

TABELA 11 - CORRELAÇÕES PÓS-TRATAMENTO

Parâmetro	Coef. Correl. Spearman - R	Probabilidade
VEF ₁ x PC ₂₀	0,48	0,0004
VEF ₁ x Eosinófilos	-0,17	0,25
VEF ₁ x ECP	0,12	0,44
PC ₂₀ x Eosinófilos	-0,10	0,50
PC ₂₀ x ECP	-0,12	0,42
Eosinófilos x ECP	0,15	0,32

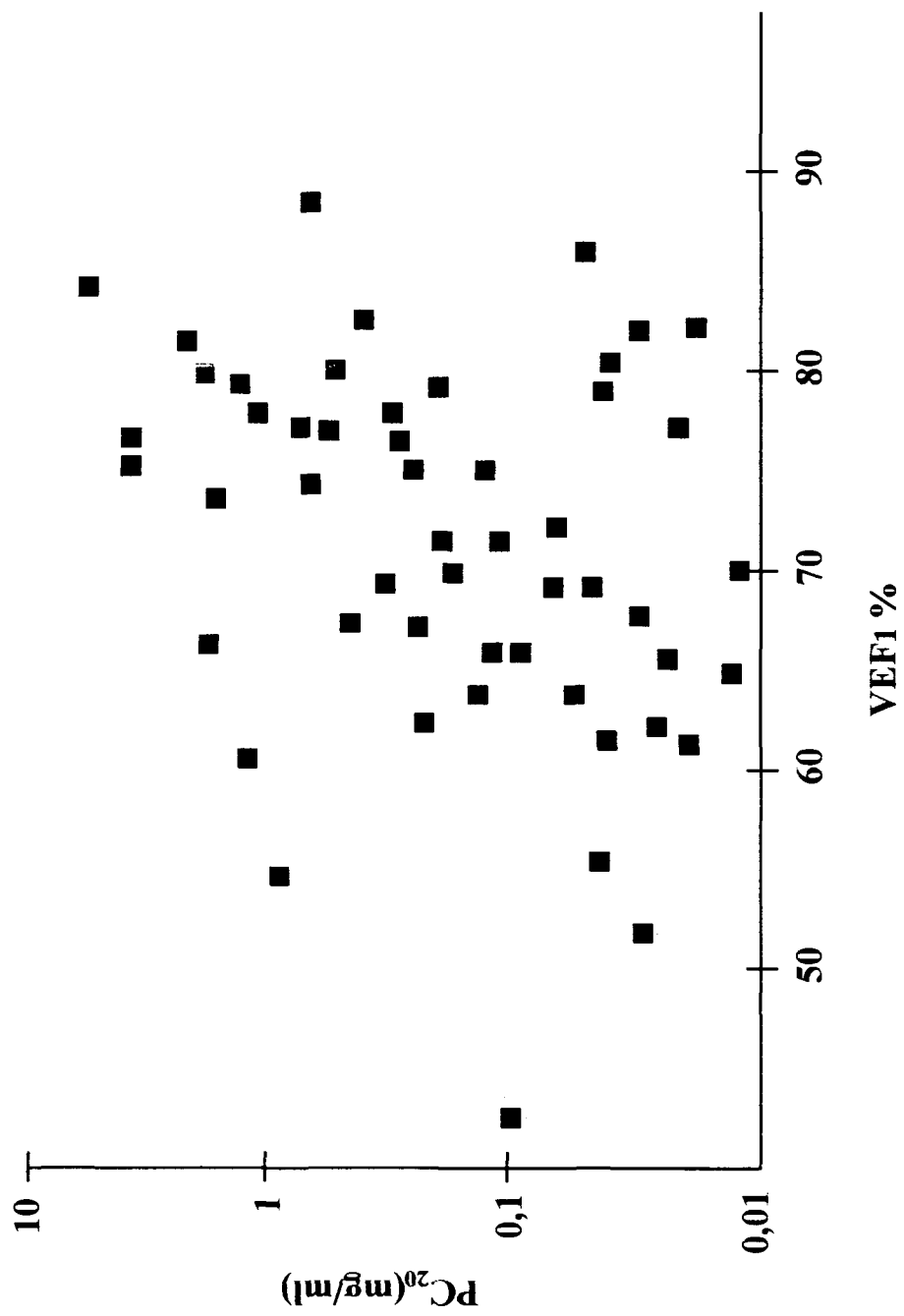


FIGURA 9 - CORRELAÇÃO ENTRE PC_{20} E VEF_1

8 DISCUSSÃO

Um manejo efetivo da asma deve começar com um programa de educação dos pacientes e controle ambiental. Entretanto, a fisiopatologia da asma garante a consideração de que a terapêutica anti-inflamatória introduzida precocemente reduz a inflamação em vias aéreas e a HRB. Corticosteróides inalatórios são considerados na atualidade os agentes antiinflamatórios mais potentes.

SHAPIRO e colaboradores compararam a efetividade da flunisolida aerossol e placebo em termos da habilidade em reduzir a necessidade de corticosteróides sistêmicos em uma população de 32 crianças e adolescentes corticodependentes, num estudo duplo-cego com duração de 12 semanas. O grupo da flunisolida teve um melhor controle da asma comparado com o placebo. A dose diária de corticóide oral diminuiu em 100% dos pacientes comparado com 53% do grupo placebo. A função pulmonar e endócrina permaneceu estável para ambos os grupos. Não houveram efeitos adversos (SHAPIRO et al., 1981, p. 671).

Apesar das dosagens de cortisol basal serem de utilidade limitada e o limite inferior que excluiria uma insuficiência supra-renal não ter sido determinado, tem sido sugerido que o achado de um cortisol plasmático de 11 microgramas/dl ou maior *quase* excluiria uma insuficiência de cortisol ou ACTH (BAXTER & TYRRELL, 1994, p. 667 e 681). Num estudo realizado com 15 crianças asmáticas tratadas com Dipropionato de Beclometasona (400 microgramas/dia) e 11 crianças asmáticas tratadas sem corticosteróides, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos, com medidas do cortisol plasmático, cortisol urinário

de 24h e 17 hidroxí corticosteróide, resposta ao ACTH e teste oral com Metirapona (GOLDSTEIN & KONIG, 1983, p. 60).

Em nosso trabalho, dosou-se o cortisol plasmático antes e após o tratamento, e os resultados mostraram que a dose recomendada de Flunisolida em aerossol nesta faixa etária (7 a 16 anos) não diminuiu os níveis plasmáticos de cortisol.

Uma ocorrência em pacientes que fazem uso de corticosteróides inalatórios é a candidíase oral. A incidência de candidíase oral em pacientes recebendo corticosteróides inalatórios varia de 0 a 77%, devido em parte a diferentes critérios diagnósticos utilizados nos diversos estudos. A elevada incidência de candidíase oral com altas doses de corticosteróides inalatórios pode ser explicada pelo fato que 80% do aerossol desprendido na erogação é depositada na orofaringe, provocando um aumento de glicose na saliva que pode ser a responsável pela candidíase, o que pode ser minimizado com o uso de aerocâmeras (SALZMAN & PYSZCZYNSKI, 1988, p. 424 e 426).

No presente estudo foram realizados, além do exame clínico de orofaringe buscando a presença de candidíase, culturas de orofaringe para *Cândida*, e a frequência de positividade nas culturas não modificou com a medicação. Embora o percentual de positividade antes do tratamento fosse maior no grupo FLU comparado ao FEN, 37% e 18% respectivamente, esta diferença não foi significativa e manteve-se assim após o tratamento, indicando que a Flunisolida inalatória com o uso de aerocâmara não aumentou a frequência de candidíase oral e tampouco aumentou a frequência de culturas positivas.

A associação entre eosinofilia e asma foi observada logo que os eosinófilos foram descritos, e a observação que os eosinófilos são predominantes entre as células envolvidas na inflamação da asma é aceita apesar de algumas observações discordantes. Em pacientes com asma, os eosinófilos estão presentes em número aumentado no sangue e são encontrados no

escarro e líquido broncoalveolar. Estudos histológicos têm mostrado que os eosinófilos são freqüentemente observados na sub-mucosa brônquica dos pacientes que morreram de asma. Um elo foi observado entre contagem de eosinófilos séricos e função pulmonar ou hiperreatividade brônquica inespecífica (BOUSQUET et al., 1990, p. 1033).

A concentração de ECP no soro se correlaciona com as concentrações de ECP no lavado bronco-alveolar (DAHL, 1993, p. 78). Poderiam haver duas explicações para estas correlações: uma seria a difusão da ECP do processo local no pulmão para o compartimento sanguíneo. Esta explicação é pouco provável, desde que a ECP é uma proteína extremamente pesada e aderente e o esperado seria que ela se unisse aos elementos teciduais antes de alcançar o compartimento sanguíneo. A outra hipótese seria a ativação concomitante dos eosinófilos no sangue e nos pulmões. Já foi demonstrado que os eosinófilos circulantes são ativados em indivíduos asmáticos, e eles têm uma propensão a liberar seus grânulos protéicos. Quanto mais elevados os níveis de ECP no soro, maior a propensão dos eosinófilos a liberar seu conteúdo quando aderidos ao sítio de inflamação no pulmão (VENGE, 1993, p. 3-4).

Em um estudo realizado no Japão, foram medidos os níveis séricos de ECP em 68 crianças com asma brônquica, 11 com dermatite atópica e 13 controles (não atópicos). A concentração média de ECP nas 68 crianças asmáticas foi de $23,7 \pm 21,4$ (2-105,5), significativamente mais elevada que o controle - $5,8 \pm 2,3$ (3-10), enquanto que a das crianças com dermatite atópica a concentração média foi $21,2 \pm 18,7$ (2-80); foi observado neste estudo uma correlação entre os níveis de ECP e a contagem de eosinófilos, e que ambos diminuíram com o tratamento (SUGAY; SAKIYRAMA & MATUMOTO, 1992, p. 275-280).

O efeito *in vivo* das drogas estimulantes e bloqueadoras β_2 -adrenérgicas e de corticosteróides nos eosinófilos séricos e ECP foi estudado por DAHL e VENGE, indicando que os estimulantes adrenérgicos afetam a secreção leucocitária. Quatro indivíduos normais e 2

pacientes com asma brônquica receberam 10 mg de prednisona oral 4 vezes ao dia durante 4 dias. O sangue venoso foi coletado antes e nos 3 dias subsequentes. Quatro indivíduos normais e 4 pacientes com asma brônquica receberam 4 mg de salbutamol oral. O sangue foi colhido imediatamente antes e 3 horas e meia depois. Seis indivíduos normais e 4 pacientes com asma brônquica receberam 40 mg de propranolol oral. Quatro indivíduos normais e 4 asmáticos receberam placebo. A administração de prednisona diminuiu a contagem de eosinófilos e manteve os níveis de ECP. O salbutamol provocou uma queda significativa em ambos. O propranolol aumentou ambos levemente nos asmáticos, enquanto que o placebo não causou diferença, indicando que o efeito eosinopênico parece ser uma propriedade dos β_2 -adrenérgicos. Isso indica que a ECP sérica não é simplesmente dependente da contagem de eosinófilos mas que diferentes mecanismos são responsáveis pela variação nos eosinófilos e ECP (DAHL & VENGE, 1978, p. 321-322).

Estudos prévios mostraram que a estimulação β -adrenérgica dos leucócitos causa uma redução na liberação das enzimas de grânulos. Isto pode explicar a diminuição na ECP sérica depois da estimulação β -adrenérgica em nosso estudo. A diminuição na contagem de eosinófilos em ambos os grupos (FLU e FEN) pode ser o resultado de uma distribuição leucocitária alterada no corpo e não uma alteração do número total.

Os agonistas β_2 -adrenérgicos reduzem ambos, os eosinófilos e a ECP no sangue, muito rapidamente. Não é sabido se esse efeito é transitório e sujeito à taquifilaxia, mas, em um grupo de asmáticos adultos tratados com salmeterol inalatório por 1 ano, uma redução dos eosinófilos séricos foi encontrada, assim como uma redução dos níveis de ECP pós-broncoprovocação. Isto pode indicar uma influência dos β -estimulantes na secreção dos

grânulos dos eosinófilos, mas, estudos são necessários para descobrir a influência dos agonistas β_2 nas mudanças inflamatórias agudas incluindo ECP (DAHL, 1993, P. 78).

WEVER e colaboradores avaliaram as medidas mensais da ECP sérica em um período de 6 meses em relação à função pulmonar, hiperreatividade brônquica e exacerbações em 22 pacientes asmáticos crônicos que estavam em tratamento com corticosteróides inalatórios, além de agonistas β_2 -adrenérgicos (idade variando entre 22 e 64 anos). Mensalmente, amostras de sangue eram colhidas para dosagem de ECP, IgE total e hemograma (leucócitos e eosinófilos). Espirometria era feita a cada consulta e no dia seguinte broncoprovocação com Metacolina. Os broncodilatadores eram suspensos 12h antes. Na análise de regressão, a ECP associou-se inversamente com as variáveis de função pulmonar, especialmente com níveis de ECP > 20 microgramas/l. A níveis de ECP < 20 não houve correlação com estas variáveis. O número de eosinófilos mostrou correlação negativa significativa com as variáveis de função pulmonar. A média dos valores da ECP nas exacerbações e fora delas não demonstrou diferenças significativas.

Esta população de estudo mostrou uma relação negativa entre ECP e obstrução ao fluxo aéreo refletido pelo FEV₁, PEF e FEF 25-75%, especialmente quando a ECP era elevada, entretanto, a PC₂₀ teve uma correlação fraca com a ECP e não houve correlação com níveis elevados de ECP. A eosinofilia, tanto em número quanto em porcentagem não demonstrou correlação negativa com as variáveis de função pulmonar, nem em atópicos nem em não-atópicos. Nesse estudo, a ECP mostrou ser um parâmetro pobre da condição clínica do paciente, sendo o PC₂₀ individual contributório mais para o diagnóstico que para monitorar o status da doença (WEVER et al., 1994, p. 613 - 621).

LA VIOLETTE e colaboradores observaram os efeitos dos corticosteróides inalados nos eosinófilos sanguíneos em asma leve e moderada em 30 asmáticos em estudo duplo-cego

cruzado com pacientes recebendo beclometasona ou placebo, 2 inalações duas vezes ao dia por 6 semanas. Espirometria, medidas da HRB e amostras de sangue foram obtidas na primeira visita e no final de cada período de tratamento nas semanas 6 e 12. Durante o estudo, os pacientes anotaram seus sintomas em escores de 0 a 5, necessidade de broncodilatadores, e PEF em um diário. O FEV₁ permaneceu estável durante o período do estudo e não mudou significativamente; o PEF matinal mostrou um aumento significativo durante o período de beclometasona, diminuíram tosse e necessidade de broncodilatador e aumentaram o PC₂₀ de Metacolina de 0,38 a 1,9 mg/ml (média geométrica). Com a beclometasona inalatória o número de eosinófilos diminuiu significativamente, entretanto, não foi encontrada correlação significativa entre a melhora no PC₂₀ e na contagem de eosinófilos com os corticosteróides inalados. Nesse estudo, a melhora clínica induzida pela beclometasona inalatória acompanhou-se por um decréscimo na contagem de eosinófilos e na produção de LTC₄. Esses achados indicam um decréscimo na ativação eosinofílica no sangue e no recrutamento para a mucosa brônquica. Em conclusão, esse estudo demonstrou que 800 mcg/dia de beclometasona inalatória melhoram os sintomas da asma e da responsividade de vias aéreas, sendo essas melhoras associadas a um decréscimo na contagem e ativação de eosinófilos séricos (LAVIOLETTE et al., 1994, p. 295 - 296).

Em crianças, entretanto, os resultados são muito restritos a extrapolar dos achados em adultos e de medidas indiretas da inflamação pulmonar (VENGE, 1995, p. 34). ZIMMERMAN e TSUI, estudaram 34 crianças, 30 das quais usavam corticosteróides inalatórios em doses maiores que 400 µmg/dia. Dezesete das crianças eram sintomáticas e tinham uma média de ECP de 28,9 µmg/l, que foi significativamente maior que os 17 pacientes assintomáticos (média 18,5 µmg/l) e maiores que os controles não asmáticos (média 9,8 µmg/l). Os pacientes sintomáticos foram tratados com corticosteróides orais e a média da

ECP caiu para 9.8 $\mu\text{mg/l}$ enquanto para os pacientes assintomáticos não houve mudanças significativas. Houve uma correlação significativa entre o grau de mudança no VEF_1 após a terapia com a ECP inicial (quanto menor o VEF_1 , maiores os níveis de ECP). A contagem total de eosinófilos não mostrou esta correlação. Esses resultados sugerem que quando os pacientes com asma leve estavam assintomáticos, seus níveis séricos de ECP permaneciam estáveis (ZIMMERMAN & TSUI, 1993, p. 129 - 130).

O tratamento com β_2 -agonistas pode paradoxalmente aumentar a reatividade das vias aéreas permitindo a maior exposição ao estímulo, que desencadeia a resposta asmática, e /ou por aumentar diretamente o edema de parede de via aérea (PUERINGER & HUNNINGHAKE, 1992, p. 6A-33S).

Observamos melhora clínica em ambos os grupos, com aumento estatisticamente significativo do peak-flow a partir da terceira semana de tratamento e do VEF_1 a partir do 1º mês de tratamento no grupo da Flunisolida, enquanto que, no grupo do Berotec não houveram mudanças significativas. Nos testes de broncoprovocação houve um aumento da média geométrica dos valores após o tratamento (0,19 para 0,27), para o grupo FLU e um decréscimo (0,21 para 0,14) para o grupo FEN, porém sem significância estatística.

EVANS e colaboradores estudaram o efeito da Budesonida (1600 mg/dia por 14 dias) no número e densidade dos eosinófilos em 10 pacientes com asma moderada e estáveis clinicamente, e encontraram uma redução significativa na contagem média de eosinófilos e aumento na PC_{20} . Não foram encontradas diferenças significativas na contagem de leucócitos, entretanto, houve uma redução na média do número de eosinófilos com a budesonida mas não com o placebo (EVANS et al., 1993, p. 646-47). Uma correlação significativa ocorreu entre a PC_{20} e a contagem de eosinófilos periféricos. Entretanto, este mesmo aumento na PC_{20} não se correlacionou com a redução no número de eosinófilos hipodensos (EVANS, 1993, p. 647).

Dentre todos os parâmetros avaliados em nosso estudo, obtivemos significância estatística na correlação VEF_1 e PC_{20} , indicando que, quanto maior a obstrução das VA, traduzida pelo VEF_1 , maior a hiperreatividade brônquica.

Acreditamos que a PC_{20} não sofreu alterações significativas estatisticamente, (apesar da tendência do grupo FLU a uma melhora na PC_{20} e uma tendência inversa no grupo FEN) em parte devido ao tamanho da amostra, e em parte devido ao pouco tempo de tratamento.

Neste estudo não encontramos correlação entre a PC_{20} e a contagem de eosinófilos, diferente do observado por KANTOR JR., que avaliou 43 crianças e adolescentes asmáticos tendo encontrado correlação significativa entre o número de eosinófilos e a DP_{20} (KANTOR JR., 1994, p. 47). Em nossa amostra, os níveis de ECP, tanto no pré quanto após tratamento, embora elevados, não se correlacionaram com o número de eosinófilos, indicando que outros mecanismos estariam envolvidos que não o número de eosinófilos em si.

A Flunisolida associou-se com uma melhora clínica e nos testes de função pulmonar, demonstrando ser uma droga segura e efetiva em crianças, com tendência a diminuir a hiperreatividade brônquica. Nos efeitos adversos encontrados, no grupo FLU houve queixa de gosto desagradável, fato já relatado (DRY et al., 1985, p. 289 -293).

A proteína catiônica eosinofílica (ECP) tem sido considerada nos últimos anos um marcador útil da ativação eosinofílica em pacientes asmáticos.

Comparou-se a variação do número de eosinófilos e dos valores de ECP em crianças com asma atópica moderada pré e pós-tratamento com corticosteróide inalatório (Flunisolida 1000 mcg/dia) e com Fenoterol 800 mcg/dia.

A diminuição dos níveis de ECP com o tratamento por corticóide inalatório foi significativa, bem como a redução no número de eosinófilos. No entanto, o tratamento com

Fenoterol também reduziu os valores de ECP mas não significativamente o número de eosinófilos.

Acredita-se que os β_2 agonistas não diminuem o processo inflamatório (Mc FADDEN, 1995, p.641-642). Como não houve melhora da obstrução das vias aéreas pelo tratamento com o os β_2 agonistas nem alterações da HRB, esta redução dos valores da ECP não está refletindo atividade da doença, pois com o corticosteróide houve melhora clínica e da função pulmonar.

A dosagem de ECP no soro, além de não estar correlacionada com a concentração de Metacolina para reduzir em 20% o VEF₁, não se correlaciona ao VEF₁ basal e tampouco com o número de eosinófilos circulantes. Portanto, os níveis sanguíneos elevados de ECP no asmático podem indicar a participação dos eosinófilos no processo alérgico, mas não são confiáveis em relação à intensidade da reação inflamatória e com valor limitado na monitorização clínica da asma.

Provavelmente outros mecanismos estejam envolvidos na inflamação asmática que suplantem o papel das proteínas derivadas do eosinófilo. Também o efeito eosinopênico dos agonistas adrenérgicos dificulta a avaliação dos níveis de eosinófilos e seus mediadores na monitorização do tratamento em asma. Neste estudo, a ECP teve uma correlação pobre com parâmetros clínicos e espirométricos. Estudos a longo prazo, controlados e duplo-cegos deveriam ser conduzidos no sentido de elucidar o papel do eosinófilo e de seus mediadores, assim como o efeito de drogas antiinflamatórias e broncodilatadoras sobre eles, na tentativa de estabelecer um parâmetro não-invasivo e de fácil acesso para monitorizar a doença, particularmente para o grupo pediátrico.

9 CONCLUSÕES

- 1) Constatou-se um número elevado de eosinófilos e ECP no sangue neste grupo de crianças com asma moderada.
- 2) Estes níveis elevados de ECP, entretanto, não se correlacionaram significativamente com os parâmetros clínicos e espirométricos avaliados.
- 3) O tratamento antiinflamatório (Flunisolida) associou-se a uma melhora significativa no VEF₁ já a partir do primeiro mês de tratamento, a uma diminuição da soma dos escores dos sintomas e teve tendência a diminuir a hiperreatividade brônquica, diferente do observado no grupo que usou broncodilatador (Fenoterol).
- 4) Com o tratamento da asma, tanto com corticosteróide inalatório (Flunisolida) quanto com broncodilatador apenas (Fenoterol), obteve-se um decréscimo nos níveis de ECP. Entretanto, o mesmo não se correlacionou com os outros parâmetros avaliados.
- 5) Os níveis de ECP não se mostraram fiéis para expressar a atividade da doença nestes pacientes.

ANEXO 1 - PACIENTES SELECCIONADOS

Pac nº	Nome	Sexo	Idade	Grupo
01	A C A	m	12 a 7 m	Flunisolida
02	T D C G	m	13 a 2 m	Flunisolida
03	J M	m	7 a 7 m	Flunisolida
04	A M	f	10 a 8 m	Flunisolida
05	J D S	m	12 a 3 m	Flunisolida
06	F B	m	13 a 5 m	Flunisolida
07	F M S	f	8 a 6 m	Fenoterol
08	L A R	f	14 a 9 m	Fenoterol
09	E C F	m	12 a	Fenoterol
10	N M V	f	8 a 6 m	Flunisolida
11	V C	f	16 a 10 m	Fenoterol
12	F M C	f	16 a 4 m	Flunisolida
13	P G M C	f	13 a	Flunisolida
14	R O F	m	8 a 11 m	Flunisolida
15	N R F	m	9 a 4 m	Flunisolida
16	A J A	m	11 a 3 m	Flunisolida
17	K P L	f	9 a 1 m	Flunisolida
18	L G B	f	14 a 9 m	Fenoterol
19	V C S	f	8 a 3 m	Flunisolida

20	CCV	f	10 a 3 m	Flunisolida
21	TD	m	9 a 4 m	Flunisolida
22	RLP	m	8 a 9 m	Flunisolida
23	RF	f	9 a 8 m	Flunisolida
24	AAB	m	12 a 3 m	Fenoterol
25	JACR	m	12 a 3m	Fenoterol
26	LMF	f	9 a 1 m	Fenoterol
27	PS	f	9 a 5 m	Fenoterol
28	WRW	m	9 a 1 m	Fenoterol
29	FS	m	7 a 11 m	Fenoterol
30	KS	f	14 a 1 m	Flunisolida
31	CJM	m	12 a 11 m	Flunisolida
32	DS	m	12 a 5 m	Fenoterol
33	MMF	m	15 a 4 m	Fenoterol
34	EGS	m	10 a	Flunisolida
35	EBS	m	12 a 7 m	Fenoterol
36	RMS	m	12 a 4 m	Fenoterol
37	SB	m	9 a 3 m	Fenoterol
38	FAD	m	11 a 7 m	Fenoterol
39	A	m	11 a 1 m	Fenoterol
40	ELE	m	12 a 10 m	Fenoterol
41	PS	f	14 a 9 m	Fenoterol
42	JAC	f	8 a 3 m	Fenoterol

43	P K B	m	12 a 6 m	Fenoterol
44	W F N	m	12 a	Fenoterol
45	R J S B	m	13 a 9 m	Fenoterol
46	J A V	m	9 a 11 m	Fenoterol
47	C R M	m	11 a	Fenoterol
48	A M B	m	13 a 4 m	Fenoterol
49	M C D	f	11 a 1 m	Flunisolida
50	A P O	m	8 a 8 m	Flunisolida
51	D S	m	12 a 8 m	Flunisolida
52	M M F	m	15 a 7 m	Flunisolida
53	D S	f	13 a 1 m	Flunisolida
54	W O	m	11 a 3 m	Flunisolida
55	R S	m	12 a 8 m	Flunisolida
56	P S	f	15 a	Flunisolida
57	J A C	f	8 a 6 m	Flunisolida
58	A P	m	12 a 1 m	Flunisolida

ANEXO 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO

DESCRIÇÃO E OBJETIVOS DO ESTUDO

Você está convidado a participar de um estudo clínico para determinar se uma nova medicação é eficaz no tratamento da asma. O nome deste produto é Flunisolida, apresentado na forma aerossol spray. Se você concorda em participar deste estudo, você será tratado por no máximo 12 semanas. Se você melhorar com o tratamento, ele poderá ser prolongado, mas esta decisão será tomada por você e o seu médico.

A Flunisolida já é empregada como medicamento antiasmático em diversos países, inclusive nos Estados Unidos da América. A vantagem que ela apresenta sobre os outros medicamentos similares é de ser tão eficaz quanto ou mais, causar menos efeitos colaterais e ser empregada de uma maneira mais cômoda pelo paciente, apenas duas vezes ao dia.

Durante o estudo você consultará ser médico regularmente (num total de até quatro consultas); durante estas consultas você será examinado e os sintomas serão avaliados. Você será orientado para preencher um diário, medir e anotar os valores de *peak-flow* expiratório. Você realizará provas de avaliação da sua condição respiratória antes e depois do período de tratamento, assim fará exames de sangue e fezes.

PARTICIPAÇÃO E TÉRMINO

Sua participação no estudo é voluntária. Assim, você pode recusar-se a participar. Se você decidir participar, você poderá mudar de idéia a qualquer momento e sair do estudo. Nestes casos, você não será penalizado sob hipótese alguma, e continuará a ser tratado normalmente. Sua participação no estudo poderá ser interrompida, se o seu médico assim decidir, para seu benefício, ou se você não seguir as instruções médicas. Se você decidir não mais participar do estudo ou se seu médico tomar esta decisão, você será convocado para uma avaliação final. Você será questionado sobre as reações que você apresentou à medicação.

RISCOS E BENEFÍCIOS

O benefício para você será a possibilidade de melhora da asma; além disso, este estudo poderá servir de base para o melhor conhecimento desse medicamento no tratamento da asma em outros pacientes.

Todo tratamento tem um risco potencial de causar reações. No entanto, as reações colaterais da flunisolida são pouco frequentes. São conhecidas: dores de garganta, tosse, rouquidão, náusea e infecção por *Candida albicans* (sapinho) na boca.

Você será informado de qualquer novidade descoberta sobre o medicamento que possa influenciar sua participação no estudo.

Outros tratamentos alternativos são disponíveis; estes poderão ser discutidos com o seu médico, caso você não concorde em participar deste estudo.

CONFIDENCIALIDADE

Sua identidade será mantida confidencial. Ela só poderá ser desvendada às autoridades autorizadas.

DECLARAÇÃO

Declaro que li e entendi as informações que me foram transmitidas acima, e autorizo que meu (minha) filho (a) _____ participe deste estudo.

Local : _____ Data: _____

Nome : _____

Assinatura _____

Investigador _____

ANEXO 4 - DOENÇAS ALÉRGICAS ASSOCIADAS

Doença alérgica associada	Flunisolida		Fenoterol	
	n°	%	n°	%
Rinite	15	50	14	64
Rinite e Conjuntivite Alérgica	8	27	2	9
Rinite e Urticária	2	7	1	4.5
Urticária	-	-	1	4.5
Eczema	-	-	1	4.5
Rinite e Psoríase	-	-	1	4.5
Rinite, Eczema e Estrófulo	1	3	-	-
Nenhuma	4	13	2	9
Total	30	100	22	100

Comparação entre grupos: teste qui-quadrado considerando duas categorias, com e sem doença alérgica associada $p = 0.63$ (n.s.)

ANEXO 5- ANTECEDENTES FAMILIARES DE ATOPIA

Grau de parentesco	Flunisolida		Fenoterol	
	n.	%	n.	%
Somente 1º grau (pais e/ou irmãos)	3	10	3	14
Somente 2º grau (tios e/ou primos e/ou avós)	6	20	5	23
1º e 2º graus	19	63	12	54
Sem história familiar	2	7	2	9
Total	30	100	22	100

Comparação entre grupos: teste qui-quadrado considerando duas categorias, com e sem história familiar $p=0,74$ (n.s)

ANEXO 6 - AMBIENTE

Presença de animais domésticos e de fumantes ativos no domicílio

	Flunisolida		Fenoterol		Comparação entre grupos
	n.	(%)	n.	(%)	
Fumantes					
Não	19	(63)	14	(64)	$\chi^2 = 0,07$
Sim	11	(37)	8	(36)	$p = 0,78$ (n.s.)
Pai	5		5		
Mãe	2		2		
Pai e mãe	3		-		
Pai e outros	-		-		
Avós	1		-		
Irmãos	-		1		
Animais em casa					
Sim	24	80	14	64	$\chi^2 = 1,00$
Não	6	20	8	36	$p = 0.3183$

ANEXO 7 - ESCORE CLÍNICO MENSAL

Soma dos escores dos sintomas subjetivos em relação ao tratamento
Os valores são representados por média \pm desvio padrão.

	Pré - trat	Após 1 mês	Após 2 meses	Após 3 meses
Flunisolida	7,7 \pm 2.8	3,8 \pm 2,5 (***)	3,1 \pm 2,5 (***)	2,0 \pm 2,11(***)
limites	4 - 13	0 - 9	0 - 10	0 - 7
Fenoterol	6,8 \pm 2.2	4,2 \pm 2,1 (***)	3,3 \pm 2,1 (***)	4,2 \pm 2,1 (***)
limites	2 - 13	0 - 7,50	0 - 7,50	0 - 9

Não havia diferença significativa entre os grupos (teste de Mann Whitney).

Comparação com o pré-tratamento : (***) = $p < 0.001$
(teste de Friedman para comparações múltiplas).

ANEXO 8 - MEDIDAS DA CAPACIDADE VITAL FORÇADA (CVF) ANTES E APÓS O TRATAMENTO
EM AMBOS OS GRUPOS
média ± desvio padrão (min. - max.)

Grupo	Pré-trat	Após 1 mês	Após 2 meses	Após 3 meses
CVF pré-broncod (% normal)	89,1 ± 14,9 53 - 122	94,6 ± 17,7 70 - 147	91,4 ± 13,9 59 - 124	91,8 ± 23,5 9 - 166
Fenoterol	90,1 ± 11,2 69 - 117	89,0 ± 12,0 65 - 115	88,6 ± 18,1 50 - 141	86,4 ± 8,4 70 - 102
CVF pós-broncod (% normal)	97,3 ± 17,2 60 - 137	102,3 ± 21,6 49 - 163	99,9 ± 21,2 63 - 175	95,9 ± 11,2 70 - 121
Fenoterol	104,6 ± 33,9 68 - 232	94,9 ± 13,2 54 - 117	96,3 ± 8,1 79 - 112	93,8 ± 11,5 83 - 127

Comparação entre grupos (teste de Mann-Whitney) : não houve diferença significativa entre os grupos de tratamento.

Comparação com o pré-tratamento: (teste de Friedman) : não houve diferença significativa entre os períodos de tratamento para ambos os grupos.

ANEXO 9 - MEDIDAS DO FLUXO EXPIRATÓRIO FORÇADO (FEF 25 - 75%) ANTES E APÓS O TRATAMENTO
EM AMBOS OS GRUPOS
média ± desvio padrão (min. - max.)

Grupo	Pré-trat	Após 1 mês	Após 2 meses	Após 3 meses
FEF pré-broncod (% normal)				
Flunisolida	44,5 ± 16,7 (22 - 96)	58,3 ± 19,0 (***) (29 - 116)	57,1 ± 21,5 (**) (22 - 115)	59,7 ± 20,0 (**) (31 - 95)
Fenoterol	49,3 ± 14,2 (26 - 79)	54,3 ± 23,0 (19 - 110)	50,3 ± 22,1 (18 - 127)	50,5 ± 21,9 (27 - 129)
FEF 1 pós-broncod (% normal)				
Flunisolida	59,0 ± 17,7 (27 - 100)	80,8 ± 21,2 (***) (47 - 121)	78,5 ± 25,1 (**) (97 - 124)	72,6 ± 23,0 (**) (30 - 117)
Fenoterol	66,3 ± 21,0 (36 - 110)	73,8 ± 25,3 (39 - 132)	78,4 ± 25,4 (38 - 140)	62,8 ± 17,4 (33 - 91)

Comparação entre grupos (teste de Mann-Whitney) : não houve diferença significativa entre os grupos de tratamento.

Comparação com o pré-tratamento: *** p < 0,001 ** p < 0,01 * p < 0,05 (teste de Friedman com comparações múltiplas).

ANEXO 10 - AVALIAÇÃO DO DIÁRIO DO PACIENTE - média semanal dos valores

	Semana de tratamento											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Soma dos escores	1,4	0,8(*)	0,8(*)	1,1	0,9	0,9	1,1	0,8(*)	1,1	0,8	0,8	1,0
Flunisolida												
dos sintomas-noturno	1,1	1,2	1,0	1,0	0,6(*)	0,4(**)	0,5(*)	0,5(**)	0,6(*)	0,5(**)	0,7	0,6
Fenoterol												
Soma dos escores	1,4	1,1(**)	0,6	0,9	0,9	0,8	0,8(*)	0,6(*)	1,1	0,6(*)	0,7(**)	1,0
Flunisolida												
dos sintomas-diurno	1,1	1,2	1,3	1,0	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,7
Fenoterol												
Nº de vezes que usou	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
Flunisolida												
bronc.-noturno	0,1	0,2	0,3	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,2
Fenoterol												
Nº de vezes que usou	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3
Flunisolida												
bronc.-diurno	0,4	0,5	0,6	0,5	0,4	0,4	0,5	0,4	0,3	0,1	0,1	0,1
Fenoterol												

Comparação entre grupos (teste de Mann-Whitney) : não houve diferença significativa entre os grupos.
 Comparação com o pré-tratamento: (teste de Friedman com comparações múltiplas) : p<0.05 ** p<0.01.
 Sintomas : tosse, chiado e cansaço no peito.

ANEXO 11 - MEDIDAS DOS VALORES DO PICO DO FLUXO EXPIRATORIO (PFE)
média semanal

		Semana de tratamento											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Pico de Fluxo Exp.	Flunisolida	272,2	276,0	280,6	294,3	283,5	289,9	288,5	287,2	285,4	290,9	295,0	290,0
(l/min) - noturno	Fenoterol	281,3	280,9	274,6	280,6	277,2	284,7	289,1	285,0	297,6	292,7	296,1	294,2
Pico de Fluxo Exp.	Flunisolida	255,8	263,1	271,5	290,6**	275,2	284,8	282,5	281,8	293,7	282,4	297,6*	291,9
(l/min) - diurno	Fenoterol	253,9	256,4	251,3	259,1	257,6	270,1*	266,7	268,8	269,4	275,8	279,5*	281,4**
PFE mínimo matinal	Flunisolida	57,9	62,8	65,5*	69,4**	65,7*	68,0**	65,7*	66,7**	66,0*	66,1*	67,9*	63,9(**)
(% do melhor valor)	Fenoterol	53,7	57,8	56,3*	58,6**	60,5**	59,9**	60,6**	61,6**	62,5**	64,7**	64,6**	63,9**

ANOVA - Análise de Perfis : Comparação entre grupos: não significante

Comparação com o pré-tratamento: * p<0.05 ** p<0.01

ANEXO 12 - DOSAGEM DE CORTISOL PRÉ E PÓS-TRATAMENTO
 média ± desv. pad. (mínimo - máximo)

	Grupo	Pré-tratamento	Pós-tratamento	Diferença entre pré e pós-tratamento*
Cortisol (mg/dl)	Flunisolida	13,05 ± 9,20	15,19 ± 7,77	n.s. (p=0,3181)
	Fenoterol	2,80 - 49,71	3,23 - 30,51	
Diferença entre grupos**		10,58 ± 4,30	13,40 ± 5,60	p < 0,05 (p = 0.0021)
		1,40 - 20,46	5,30 - 27,04	
		n. s.	n. s.	
		(p = 0,25)	(p = 0,36)	

* teste t-Student para amostras pareadas.

** teste t - Student para amostras independentes

ANEXO 13 - HEMOGRAMA PRÉ E PÓS-TRATAMENTO

média ± desv. pad. (mínimo - máximo)

Parâmetro	Grupo	Pré-trat	Pós trat	Diferença entre pré e pós trat*
Eitrocitos (/min ³ x 10 ⁶)	Flunisolida	5,06 ± 0,60	4,86 ± 0,63	n. s.
		4,21 - 7,10	4,00 - 7,10	
	Fenoterol	5,20 ± 1,05	5,00 ± 0,46	n. s.
		4,26 - 9,30	4,00 - 5,97	
	Diferença entre grupos**	n. s.	n. s.	
Hemoglobina (g/100ml)	Flunisolida	13,60 ± 1,60	13,50 ± 1,10	n. s.
		7,80 - 16,40	10,30 - 15,40	
	Fenoterol	14,00 ± 1,00	14,30 ± 1,10	
		12,40 - 15,80	12,70 - 16,90	
	Diferença entre grupos**	n. s.	p= 0,028 (p<0,05)	
Hematócito (%)	Flunisolida	41,10 ± 3,10	40,30 ± 2,30	n. s.
		34,60 - 47,10	36,30 - 45,90	
	Fenoterol	41,70 ± 3,20	42,10 ± 3,50	
		36,40 - 48,10	36,90 - 49,80	
	Diferença entre grupos**	n. s.	n. s.	

* teste t-Student para amostras pareadas.

** teste t - Student para amostras independentes

ANEXO 13 - HEMOGRAMA PRÉ E PÓS-TRATAMENTO (Continuação)
 média ± desv. pad. (mínimo - máximo)

Parâmetro	Grupo	Pré-trat	Pós trat	Diferença entre pré e pós trat*
Leucócitos (/mm ³)	Flunisolida	8409 ± 2996 4460 - 17000	7561 ± 2177 4100 - 15100	n. s.
	Fenoterol	7724 ± 1636 5000 - 11100	7486 ± 1724 4500 - 10700	n. s.
	Diferença entre grupos**	n. s.	n. s.	

* teste t-Student para amostras pareadas.

** teste t - Student para amostras independentes

ANEXO 14 - EVOLUÇÃO DOS PARÂMETROS AVALIADOS NO EXAME FÍSICO
 média ± desvio padrão (mínimo - máximo)

Grupo	Pré-trat	Após 1 mês	Após 2 meses	Após 3 meses	
Peso (kg)	Flunisolida	34,30 ± 9,20	34,90 ± 9,60(**)	35,00 ± 9,80 (*)	35,20 ± 10,10 (***)
	Fenoterol	20,50 - 60,50	21,70 - 61,50	20,50 - 62,00	20,50 - 63,50
Altura (cm)	Flunisolida	36,60 ± 11,20	37,30 ± 10,70	38,00 ± 10,90 (*)	38,90 ± 11,10 (**)
	Fenoterol	24,00 - 61,00	24,00 - 59,00	24,50 - 60,00	23,00 - 62,00
Frequência cardíaca (batimentos / min)	Flunisolida	141,4 ± 11,20	141,70 ± 11,10	142,30 ± 11,20 (***)	142,70 ± 11,10 (***)
	Fenoterol	121 - 162,50	121,50 - 162	121,50 - 163	122 - 164
Frequência respir. (/min)	Flunisolida	144,50 ± 14,60	145,60 ± 14,70 (***)	146,10 ± 14,80 (***)	146,9 ± 15,10 (***)
	Fenoterol	125 - 168	126 - 169,50	126 - 170	126,50 - 171,50
Comparação intra e entre grupos (ANOVA - Análise de Perfis) : não houve diferença significativa entre os grupos para nenhum parâmetro	Flunisolida	86,40 ± 12,40	86,30 ± 9,60	83,80 ± 7,90	83,10 ± 7,30
	Fenoterol	64 - 120	76 - 124	68 - 100	68 - 100
Comparação com pré-trat : *p<0.05 ** p<0.01 *** p<0.001	Flunisolida	85,90 ± 8,90	82,90 ± 9,30	81,80 ± 9,40	82,00 ± 5,50
	Fenoterol	72 - 100	68 - 100	60 - 100	68 - 88
Comparação com pré-trat : *p<0.05 ** p<0.01 *** p<0.001	Flunisolida	20,50 ± 3,30	19,90 ± 2,70	20,80 ± 3,00	19,10 ± 2,00
	Fenoterol	16 - 29	16 - 28	16 - 32	16 - 22
Comparação com pré-trat : *p<0.05 ** p<0.01 *** p<0.001	Flunisolida	20,00 ± 3,20	19,60 ± 3,40	19,90 ± 2,50	20,30 ± 2,00
	Fenoterol	15 - 28	12 - 28	16 - 24	16 - 24

Comparação intra e entre grupos (ANOVA - Análise de Perfis) : não houve diferença significativa entre os grupos para nenhum parâmetro
 Comparação com pré-trat : *p<0.05 ** p<0.01 *** p<0.001

ANEXO 14 - EVOLUÇÃO DOS PARÂMETROS AVALIADOS NO EXAME FÍSICO
(Continuação)

	Grupo	Pré-trat	Após 1 mês	Após 2 meses	Após 3 meses	
Ausculta	Flunisolida	ausente	22 (73%)	23 (77%)	23 (77%)	25 (83%)
		presente	8 (27%)	7 (23%)	7 (23%)	5 (17%)
	Fenoterol	ausente	21 (95%)	18 (82%)	21 (95%)	19 (86%)
		presente	1 (5%)	4 (18%)	1 (5%)	3 (14%)
Orofaringe	Flunisolida	normal	29 (97%)	28 (93%)	30 (100%)	30 (100%)
		hiperemia	1 (3%)	2 (7%)	-	-
	Fenoterol	normal	22 (100%)	22 (100%)	22 (100%)	22 (100%)
		hiperemia	-	-	-	-

ANEXO 15 - AVALIAÇÃO GLOBAL DO TRATAMENTO

Avaliação do tratamento	Avaliação do pesquisador		Avaliação do paciente	
	Flunisolida	Fenoterol	Flunisolida	Fenoterol
Melhora acentuada	24 (80%)	7 (32%)	23 (77%)	7 (32%)
Melhora discreta	5 (17%)	6 (27%)	7 (23%)	10 (45%)
Inalterado	1 (3%)	9 (41%)	—	5 (23%)
Total	30 (100%)	22 (100%)	30 (100%)	22 (100%)

Diferença entre grupos $p < 0,01$ $p < 0,01$
 (teste qui-quadrado com as categorias melhora discreta e inalterado agrupadas)

ANEXO 16 - PRINCIPAIS EXAMES ANALISADOS

Pac nº	Grupo	VEF ₁ - 1ª	VEF ₁ - 4ª	PC ₂₀ - 1ª	PC ₂₀ - 4ª	Eos - 1ª	Eos - 4ª	ECP - 1ª	ECP - 4ª
01	Flunisolida	60%	94%	0,02	0,05	620	780	168,58	25,77
02	Flunisolida	61%	72%	0,01	0,02	1025	327	16,10	18,22
03	Flunisolida	71%	110%	0,21	0,02	1197	451	120,24	60,33
04	Flunisolida	77%	100%	0,17	0,13	105	52	19,38	6,20
05	Flunisolida	75%	83%	3,50	2,70	165	82	6,68	7,24
06	Flunisolida	72%	89%	0,08	5,00	710	497	33,37	41,87
07	Fenoterol	56%	65%	0,06	0,03	1300	1372	57,32	58,44
08	Fenoterol	70%	66%	0,01	0,12	345	69	18,77	7,86
09	Fenoterol	79%	90%	0,03	1,35	390	582	17,50	3,31
10	Flunisolida	78%	63%	1,20	0,81	850	1862	79,90	21,38
11	Fenoterol	84%	93%	5,20	7,00	0	441	34,24	10,05
12	Flunisolida	73%	83%	1,50	0,48	979	684	36,25	5,40
13	Flunisolida	60%	71%	1,30	>25	305	384	9,90	9,36
14	Flunisolida	63%	100%	0,13	0,61	222	340	63,07	3,97

Pac n°	Grupo	VEF ₁ - 1ª	VEF ₁ - 4ª	PC ₂₀ - 1ª	PC ₂₀ - 4ª	Eos - 1ª	Eos - 4ª	ECP - 1ª	ECP - 4ª
15	Flunisolida	77%	85%	0,78	1,40	1254	660	41,04	7,63
16	Flunisolida	79%	76%	0,22	0,01	444	170	49,71	13,81
17	Flunisolida	66%	78%	0,44	0,61	1020	574	43,79	31,56
18	Fenoterol	85%	—	0,40	—	932	—	20,00	—
19	Flunisolida	79%	87%	1,40	0,23	3024	1679	33,96	8,46
20	Flunisolida	65%	75%	0,12	0,32	890	767	52,34	2,90
21	Flunisolida	89%	85%	0,73	0,96	609	515	18,94	0,40
22	Flunisolida	75%	100%	3,50	1,90	767	840	7,47	0,50
23	Flunisolida	71%	69%	0,12	0,16	836	0	17,24	4,30
24	Fenoterol	84%	84%	0,30	0,07	994	540	41,47	1,80
25	Fenoterol	81%	75%	3,60	1,70	424	270	3,18	0,40
26	Fenoterol	77%	59%	0,37	0,02	1288	702	42,30	2,50
27	Fenoterol	88%	76%	6,10	2,10	714	296	6,20	1,10
28	Fenoterol	79%	75%	1,99	0,43	1425	855	41,09	3,10
29	Fenoterol	68%	77%	2,00	0,40	444	146	17,55	1,90
30	Flunisolida	65%	63%	0,11	0,05	390	686	17,64	14,80

Pac n°	Grupo	VEF₁ - 1ª	VEF₁ - 4ª	PC₂₀ - 1ª	PC₂₀ - 4ª	Eos - 1ª	Eos - 4ª	ECP - 1ª	ECP - 4ª
31	Flunisolida	74%	56%	0,18	0,01	1105	440	5,80	1,80
32	Fenoterol	80%	81%	0,07	0,04	824	176	21,30	2,10
33	Fenoterol	82%	61%	0,03	0,03	1665	808	5,70	1,60
34	Flunisolida	66%	83%	0,25	0,33	254	324	24,10	10,50
35	Fenoterol	62%	—	0,10	—	1216	—	2,20	—
36	Fenoterol	70%	69%	0,25	0,03	1776	1128	4,90	4,90
37	Fenoterol	70%	—	1,60	—	1071	—	2,10	—
38	Fenoterol	62%	80%	0,04	0,36	136	73	1,40	0,90
39	Fenoterol	75%	—	0,27	—	644	—	1,50	—
40	Fenoterol	63%	—	0,01	—	858	—	6,70	—
41	Fenoterol	65%	63%	0,01	0,04	1053	864	1,80	1,80
42	Fenoterol	77%	82%	0,17	0,41	1584	348	3,40	1,10
43	Fenoterol	82%	62%	0,46	0,09	568	469	0,60	1,10
44	Fenoterol	78%	56%	0,15	0,19	826	935	5,10	2,90
45	Fenoterol	62%	57%	0,14	0,18	288	330	3,10	2,70
46	Fenoterol	74%	75%	0,81	0,07	390	427	1,40	0,30

Pac n°	Grupo	VEF ₁ - 1 ^a	VEF ₁ - 4 ^a	PC ₂₀ - 1 ^a	PC ₂₀ - 4 ^a	Eos - 1 ^a	Eos - 4 ^a	ECP - 1 ^a	ECP - 4 ^a
47	Fenoterol	68%	73%	0,05	0,01	1440	1712	13,60	18,00
48	Fenoterol	66%	68%	0,02	0,01	945	1024	3,30	0,70
49	Flunisolida	41%	73%	0,09	0,09	252	420	2,80	2,20
50	Flunisolida	87%	95%	0,04	5,80	375	120	6,00	3,80
51	Flunisolida	81%	—	0,05	—	176	—	2,10	—
52	Flunisolida	61%	77%	0,03	0,03	808	747	1,60	4,70
53	Flunisolida	53%	64%	0,84	0,09	1748	552	0,30	0,90
54	Flunisolida	69%	72%	0,32	0,48	648	560	0,60	0,50
55	Flunisolida	69%	83%	0,25	0,35	770	1034	4,90	1,20
56	Flunisolida	63%	70%	0,04	0,03	864	308	1,80	0,20
57	Flunisolida	82%	88%	0,42	2,50	560	348	1,30	1,90
58	Flunisolida	69%	69%	0,05	0,14	360	858	1,31	1,90

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN ACADEMY OF ALLERGY AND IMMUNOLOGY. Positions statement: allergen skin testing. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 92, p. 636-637, 1993.
- ÄDELROTH, E. et al. Inflammatory cells and eosinophilic activity in asthmatics investigated by bronchoalveolar lavage. **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v. 142, p. 91-99, 1990.
- AHLSTEDT, S. et al. Clinical assessment of the inflammatory component of asthma with emphasis on the eosinophils. **Pharmac. Med.**, St. Louis, v. 6, p. 99-111, 1992.
- AHLSTEDT, S.; PETERSON, C. G. B.; ENANDER, I.. Update in allergy in childhood asthma: how do you know whether you are successfully controlling the patient's inflammation? **Pediatr. Pulmonol.**, New York, supl. 11, p. 32-33, 1995.
- AMERICAN ACADEMY OF ALLERGY ASTHMA AND IMMUNOLOGY. Inhaled β_2 -adrenergic agonists in asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 91, p. 1234-1237, 1993.
- AMERICAN ACADEMY OF ALLERGY ASTHMA & IMMUNOLOGY ANNUAL MEETING. (52. : 1996 : [S.I.]) **Eosinophil derived mediators.** [S.I.] : Am. Acad. Allergy Asthma Immunol., 1996.
- AMERICAN THORACIC SOCIETY. Standardization of spirometry - 1987 update. **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v. 136, p. 1285-1298, 1987.

- AYARS, G. H. et al. Eosinophil - and eosinophil granule - mediated pneumocyte injury. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 76, p. 595-604, 1985.
- BARNES, P. J. From pathophysiological mechanisms to pharmacological treatment of childhood asthma. **Pediatric Pulmonol.**, New York, suppl. 11, p. 40-41, 1995.
- BARNES, P. J. Inhaled glucocorticoids for asthma. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 332, n. 13, p. 868-332, 1995.
- BARNES, P. J.; PEDERSEN, S. Efficacy and safety of inhaled corticosteroids in asthma. **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v. 148, p. S1-S26, 1993.
- BARRET, T. E.; STROM B. L. Inhaled beta-adrenergic receptor agonists in asthma: more harm than good? **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, New York, v. 151, p. 574 - 577, 1995.
- BATTU, K.; COLLINS-WILLIAMS, C.; ZALESKEY, C. Evaluation of home-monitoring of asthmatic children with the mini-wright peak flow meter. **J. Asthma**, New York, v. 19, n. 1, p. 33-37, 1982.
- BAXTER, J. D.; TYRRELL, J. B. Evaluation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: importance in steroid therapy, AIDS, and other stress syndromes. **Adv. Int. Med.**, Chicago, v. 39, p. 667-697, 1994.
- BENEDICTIS, F. M. et al. Nebulized flunisolide in infants and young children with asthma: a pilot study. **Pediatr. Pulmonol.**, v. 21, p. 310 - 315, 1996.
- BEWIG, B.; BARTH J. Inhibitory effects of inhaled flunisolide on inflammatory functions of alveolar macrophages. **Eur. J. Clin .Pharmacol.**, Amsterdam, v. 44, p. 541-544, 1993.
- BIERMAN, C. W.; SHAPIRO, G. G. Clinical expression of bronchial hyperreactivity in children. **Clin. Rev. Allergy**. Clifton, v. 7, n.3, p.301-320.

- BISGAARD, H. et al. Allergen-induced increase of eosinophil cationic protein in nasal lavage fluid: effect of the glucocorticoid budesonide. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis , v. 85, n. 5, p. 891-895, 1990.
- BONER, A. L.; MARTINATI, L. C. Clinical diagnostics of infant asthma. **Pediatr. Pulmonol.**, New York, suppl. 11, p. 36-37, 1995.
- BONINI, S. et al. Markers of eosinophilic inflammation in allergic diseases. **Allergy**, Copenhagen, v.48, p. 133-137, 1993.
- BOUSQUET, J. et al. Eosinophilic inflammation in asthma. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 323, n. 15, p. 1033-1039, 1990.
- BROOK, U. The importance of inhalation of beta₂ sympathomimetic drugs in the home care treatment of asthma in children. **Ann. Allergy**, Mc Leon, v. 63, p. 37-38, 1989.
- BUSSE, W. W. The effect of treatment with corticosteroids on asthma airway structure and function. **Chest**, Northbrook, v. 107, n. 3, p. 136S-138S, 1995.
- CANNY, G. J.; LEVISON, H. Aerosols — therapeutic use and delivery in childhood asthma. **Ann. Allergy**, Mc Leon, v. 60, p. 11-20, 1988.
- CANNY, G. J.; LEVISON, H. Childhood asthma: a rational approach to treatment. **Ann. Allergy**, Mc Leon, v. 64, p. 406-414, 1990.
- CANONICA, G. W. et al. Adhesion molecules in allergic inflammation : The inflammatory process and cell adhesion. **In: Annual Meeting Grand Symposium.** (52. : 1996 : Leicester).
- CARLSON, M. et al. Releasability of human hypereosinophilic eosinophils is related to the density of the cells. **Br. J. Haematol.**, Oxford, v. 86, p. 41-47, 1994.

- CAVANAUGH, M. J.; BRONSKY, E. A.; BUCKLEY, J. M. Clinical value of bronchial provocation testing in childhood asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 59, n. 1, p. 41-47, 1977.
- CAVIGIOLI, G. et al. Reproducibility of allergen-induced asthma and associated increase in bronchial responsiveness to methacoline in asthmatic children. **Ann. Allergy**, Mc Leon, v. 70, p. 411-417, 1993.
- CHAPMAN, K. R.; KESTEN, S.; SZALAI, J. P. Regular vs as-needed inhaled salbutamol in asthma control. **Lancet**, London, v. 343, p. 1379-1382, 1994.
- CHECK W. A.; KALINER, M. A. Pharmacology and pharmacokinetics of topical corticosteroid derivatives used for asthma therapy. **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v. 141, p. S44-S51, 1990.
- CHURCH, J. A.; RICHARDS W. Routine laboratory determinations in pediatric allergic disease. **Ann. Allergy**, Mc Leon, v. 41, p. 136-139, 1978.
- COCKCROFT, D. W. Bronchial inhalation tests I. Measurement of nonallergic bronchial responsiveness. **Ann. Allergy**, Mc Leon, v. 55, p. 527-534, 1985.
- COCKCROFT, D. W. Bronchial inhalation tests II. Measurement of allergic (and occupational) bronchial responsiveness. **Ann. Allergy**, Mc Leon, v. 59, p. 89-98, 1987.
- COOKSON, W. O. C. M. et al. Falls in peripheral eosinophil counts parallel the late asthmatic response. **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v. 139, p. 458-462, 1989.
- CRAPO, R. O.; MORRIS, A. H.; GARDNER, R. M. Reference spirometric values using techniques and equipment that meet ATS recommendations. **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v. 123, p. 659-664, 1981.

- CUNNINGHAM, A. Eosinophil counts: Age and sex differences. **J. Pediatr.**, St. Louis, v. 87, n. 3, p. 426-426, 1975.
- DAHL, R. Monitoring bronchial asthma in the blood. **Allergy**, Copenhagen, v. 48, p. 77-80, 1993.
- DAHL, R.; VENGE, P. Blood eosinophil leukocyte and eosinophil cationic protein. **Scand. J. Resp. Dis.**, Copenhagen, v. 59, p. 319-322, 1978.
- DAHL, R.; VENGE, P.; OLSSON, I. Variations of blood eosinophils and eosinophil cationic protein in serum in patients with bronchial asthma. **Allergy**, Copenhagen, v. 33, p. 211-215, 1978.
- DAY, S.; GRAHAM, D. F. Sample size and power for comparing two or more treatment groups in clinical trials. **Br. Med. J.**, London, v. 299, p. 663-665, 1989.
- DEMUTH, G. R.; HOWATT, W. F.; HILL, B. V. Forced flow rates. **Pediatrics**, Evanston, v. II, p. 200-210, 1965.
- DICKMAN, M. L.; SCHMIDT, C. D.; GARDNER, R. M. Spirometric standards for normal children and adolescents (ages 5 years through 18 years). **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v. 104, n. 4, p. 680-687, 1971.
- DRY, J. et al. A comparison of flunisolide inhaler and beclomethasone dipropionate inhaler in bronchial asthma. **J. Int. Med. Res.**, Northampton, v. 13, p. 289-293, 1985.
- DURHAM, S. R. et al. Blood eosinophils and eosinophil-derived proteins in allergic asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 84, n. 6, p. 931-936, 1989.
- DURHAM, S.R. Allergic inflammation. **Pediatr. Allergy Immunol.**, Copenhagen, v. 4, n. 4, p. 7-12, 1993.

- ENRIGHT, P. L.; LEBOWITZ, M. D.; COCKROFT Donald W. Physiologic measures: pulmonary function tests. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, New York, v. 149, p. S9-S18, 1994.
- EVANS, P. M. et al. Effect of inhaled corticosteroids on peripheral blood eosinophil counts and density profiles in asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 91, p. 643-650, 1993.
- FERGUSON, A. C. et al. Evaluation of serum eosinophilic cationic protein as a marker of disease activity in chronic asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 95, p. 23-28, 1995.
- FREW, A. J.; KAY, A. B. Eosinophils and T-lymphocytes in late-phase allergic reactions. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 85, n. 3, p. 533-539, 1990.
- FRIGAS, E.; GLEICH, G. J. The eosinophil and the pathophysiology of asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 77, n. 4, p. 527-537, 1986.
- FUKUDA, T.; GLEICH, G. J. Heterogeneity of human eosinophils. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 83, n. 2, p. 369-373, 1989.
- GLEICH, G. J. The eosinophil and bronchial asthma: current understanding. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 85, n.2, p. 422-436, 1990.
- GOLDSTEIN, D. E.; KÖNIG P. Effect of inhaled beclomethasone dipropionate on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in children with asthma. **Pediatrics**, Evanston, v. 72, p. 60-64, 1983.
- GRIFFIN, E. et al. Blood eosinophil number and activity in relation to lung function in patients with asthma and with eosinophilia. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 87, n. 2, p. 548-557, 1991.

- HAKANSSON, L. et al. Increased adhesion to vascular cell adhesion molecule - 1 and intercellular adhesion molecule - 1 of eosinophils from patients with asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 96, p. 941 - 950, 1995.
- HARGREAVE, F. E. et al. Bronchial responsiveness to histamine or methacholine in asthma: measurement and clinical significance. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 68, n. 5, p. 347-355, 1981.
- HELLEN, B. et al. Effect of high dose inhaled fluticasone propionate on airway inflammation in asthma. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, New York, v. 152, p. 45 - 52, 1995.
- HELSING, K. J. et al. Comparison of three standardized questionnaires on respiratory symptoms. **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v. 120, p. 1221-1231, 1979.
- HIGGINS, B. G. et al. Comparison of bronchial reactivity and peak expiratory flow variability measurements for epidemiologic studies. **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v. 145, p. 588-593, 1992.
- HOGG, J. C.; JAMES, A. L.; PARE, Peter D. Evidence for inflammation in asthma. **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v. 143, p. S39-S42, 1991.
- HOLGATE, S. T.; ROCHE, W. R.; CHURCH, M. K. The role of the eosinophil in asthma. **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v. 143, p. S66-S70, 1991.
- HORN, B. R. et al. Total eosinophil counts in the management of bronchial asthma. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 292, p. 1152-1155, 1975.
- JUNIPER, E. F.; FRITH, F. E.; HARGREAVE, F. E. Airway responsiveness to histamine and methacholine: relationship to minimum treatment to control symptoms of asthma. **Thorax**, London, v. 36, p. 575-579, 1981.

- JUNTUNEN-BACKMAN, K.; JÄRVINEN, P.; SORVA, R.. Serum eosinophil cationic protein during treatment of asthma in children. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 92, p. 34-38, 1993.
- KANNER, R. E. et al. Spirometry in Children. **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v. 127, p. 720-724, 1983.
- KANTOR JUNIOR, O. **Papel dos eosinófilos na reação alérgica mediada pela IgE, na asma em crianças e adolescentes.** Curitiba, 1994. Dissertação (Mestrado em Pediatria) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
- KERREBJIN, K. F.; ESSEN-ZANDVLIET, E. E. M. Van; NEIJENS, H. J. Effect of long-term treatment with inhaled corticosteroids and beta-agonists on the bronchial responsiveness in children with asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 79, p. 653-659, 1987.
- KITA, H. et al. Effects of steroids on immunoglobulin-induced eosinophil degranulation. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 87, p. 70-77, 1991.
- KÖNIG, P. The risks and benefits of inhaled corticosteroids. **Eur. Respir. Rev**, Copenhagen, v. 3, n. 15, p. 501-510, 1993.
- KOSHINO, T. et al. Activation of bone marrow eosinophils in asthma. **Chest**, Northbrook, v. 103, n. 6, p. 1931-1932, 1993.
- KOVALHUK, L. C.; ROSÁRIO FILHO, N. A. Conduta profilática na asma brônquica. **Pediatria Moderna**, São Paulo, v. 32, n. 6, p. 602-614, 1996.
- KRAAN, J. et al. Changes in bronchial hyperreactivity induced by 4 weeks of treatment with antiasthmatic drugs in patients with allergic asthma: A comparison between budesonide and terbutaline. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 76, n. 4, p. 628-636, 1985.

- LANDAU, L. I. Natural history of childhood asthma. **Pediatr. Pulmonol.**, New York, suppl. 11, p. 30-31, 1995.
- LARSEN, G. Inflammation and Immunopathology. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, New York, v. 151, n. 2, p. S13 - S14, 1995.
- LAVIOLETTE, M. et al. Effects of inhaled steroids on blood eosinophils in moderate asthma. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, New York, v. 725, p. 288-297, 1994.
- LEBOWITZ, M. D. The use of peak expiratory flow rate measurements in respiratory disease. **Pediatr. Pulmonol.**, New York, n. 11, p. 166-174, 1991.
- LIEBERMAN, P. Update on inflammation and hyperresponsiveness in asthma. **J. Respir. Dis.** Greenwich, U. S. A., v. 15, n. 9A, p. S8 - S18, 1994.
- LORENTZSON, S. et al. Use of inhaled corticosteroids in patients with mild asthma. **Thorax**, London, v. 45, p. 733-735, 1990.
- McFADDEN Jr., E. R. Perspectives in β_2 -agonist therapy: vox clamantis in deserto vel lux in tenebris? **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 95, n. 3, p. 641-651, 1995.
- McFADDEN, E. R.; GILBERT, I. A. Asthma. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 327, n. 27, p. 1928-1935, 1992.
- MIRANDER, J. Clinical documentation of inflammation markers in asthma. **Clin. Exp. Allergy**, Oxford, v. 23, p. 13-14, 1993.
- MONSON, J. P. Systemic effects of inhaled corticosteroids. **Thorax**, London, v. 48, p. 955-956, 1993.

- MUELLER, G. A.; EIGEN, H.. Pediatric pulmonary function testing in asthma. **Asthma**, [S.l.], v. 39, n. 6, p. 1243-1258, 1992.
- MUNCK, A. et al. Glucocorticoid receptors and actions. **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v.141, p. S2-S10, 1990.
- NATIONAL ASTHMA EDUCATION PROGRAM. **Executive summary: guidelines for the diagnosis and management of asthma**. Bethesda, v. 91, p. 3042A, 1991.
- NIGGEMANN, B. et al. Twenty-four-hour time course of eosinophil granule proteins ECP and EPX during bronchial allergen challenges in serum of asthmatic children. **Allergy**, Copenhagen, v. 49, p. 74-80, 1994.
- NATIONAL HEART, LUNG AND BLOOD INSTITUTE. **Global Strategy for asthma**. [S.l.], 1995. Cap. 5: Diagnosis and classification.
- NELSON, H. S. β -adrenergic bronchodilators. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 333, n. 8, p. 499 - 506, 1995.
- NINAN, TITUS K.; RUSSEL G. Asthma, inhaled corticosteroid treatment, and growth. **Arch. Dis. Child.**, London, v. 67, p. 703-705, 1992.
- O'BYRNE, P. M. Airway Inflammation and Airway Hyperresponsiveness. **Chest**, Northbrook, v. 90, n. 4, p. 575-577, 1986.
- O'CONNOR, G. T.; WISS, Scott T. Clinical and symptom measures. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, New York, v. 149, p. S21-S28, 1994.
- ORGEL H. A.; MELTZER, E. O.; KEMP, J. O. Flunisolide aerosol in treatment of steroid-dependent asthma in children. **Ann. Allergy**, Mc Leon, v. 51, p.21-25, 1983.

- PAGE, C. P. What explains - and what to do about - the asthma paradox. **J. Respir. Dis.**, Greenwich, v. 15, n. 9A, p. S19 - S28, 1994.
- PATTEMORE, P. K. et al. The interrelationship among bronchial hyperresponsiveness, the diagnosis of asthma, and asthma symptoms. **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v. 142, p. 549-554, 1990.
- PEPYS, J. Skin testing. **Br. J. Hosp. Med.**, London, p. 412-417, 1975.
- PETERSON, C. G. B. et al. Radioimmunoassay of human eosinophil cationic protein (ECP) by an improved method. Establishment of normal levels in serum and turnover in vivo. **Clin. Exp. Allergy**, Oxford, v. 21, n.5, p. 561-567, 1991.
- PIACENTINI, G. L. et al. Double-blind evaluation of effectiveness and safety of flunisolide aerosol for treatment of bronchial asthma in children. **Allergy**, Copenhagen, v. 45, p. 612-616, 1990.
- PIACENTINI, G. L. et al. Influence of allergen avoidance on the eosinophil phase of airway inflammation in children with allergic asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 97, p. 1079-1084, 1996.
- PRICE, J. Anti-inflammatory therapy. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, New York, v. 151, n. 2, p. S25 - S26, 1995.
- PRICE, J.; PEDERSEN, S. Bronchodilator therapy. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, New York, v. 151, n. 2, p. S26 - S27, 1995.
- PRONK-ADMIRAAL, C. J.; BARTELS, P. C. M. Effect of clotting temperature and eosinophil concentration on the eosinophil cationic protein concentration in serum. **Scan. J. Clin. Lab. Invest.**, Oslo, v. 54, n. 2, p. 185-188, 1994.

- PUERINGER, R. J. ; HUNNINGHAKE, G. W. Inflammation and Airway Reactivity in Asthma. **Am. J. Med.**, Newton, v. 92, n. 6A, p. 32S-38S, 1992.
- RACHELEFSKY, G. S.; SIEGEL, S. C. Revisited: aerosol corticosteroids in the treatment of childhood asthma. **Pediatrics**, Evanston, v. 72, n. 1, p. 130-131, 1983.
- REED, C. E. The importance of eosinophils in the immunology of asthma and allergic disease. **Ann. Allergy**, Mc Leon, v. 72, p. 376-380, 1994.
- REDDEL, H. K. et al. Which index of peak expiratory flow is most useful in the management of stable asthma? **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, New York, v. 151, p. 1320-1325, 1995.
- REIMERT, C. M. et al. Measurement of eosinophil cationic protein (ECP) and eosinophil derived neurotoxin (EPX/EDN). **J. Immunol. Methods**, Amsterdam, v. 166, p. 183-190, 1993.
- REZENDE, S. M.; QUAGLIATO JR., R.; YONEZAWA, G. N.. Corticóides em pneumologia. **Rev. Bras. Med.**, São Paulo, v. 51, p. 44-49, 1994.
- ROGERS, D. F. ; O' CONNOR, B. J. Airway hyperresponsiveness: relation to asthma and inflammation? **Thorax**, London, v. 48, p. 1095-1096, 1993.
- ROSÁRIO FILHO, N. A.; SEVILHA, E.; BRANCO, M. E. G. Prevalência de asma brônquica em consultas pediátricas. **Rev. Méd. Paraná**, Curitiba, v. 44, p. 57-59, 1986.
- ROSÁRIO FILHO, N. A. Comparação entre dois métodos para contagem de eosinófilos no sangue. **Rev. Bras. Alerg. Imunol.**, São Paulo, v. 11, n. 1, p. 19-22, 1988.
- ROSÁRIO FILHO, N.; JARDIM, M. T.; MIRA, J. G. S. Hipereosinofilia: revisão de suas causas em crianças. **Rev. Méd. Paraná**, Curitiba, v. 46, p. 1-6, 1988.

- ROSÁRIO FILHO, N. A. **Avaliação da reação cutânea imediata e anticorpos IgE em crianças e adolescentes com asma brônquica atópica.** Campinas, 1994. Tese (Doutorado em Pediatria) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas.
- ROTHMAN, M. L.; REVICKI, D. A. VD. Issues in the measurement of health status in asthma research. **Med. Care**, Philadelphia, v. 31, n. 3, p.MS83-MS96, 1993.
- ROYAL SOCIETY OF MEDICINE SERVICES LIMITED. **Controversies on inhaled steroid therapy.** Ipswich : W. S. Cowell, 1989.
- RUDER, H. et al. A radioimmunoassay for cortisol in plasma and urine. **J. Clin. Endo. Metab.** [S.l.], v. 35, p. 219, 1972.
- SALOME, C. M. et al. Effect of aerosol fenoterol on the severity of bronchial hyperreactivity in patients with asthma. **Thorax**, London, v. 38, p. 854-858, 1983.
- SALZMAN, G. A.; PYSZCZYNSKI, D. R. Oropharyngeal candidiasis in patients treated with beclomethasone dipropionate delivered by metered-dose inhaler alone and with aerochamber. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 81, p. 424-428, 1988.
- SAMET, J. M. A Historical and epidemiologic perspective on respiratory symptoms questionnaires. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v. 108, n. 6, p. 435-446, 1978.
- SEARS, M. R. et al. Regular inhaled beta-agonist treatment in bronchial asthma. **Lancet**, London, v. 336, n. 8728, p. 1391-1396, 1990.
- SEARS, M. R. What role for β -agonists in managing asthma today? **J. Respir. Dis.**, Greenwich, U. S. A., v. 15, n. 9A, p. S29 - S37, 1994.
- SELROOS, O. et al. Effect of early vs late intervention with inhaled corticosteroids in asthma. **Chest**, Northbrook v. 108, p. 1228-1234, 1995.

- SEMINARIO, M. C.; GLEICH, G. J. The role of eosinophils in the pathogenesis of asthma. **Curr. Opin. in Immunol.**, London, v. 6, p. 860-864, 1994.
- SHAPIRO, G. G. et al. Short-term double-blind evaluation of flunisolide aerosol for steroid-dependent asthmatic children and adolescents. **Chest**, Northbrook, v. 80, n.6, p. 671-675, 1981.
- SHELHAMER, J. H. et al. Airway Inflammation. **Ann. Inter. Med.**, Philadelphia, v. 123, p. 288-304, 1995.
- SHERMAN, C. et al. A clinical and structural comparison of industrial methacoline and provochole. **Chest**, Northbrook, v. 105, n. 4, p. 1095-1097, 1994.
- SLY, P. D.; ROBERTSON, C. F. A review of pulmonary function testing in children. **J. Asthma**, New York, v. 27, p. 137-147, 1990.
- SMITH, L.; McFADDEN JR, E. R. Bronchial hyperreactivity revisited. **Ann. Allergy, Asthma, Immunol.**, Mclean, v. 74, p. 454-470, 1995.
- SMITH, T. F. Allergy testing in clinical practice. **Ann. Allergy**, Mc Leon, v.68, p. 293-299, 1992.
- SOEUF, P. L. Genetics. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, New York, v. 151, n. 2, p. S24 - S25, 1995.
- SOLÉ, D. Asma brônquica na população pediátrica. **J. Asma**, São Paulo, v. 4, p. 2-3, 1993.
- SPARROW, D. et al. The Relationship of Nonspecific Bronchial Responsiveness to the Occurrence of Respiratory Symptoms and Decreased Levels of Pulmonary Function. **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v. 135, p. 1255-1260, 1987.

- SPECTOR, S. L.; CAROLYN, W.; BARDANA, Jr., E. J. The use of cultures immunologic procedures to predict oropharyngeal candidiasis in patients on steroid aerosols. **Clin. Allergy**, Oxford, v. 12, p. 269-278, 1982.
- SPITZER, W. O. et al. The use of β -agonists and the risk of death and near death from asthma. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 326, p. 501-506, 1992.
- STERK, P. J.; QUANJER, Ph. H. Guidelines on standardized challenge testing for airway hyperresponsiveness. **Eur. Respir. J.**, Copenhagen, v. 6, n. 9, p. 1415-1416, 1993.
- STICK, S. M.; TURNER, D. J.; Le SOUËF, P. N. Lung function and bronchial challenges in infants: repeatability of histamine and comparison with methacholine challenges. **Pediatr. Pulmonol.**, New York, v. 16, p. 177-183, 1993.
- SUGAI, T.; SAKIYAMA, Y.; MATUMOTO, S. Eosinophil cationic protein in peripheral blood of pediatric patients with allergic diseases. **Clin. Exper. Allergy**, Southampton, v. 22, n. 2, p. 275-281, 1992.
- SUISSA, S. et al. A cohort analysis of excess mortality in asthma and the use of inhaled β -agonists. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, New York, v. 149, p. 604-610, 1994.
- SZEFLER, S. J. A comparison of aerosol glucocorticoids in the treatment of chronic bronchial asthma. **Pediatr. Allergy, Immunol.**, Copenhagen, v. 5, n. 3, p. 227-235, 1991.
- TEPPER, R. Airway reactivity. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, New York, v. 151, n. 2, p. S19 - S20, 1995.
- TOOGOOD J. H. Complications of topical steroid therapy for asthma. **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v. 141, p. S89-S96, 1990.

- TOWNLEY, R. G. et al. Methacoline inhalation challenge studies. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 64, n. 6, p. 569-574, 1979.
- TRIGG, C. J.; DAVIES, R. J. Measurement of bronchial responsiveness. **Clin. Rev. Allergy**. Clifton, v. 7, n.3, p.279-300, 1989.
- VAN BEVER, H. P. et al. Effect of a bronchial provocation test with house-dust mite on blood eosinophilia, eosinophil cationic protein, soluble interleukin-2 receptor, and interleukin-6 in asthmatic children. **Allergy**, Copenhagen, v. 48, p. 443-449, 1993.
- VENGE, P. Serum measurements of eosinophil cationic protein (ECP) in bronchial asthma. **Clin. Exper. Allergy**, Oxford, n. 23, Sup. 2, p. 3-7, 1993.
- VENGE, P. Soluble markers of allergic inflammation. **Allergy Clin. Immunol.**, Switzerland, v.5, n. 5, p. 128-130, 1993.
- VENGE, P. Role of eosinophils in childhood asthma inflammation. **Pediatric Pulmonol.**, New York, suppl. 11, p. 34-35, 1995.
- VENGE, P.; DAHL, R.; PETERSON, C. G. B. Eosinophil granule proteins in serum after allergen challenge of asthmatic patients and the effects of anti-asthmatic medication. **Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.**, Basel, v. 87, n. 3, p. 306-312, 1988.
- VENGE, P.; ROXIN, L. E.; OLSSON, I.. Radioimmunoassay of human eosinophil cationic protein. **Br. J. Haematol.**, Oxford, n. 37, p. 331-335, 1977.
- VENGE, P. Eosinophil activity in bronchial asthma. **Allergy Proc.**, Providence, v. 15, n. 3, p. 139-141, 1994.

- WARDLAW, A. J. Adhesion molecules in allergic inflammation : Adhesion receptors in allergic disease. In : **Annual Meeting Grand Symposium 1757**. Leicester, p. 3 - 9, 17, 1996.
- WARDLAW, A. J.; KAY, A. B. The role of the eosinophil in the pathogenesis of asthma. **Allergy**, Copenhagen, v. 42, p. 321-335, 1987.
- WARNER, J. O. et al. Management of asthma: a consensus statement. **Arch. Dis. Child.**, London, v. 64, p.1065-1079, 1989.
- WARNER, J. O. et al. Asthma: a follow up statement from an international paediatric asthma consensus group. **Arch. Dis. Child.**, London, v. 67, p. 240-248, 1992.
- WASSERMAN, S. I. et al. Asthma symptoms and airway hyperresponsiveness are lower during treatment with nedocromil sodium than during treatment with regular inhaled albuterol. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v.95, p. 541-547, 1995.
- WEBB, R.; MULLARKEY, M. F.; FREEMAN, M. I. Flunisolide in chronic bronchial asthma. **Ann. Allergy**, Mc Leon, v. 42, n. 1, p. 80-82, 1979.
- WEMPE, J. B. et al. Separate and combinad effects of corticosteroids and bronchodilators on airflow obstruction and airway hyperresponsiveness in asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.**, Chicago, v. 89, n. 3, p. 679-687, 1993.
- WENG, T. R.; LEVISON, H.. Standards of pulmonary function in children. **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v. 99, n. 6, p. 879-894, 1969.
- WEVER, A. M. J. et al. Serum eosinophil cationic protein (ECP) in chronic asthma. Relationship to spirometry, flow-volume curves, PC₂₀, and exacerbations. **Respir. Med.**, London, v. 88, p. 613-621, 1994.

YUKAWA, T. et al. Beta-adrenergic receptors on eosinophils. **Am. Rev. Respir. Dis.**, New York, v. 141, p. 1446-1452, 1990.

ZHONG, N. S. et al. Is asymptomatic bronchial hyperresponsiveness an indication of potential asthma? **Chest**, Northbrook, v. 102, p. 1104-1109, 1992.

ZIMMERMAN, B. Clinical experience with the measurement of ECP: usefulness in the management of children with asthma. **Clin. Exper. Allergy**, Oxford, v. 23, Sup 2, p. 8-12, 1993.

ZIMMERMAN, B. et al. Asthma in children less than 5 years of age: eosinophils and serum levels of the eosinophil proteins ECP and EPX in relation to atopy and symptoms. **Clin. Exper. Allergy**, Oxford, v. 24, p. 149-155, 1994.

ZIMMERMAN, B. et al. Total blood eosinophils, serum eosinophil cationic protein and eosinophil protein X in childhood asthma: relation to disease status and therapy. **Clin. Exper. Allergy**, Oxford, v. 23, p. 564-570, 1993.

ZIMMERMAN, B.; TSUI, F. Can the measurement of serum ECP be used to monitor treatment of childhood asthma with inhaled steroid? **Allergy**, Copenhagen, v. 48, p. 129-132, 1993.

ZIMMERMAN, B. et al. Allergy in asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v. 81, n. 1, p. 63-70, 1988.

ZIMMERMAN, B. Eosinophil proteins as markers of inflammation in childhood asthma. **Allergy Proc.**, Providence, v. 15, p. 143-145, 1994.