

Temperatura do ar exalado, um novo biomarcador no controle da asma: Um estudo piloto*

Exhaled breath temperature, a new biomarker in asthma control: A pilot study

Raul Emrich Melo, Todor A. Popov, Dirceu Solé

Resumo

Objetivo: Avaliar se a temperatura do ar exalado (TAE), medida por um método não invasivo, é efetiva no monitoramento de pacientes com asma não controlada. **Métodos:** Estudo piloto com nove pacientes (sete mulheres e dois homens; média de idade: 39 anos) com diagnóstico de asma por pelo menos um ano e sem uso de tratamento de manutenção por pelo menos três meses antes do início do estudo. Na primeira visita, os pacientes foram submetidos à espirometria e à medida da TAE. Todos os pacientes foram orientados a iniciar tratamento com budesonida/formoterol (200/6 µg) inalatório a cada 12 h por seis semanas. Além disso, os pacientes com asma grave ($VEF_1 < 60\%$ do previsto) foram orientados a utilizar prednisolona oral (40 mg/dia) por cinco dias. Após seis semanas, os pacientes foram submetidos aos mesmos testes. **Resultados:** Todos os pacientes relataram melhora dos sintomas de asma; confirmada por um aumento significativo de VEF_1 da primeira para a segunda visita (média de VEF_1 : 56,1% vs. 88,7% do previsto; $p < 0,05$). Cinco pacientes utilizaram prednisolona oral, mas somente nos cinco dias iniciais do tratamento. Seis pacientes utilizaram doses extras da medicação inalatória (média de tempo de uso de medicação adicional = 2,5 semanas). Houve uma diminuição significativa da TAE entre os momentos de avaliação (média de TAE: 35,1°C vs. 34,1°C; $p < 0,05$). **Conclusões:** A asma não controlada, sobretudo durante exacerbações, é acompanhada pela elevação da TAE, que se reduz após o controle adequado da asma, demonstrado pela melhora do VEF_1 e dos sintomas referidos. Esses resultados preliminares apontam para o monitoramento da TAE como um parâmetro possível na avaliação do controle da asma.

Descritores: Asma; Biomarcadores farmacológicos; Hidroxicorticosteroides.

Abstract

Objective: To evaluate whether the exhaled breath temperature (EBT), measured by a noninvasive method, is an effective means of monitoring patients with uncontrolled asthma. **Methods:** A pilot study comprising nine patients (seven women and two men; mean age: 39 years) diagnosed with asthma at least one year prior to the beginning of the study and not having been under maintenance therapy for the last three months. In the first visit, the patients underwent spirometry and measurement of EBT. The patients were then instructed to use inhaled budesonide/formoterol (200/6 µg) every 12 h for six weeks. In addition, the patients with severe asthma ($FEV_1 < 60\%$ of predicted) were instructed to use oral prednisolone (40 mg/day) for five days. After six weeks, the patients underwent the same tests. **Results:** All of the patients reported an improvement in the symptoms of asthma, as confirmed by a statistically significant increase in FEV_1 from the first to the second visit (mean, 56.1% vs. 88.7% of predicted; $p < 0.05$). Five patients used oral prednisolone for the first five days of the treatment period. Six patients used additional doses of inhaled budesonide/formoterol (mean duration, 2.5 weeks). The EBT decreased significantly from the first to the second visit (mean EBT: 35.1°C vs. 34.1°C; $p < 0.05$). **Conclusions:** Uncontrolled asthma, especially during exacerbations, is followed by an increase in EBT, which decreases after appropriate asthma control, as demonstrated by an increase in FEV_1 and an improvement of the reported symptoms. These preliminary results suggest that EBT can be used as a parameter for the assessment of asthma control.

Keywords: Asthma; Biomarkers, pharmacological; Hydroxycorticosteroids.

* Trabalho realizado na Disciplina de Alergia, Imunologia Clínica e Reumatologia, Departamento de Pediatria, Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina – UNIFESP-EPM – São Paulo (SP) Brasil.

Endereço para correspondência: Raul Emrich Melo. Rua dos Otônios, 725, CEP 04025-002, São Paulo, SP, Brasil.

Tel 55 11 5576-4426 ou 55 11 5570-1590. Fax 55 11 5570-1590. E-mail: contato@raulmelo.com.br

Apoio financeiro: Nenhum.

Recebido para publicação em 9/2/2010. Aprovado, após revisão, em 17/8/2010.

Introdução

Infiltração celular da mucosa, edema, dano epitelial, produção exagerada de muco e broncoespasmo são aspectos bastante conhecidos da asma. Na prática clínica, estima-se o grau de inflamação, que é um item importante no acompanhamento de um paciente asmático, de modo não invasivo, pelo relato de sintomas e seu histórico recente.⁽¹⁾ Dessa forma, pacientes que tiveram crises há pouco tempo, que se queixam de sintomas noturnos, dispneia e tosse após o exercício, ou que têm exacerbações com estímulos do cotidiano, são considerados não controlados, conforme a proposta atual de seguimento da asma baseada na revisão recente do *Global Initiative for Asthma* (GINA).⁽²⁾ É razoável considerar que, nesses casos, a broncoscopia seguida de biópsia provavelmente mostraria um infiltrado característico de inflamação brônquica, podendo ser eosinofílica – em quadros alérgicos e responsivos ao corticosteroide – ou neutrofílica – em pacientes que apresentam pouca resposta a essa classe de drogas, geralmente cursando com asma grave.⁽³⁾

Parece existir uma estreita relação entre a inflamação brônquica e os sintomas relatados, mas medidas objetivas são necessárias. Apesar de existirem cada vez mais opções não invasivas dirigidas à mensuração de células, mediadores ou produtos da inflamação (sangue, escarro induzido e análise do ar expirado ou de seu condensado)⁽⁴⁻⁶⁾ apenas outra faceta da asma, o broncoespasmo, pode ser avaliada de forma objetiva, com a prova de função pulmonar, considerada como o padrão ouro e que está amplamente disponível.

Recentemente, uma hipótese bastante simples e, ao mesmo tempo, inovadora, de que a inflamação poderia produzir um de seus sinais cardeais – calor – também no lúmen brônquico, resultou na publicação de dois estudos sobre a medida da temperatura do ar expirado. Um grupo de pesquisadores do Reino Unido⁽⁷⁾ e outro da Itália⁽⁸⁾ observaram, com métodos diferentes, que a temperatura medida após uma expiração era maior em pacientes asmáticos. De forma interessante, também observaram uma correlação dessa medida com as medidas de NO exalado.

Em 2007, um novo aparelho para o registro da temperatura do ar exalado (X-halo®; Delmedica Investments Pte Ltd., Singapura)

também demonstrou que essa temperatura é mais elevada em asmáticos não controlados.⁽⁹⁾ Com o uso desse aparelho, o método foi simplificado, pois a expiração é feita diretamente no aparelho, que tem o mesmo princípio de uma garrafa térmica e retém o calor em seu miolo de cobre até a estabilização da temperatura, que tende a sofrer uma menor interferência do meio externo (Figura 1). O platô medido também torna cálculos da diferença de temperatura, ou a medida do pico térmico, desnecessários.

No presente estudo, utilizamos esse aparelho, de segunda geração, para avaliar pacientes adolescentes e adultos com asma antes e após o controle da doença. A terapêutica, com corticoide inalado associado a broncodilatador, em regime variável, visava o controle efetivo dos sintomas até o fim do acompanhamento de seis semanas.

Métodos

Participaram deste estudo realizado na Disciplina de Alergia, Imunologia Clínica e Reumatologia do Departamento de Pediatria da Universidade Federal de São Paulo, em São Paulo (SP), nove pacientes atópicos, com idades entre 10 e 68 anos, diagnosticados com asma não controlada na consulta inicial e que conseguiram realizar os procedimentos de forma apropriada.

Todos os pacientes foram considerados asmáticos segundo os critérios da *American Thoracic Society*⁽¹⁰⁾ e apresentaram resultado positivo para o teste cutâneo de hipersensibilidade imediata ao ácaro *Dermatophagoides pteronyssinus* (código 110/2; IPI ASAC Brasil, São Paulo, Brasil). Além disso, os pacientes preencheram os seguintes critérios de inclusão:

- a) não ter apresentado infecção das vias aéreas nas quatro semanas que antecederam a consulta inicial
- b) não apresentar doenças cardiovasculares
- c) não ser fumante
- d) ser capaz de realizar expiração forçada, utilizando o aparelho, a cada ciclo respiratório, por 5-10 min
- e) ser capaz de realizar as provas de função pulmonar com reprodutibilidade
- f) estar sem uso de medicação na primeira avaliação
- g) ter asma não controlada, comprovada por alteração na prova de função pulmonar

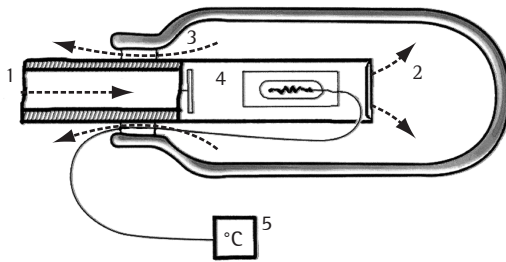


Figura 1 – Esquema simplificado do aparelho X-halo® – 1: expiração em bocal valvulado; 2: ar penetra na câmara; 3: ar em excesso é empurrado para fora do aparelho; 4: tubo de cobre (“coração de metal”); e 5: registro da temperatura até estabilização.

Os pacientes também foram submetidos a anamnese específica. Após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, procedeu-se à mensuração da temperatura do ar exalado e, em seguida, à prova de função pulmonar com um espirômetro MicroDL (Micro Medical Ltd., Kent, Reino Unido) e com o programa Spida 5 (Micro Medical Ltd.), estando os pacientes em posição ortostática e com clipe nasal. Avaliou-se VEF_1 , que foi expresso em relação aos valores previstos para sexo e idade



Figura 2 – Fotografia do aparelho X-halo® com saída frontal USB, versão de última geração. A parte de baixo é desrosqueada para limpeza, após cada medida. O bocal intercambiável se ilumina de verde quando está pronto para o uso.

segundo as diretrizes da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia.⁽¹¹⁾ Para cada medida de função pulmonar, considerou-se a melhor curva de três medidas consecutivas.

O aparelho utilizado para determinar a temperatura do ar exalado consiste em um coletor de ar exalado portátil, semelhante a uma garrafa térmica, no qual o paciente expira repetidamente, por meio de um bocal valvulado, por 5-10 min, até a estabilização da temperatura medida por um termômetro digital. A cada nova expiração, o ar que está coletado no compartimento é forçado a sair, sendo substituído, com a elevação gradativa da temperatura do tubo central de metal.

Após a avaliação inicial, os pacientes foram orientados a iniciar o uso de budesonida (200 µg) e formoterol (6 µg) administrados via sistema Turbuhaler® a cada 12 h, assim como a repetir a dose enquanto apresentassem sintomas, segundo um conceito de uso dessa associação para o resgate e controle da asma.⁽¹²⁾ Além disso, os pacientes receberam um diário para o registro da quantidade de doses utilizadas de medicação oral e da associação budesonida/formoterol.

Para as comparações dos dados obtidos entre os dois momentos de avaliação, foi utilizado o teste de Wilcoxon.

Resultados

Apesar de o aparelho utilizado no presente estudo ser considerado de fácil manuseio (bastava apertar um botão e começar a assoprar no bocal), seis pacientes pré-selecionados e diagnosticados com asma (após anamnese e prova de função pulmonar) não realizaram com sucesso a mensuração da temperatura do ar expirado. Desses, cinco eram crianças (duas meninas com 7 anos e três meninos com 8, 8 e 9 anos, respectivamente) e um era adulto (mulher com 26 anos de idade). Esses pacientes não foram incluídos no estudo por não conseguirem manter um fluxo expiratório constante e suficiente para promover a subida da temperatura de forma crescente até a sua estabilização, de tal forma que o termômetro digital se mantivesse ativado. Quando a subida da temperatura não era suficientemente rápida, o mostrador acusava a mensagem de erro, evidenciando uma falha (elevada resistência ao fluxo expiratório dificultando a manobra, principalmente entre as crianças). Esse problema

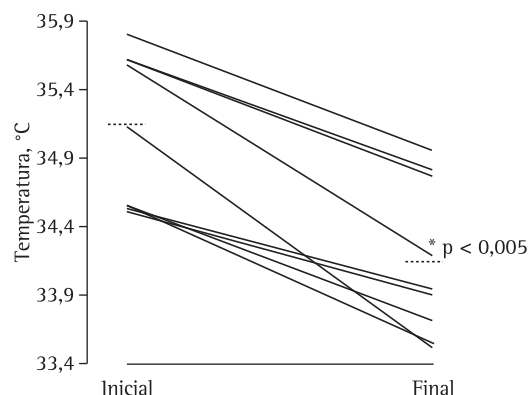


Figura 3 – Gráfico da temperatura do ar exalado (°C) ao início e ao final do estudo. Cada linha cheia representa um paciente. A linha tracejada representa o valor médio do grupo. *Teste de Wilcoxon.

do aparelho deverá ser corrigido futuramente. A mais nova versão do aparelho (Figura 2) tem uma saída USB para computador e permite a visualização da curva de temperatura com um programa especialmente desenvolvido para isso.

Os nove pacientes incluídos no estudo conseguiram realizar adequadamente a medição da temperatura do ar expirado e completaram o protocolo. Todos tinham asma não controlada e cinco deles apresentaram valores de $VEF_1 < 60\%$ do previsto, configurando crise grave de asma, segundo o consenso GINA.⁽²⁾ Esses pacientes foram tratados com salbutamol inalatório (400 µg), apresentando rápida melhora, e foram orientados a iniciar o uso de prednisolona oral

(40 mg/dia; Tabela 1). Nenhum dos pacientes avaliados precisou utilizar um novo curso de corticosteroide oral após os cinco dias iniciais de acompanhamento.

Na consulta final, após seis semanas, todos relataram melhora dos sintomas de asma, assim como as medidas de VEF_1 apresentaram um aumento significativo (médias de VEF_1 de 56,1% e 88,7% do previsto, respectivamente, antes e após o tratamento; $p < 0,05$). De forma inversa, houve uma diminuição significativa da temperatura do ar exalado (médias de temperatura de 35,1°C e 34,1°C, respectivamente, antes e após o tratamento; $p < 0,05$). Em relação ao registro da utilização de doses extras da associação budesonida/formoterol, observou-se que seis pacientes as utilizaram (Tabela 1).

Discussão

Vários marcadores biológicos não invasivos já foram propostos para avaliar um aspecto fundamental da fisiopatologia da asma, a inflamação brônquica. Por falta de um método universal e prático (como o é a função pulmonar para a avaliação do broncoespasmo), tais marcadores não têm sido utilizados como um parâmetro de acompanhamento no dia a dia da prática clínica.

Com papel crescente em protocolos de investigação, o escarro induzido é uma técnica segura⁽⁴⁾ que tem grande potencial para o estudo de mediadores presentes na árvore brônquica.

Tabela 1 – Idade, sexo, temperatura do ar exalado, VEF_1 e uso de medicação para o controle da asma dos pacientes do estudo.

Pacientes	Idade (anos)	Sexo	Temperatura do ar exalado		VEF_1		Medicação oral	Média de doses da associação budesonida + formoterol
			(°C)		(% do previsto)			
			Inicial	Final	Inicial	Final		
1	12	M	35,58	34,18	72	98	Não utilizada	1 dose cada 12 h
2	68	F	34,56	33,71	38	63	Prednisolona 5 dias	1,5 doses cada 12 h
3	32	M	35,81	34,95	62	93	Não utilizada	1 dose cada 12 h
4	42	F	35,13	33,51	67	98	Não utilizada	1,8 doses cada 12 h
5	48	F	34,55	33,54	41	95	Prednisolona 5 dias	1,5 doses cada 12 h
6	41	F	34,50	33,91	50	103	Prednisolona 5 dias	1,4 doses cada 12 h
7	55	F	34,51	33,90	78	91	Não utilizada	1 dose cada 12 h
8	43	F	35,63	34,76	41	84	Prednisolona 5 dias	2,1 doses cada 12 h
9	10	F	35,62	34,81	56	73	Prednisolona 5 dias	1,2 doses cada 12 h
Média	-	-	35,10	34,14*	56,1	88,4*	-	-
Mediana	-	-	35,13	33,91*	56,0	93,0*	-	-

* $p < 0,005$ vs. inicial (teste de Wilcoxon).

Já se avaliou, por exemplo, a IL-18, que se apresentou diminuída em asmáticos fumantes.⁽¹³⁾ Tal relação inversa, relacionada ao tabaco, ainda precisa ser esclarecida. Paralelamente ao aumento de IL-8, a presença de neutrófilos⁽¹⁴⁾ pode dar pistas para o entendimento da asma refratária. De qualquer forma, a aplicação do escarro induzido exige técnica e conhecimento particulares. Até o presente momento, esse exame é direcionado, majoritariamente, para a contagem de eosinófilos, células centrais na inflamação alérgica. Em uma meta-análise sobre o uso dessa técnica em adultos, mostrou-se que essa pode ser útil para determinar o uso de medicações na prevenção da asma, reduzindo a frequência de eventos graves em pacientes com sintomas mais exacerbados, ou seja, com provável inflamação brônquica mais intensa.⁽¹⁵⁾

O estresse oxidativo está intimamente ligado ao processo inflamatório e é resultado do desequilíbrio entre formas oxidantes e antioxidantes, particularmente quando a membrana celular é atingida, em um fenômeno chamado de peroxidação lipídica. O malondialdeído é um subproduto dessa reação e pode ser detectado, por exemplo, em trabalhadores com doença profissional respiratória utilizando-se outra opção de análise dos produtos da respiração: o condensado do ar expirado.⁽¹⁶⁾ Pacientes com asbestose também têm elevação dos marcadores de inflamação, como o peróxido de hidrogênio e o nível total de proteínas.⁽¹⁷⁾

Nessa técnica, o ar expirado é submetido a congelamento ou resfriamento. Acredita-se que esse material possa refletir as características do líquido que reveste a mucosa brônquica. Doença pulmonar intersticial, câncer e insuficiência respiratória aguda já foram estudados, mas uma atenção especial tem que ser dispensada ao grau e à velocidade de resfriamento do líquido presente no ar exalado, pois pode ocorrer variabilidade nas medições.⁽¹⁸⁾ No caso de DPOC e asma, o condensado do ar expirado permite a avaliação, por exemplo, de prostanoídes e eicosanoídes. As prostaglandinas $F_{2\alpha}$ e E_2 não apresentam alterações na asma,⁽¹⁹⁾ mas estão aumentadas na DPOC.⁽²⁰⁾ É possível que o contrário seja verdadeiro para o leucotrieno E_4 , que tem registro de valores aumentados apenas na asma.⁽¹⁹⁾ Em relação ao 8-isoprostano, outro marcador do estresse oxidativo, estudos em

crianças mostraram resultados contraditórios.⁽²¹⁾ Nitrotirosina e adenosina também foram estudadas, mas nenhum desses se apresenta como marcador padrão ouro.⁽²²⁾ É possível que seja necessária a “combinação de mediadores”⁽⁶⁾ para se obter uma diferenciação dos indivíduos normais (ou asmáticos controlados).

Ao ser investigado o ar exalado dos pulmões, sem o procedimento de condensação, um marcador se destaca: NO, molécula presente em todo o organismo em reações imunológicas e na neurotransmissão. A enzima NO sintase atua sobre a L-arginina, resultando na sua produção. As medidas seriadas de NO exalado parecem ser mais úteis que as medidas isoladas,⁽²³⁾ pois seus valores em indivíduos normais e asmáticos podem apresentar sobreposição, fato comum nas curvas bicaudais de observação populacional. Já bastante investigada, a fração exalada de NO relaciona-se estreitamente à inflamação eosinofílica.⁽⁵⁾ Além disso, o uso de corticosteroides, em DPOC e asma,⁽²⁴⁾ é acompanhado de uma redução dos valores desse marcador, cuja utilização mais difundida ainda esbarra na falta de portabilidade dos aparelhos que o medem e em seu preço.

Um novo método direto e não invasivo para a detecção de um biomarcador que tenha utilidade na prática médica tem ganhado espaço na literatura: a temperatura do ar expirado.⁽⁷⁾ Nos vários tecidos, a inflamação provoca os sinais clássicos de dor, calor, edema, hiperemia e perda de função. Pelo menos em relação ao aumento na produção de calor local e hiperemia, o processo inflamatório (do latim, *inflammatio*, pegar fogo) também parece induzir alterações equivalentes na parede brônquica de pacientes asmáticos, possivelmente devido à vasodilatação. De fato, um aumento da vascularização e do fluxo sanguíneo brônquico já foi demonstrado.⁽²⁵⁾ Apesar dos primeiros relatos de estudo da fisiologia da troca de calor na árvore respiratória serem da década de 1960, e a evolução na observação das diferenças de temperatura em cada segmento brônquico — além da relação com a temperatura do ar inspirado — tivessem sido estudadas 20 anos após,⁽²⁶⁾ apenas no início deste século surgiram os primeiros estudos envolvendo medidas diretas da temperatura do ar eliminado na expiração.^(7,8)

Esses primeiros trabalhos sobre o ar exalado, publicados no ano de 2002,^(7,8) compararam as

medidas de dois marcadores: temperatura e NO, demonstrando a impressão inicial dos autores de que o novo marcador estaria intimamente ligado ao processo inflamatório brônquico. Outro grupo de autores⁽²⁷⁾ pesquisou eosinófilos no escarro induzido de crianças que se mudaram, por três meses, para um ambiente praticamente isento de ácaros, os Alpes italianos. Os eosinófilos, essas células consideradas fundamentais no desenvolvimento da inflamação brônquica alérgica, diminuíram em número (assim como a temperatura do ar exalado), mas sem significância estatística, talvez pela quantidade pequena ($n = 13$) de pacientes. Outros dois estudos demonstraram que o controle da asma, com conseqüente diminuição da temperatura do ar exalado, também estava associado à menor quantidade de eosinófilos na secreção brônquica.

Neste estudo piloto, avaliamos pacientes em crise e sem tratamento prévio no intuito de conseguir sua melhora com o tratamento e demonstrar uma possível diferença na temperatura do ar exalado antes e após o tratamento, uma vez que o controle da asma reflete, indiretamente, a inflamação brônquica.⁽²⁸⁾ Pode-se argumentar que diferenças sutis da inflamação brônquica (ou no caso de pacientes com quadros estáveis) raramente gerarão dados com diferença estatisticamente significativa entre um grupo de asmáticos vs. um grupo de não asmáticos, ou de pacientes controlados vs. pacientes não controlados.

Demonstramos que o controle clínico da asma teve relação com a diminuição dos valores da temperatura do ar exalado e, inversamente, com a subida dos valores de VEF₁. Por outro lado, assim como nas medidas de NO exalado, há uma superposição de valores (Figura 3). Dessa forma, medidas isoladas não teriam aplicação clínica. Podemos especular que a temperatura do ar exalado seja um biomarcador com indicação no controle individual e, possivelmente, como um indicador precoce da perda de controle da asma.

Uma potencial aplicação da temperatura do ar exalado na investigação do remodelamento brônquico foi testada com a pesquisa de *matrix metalloproteinase 9* (MMP-9, metaloproteinase de matriz 9) no escarro induzido de 26 crianças asmáticas sensíveis a ácaros.⁽²⁹⁾ Considerada um marcador relevante no remodelamento, a MMP-9

teve correlação com as medidas de temperatura do ar exalado. Até que ponto essa relação pode ser considerada válida é uma dúvida passível de questionamentos, considerando-se que já foi demonstrado que o aumento de vascularização brônquica causa alterações da temperatura do ar exalado em pacientes asmáticos.

Em um estudo de 2007, um novo aparelho, utilizado também no presente estudo, mostrou uma praticidade singular.⁽⁹⁾ O aparelho dispensa o uso de bocais, de sensores especiais ou de cálculos para definir pontos de estudo na curva de subida da temperatura do ar exalado.⁽³⁰⁾ Para a diferenciação entre pacientes asmáticos e não asmáticos, parece ser mais fidedigna a medida de platô da temperatura do ar exalado, como a realizada por esse aparelho. Outra vantagem é a capacidade de manter a temperatura em uma câmara isolada, com menor interferência da temperatura do ambiente ao redor. A rigorosa manutenção da temperatura do ambiente foi uma preocupação em estudos utilizando outras metodologias.^(7,8)

Devido ao pequeno número de pacientes deste estudo, ainda não podemos afirmar que a medida da temperatura do ar exalado seja um marcador biológico válido na avaliação do controle da asma. No entanto, essa medida sinaliza a possibilidade de uma nova linha de pesquisa que, após novos estudos, poderá eventualmente ser empregada na clínica diária, principalmente se um aparelho portátil e de simples manuseio for utilizado.

Referências

1. Fahy JV. Eosinophilic and neutrophilic inflammation in asthma: insights from clinical studies. *Proc Am Thorac Soc.* 2009;6(3):256-9.
2. Global Initiative for Asthma – GINA [homepage on the Internet]. Bethesda: National Heart, Lung and Blood Institute. National Institutes of Health, US Department of Health and Human Services; 2008 [cited 2010 Feb 9]. Available from: <http://www.ginasthma.org>
3. Wenzel SE, Szeffler SJ, Leung DY, Sloan SI, Rex MD, Martin RJ. Bronchoscopic evaluation of severe asthma. Persistent inflammation associated with high dose glucocorticoids. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156(3 Pt 1):737-43.
4. Covar RA, Spahn JD, Martin RJ, Silkoff PE, Sundstrom DA, Murphy J, et al. Safety and application of induced sputum analysis in childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;114(3):575-82.
5. van Rensen EL, Straathof KC, Veselic-Charvat MA, Zwinderman AH, Bel EH, Sterk PJ. Effect of inhaled steroids on airway hyperresponsiveness, sputum

- eosinophils, and exhaled nitric oxide levels in patients with asthma. *Thorax*. 1999;54(5):403-8.
6. Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled biomarkers. *Chest*. 2006;130(5):1541-6
 7. Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Faster rise of exhaled breath temperature in asthma: a novel marker of airway inflammation? *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165(2):181-4.
 8. Piacentini GL, Bodini A, Zerman L, Costella S, Zanolla L, Peroni DG, et al. Relationship between exhaled air temperature and exhaled nitric oxide in childhood asthma. *Eur Respir J*. 2002;20(1):108-11.
 9. Popov TA, Dunev S, Kralimarkova TZ, Kraeva S, DuBuske LM. Evaluation of a simple, potentially individual device for exhaled breath temperature measurement. *Respir Med*. 2007;101(10):2044-50.
 10. Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, November 1986. *Am Rev Respir Dis*. 1987;136(1):225-44.
 11. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. Diretrizes para Testes de Função Pulmonar. *J Pneumol*. 2002;28(Suppl 3):S1-S238.
 12. Vogelmeier C, D'Urzo A, Pauwels R, Merino JM, Jaspal M, Boutet S, et al. Budesonide/formoterol maintenance and reliever therapy: an effective asthma treatment option? *Eur Respir J*. 2005;26(5):819-28.
 13. Rovina N, Dima E, Gerassimou C, Kollintza A, Gratziou C, Roussos C. IL-18 in induced sputum and airway hyperresponsiveness in mild asthmatics: effect of smoking. *Respir Med*. 2009;103(12):1919-25.
 14. Kikuchi S, Kikuchi I, Takaku Y, Kobayashi T, Hagiwara K, Kanazawa M, et al. Neutrophilic inflammation and CXC chemokines in patients with refractory asthma. *Int Arch Allergy Immunol*. 2009;149 Suppl 1:87-93.
 15. Petsky HL, Kynaston JA, Turner C, Li AM, Cates CJ, Lasserson TJ, et al. Tailored interventions based on sputum eosinophils versus clinical symptoms for asthma in children and adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;(2):CD005603.
 16. Syslová K, Kacer P, Kuzma M, Najmanová V, Fenclová Z, Vlcková S, et al. Rapid and easy method for monitoring oxidative stress markers in body fluids of patients with asbestos or silica-induced lung diseases. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2009;877(24):2477-86.
 17. Chow S, Campbell C, Sandrini A, Thomas PS, Johnson AR, Yates DH. Exhaled breath condensate biomarkers in asbestos-related lung disorders. *Respir Med*. 2009;103(8):1091-7.
 18. Kurova VS, Anaev EC, Kononikhin AS, Fedorchenko KY, Popov IA, Kalupov TL, et al. Proteomics of exhaled breath: methodological nuances and pitfalls. *Clin Chem Lab Med*. 2009;47(6):706-12.
 19. Montuschi P, Barnes PJ. Exhaled leukotrienes and prostaglandins in asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;109(4):615-20.
 20. Montuschi P, Kharitonov SA, Ciabattini G, Barnes PJ. Exhaled leukotrienes and prostaglandins in COPD. *Thorax*. 2003;58(7):585-8.
 21. Zinelli C, Caffarelli C, Strid J, Jaffe A, Atherton DJ. Measurement of nitric oxide and 8-isoprostane in exhaled breath of children with atopic eczema. *Clin Exp Dermatol*. 2009;34(5):607-12.
 22. Baraldi E, Giordano G, Pasquale MF, Carraro S, Mardegan A, Bonetto G, et al. 3-Nitrotyrosine, a marker of nitrosative stress, is increased in breath condensate of allergic asthmatic children. *Allergy*. 2006;61(1):90-6.
 23. Kharitonov SA, Barnes PJ. Clinical aspects of exhaled nitric oxide. *Eur Respir J*. 2000;16(4):781-92.
 24. Tsujino I, Nishimura M, Kamachi A, Makita H, Munakata M, Miyamoto K, et al. Exhaled nitric oxide--is it really a good marker of airway inflammation in bronchial asthma? *Respiration*. 2000;67(6):645-51.
 25. Kumar SD, Emery MJ, Atkins ND, Danta I, Wanner A. Airway mucosal blood flow in bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;158(1):153-6.
 26. McFadden ER Jr, Pichurko BM, Bowman HF, Ingenito E, Burns S, Dowling N, et al. Thermal mapping of the airways in humans. *J Appl Physiol*. 1985;58(2):564-70.
 27. Piacentini GL, Bodini A, Peroni D, Ressa M, Costella S, Boner AL. Exhaled air temperature and eosinophil airway inflammation in allergic asthmatic children. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114(1):202-4.
 28. Montani D, Tillie-Leblond I, Crestani B, De Blic J, Humbert M, Tunon-De-Lara M, et al. The relationship between inflammation and symptoms in asthma [Article in French]. *Rev Mal Respir*. 2008;25(8):933-51.
 29. Piacentini GL, Peroni DG, Bodini A, Corradi M, Boner AL. Exhaled breath temperature as a marker of airway remodelling in asthma: a preliminary study. *Allergy*. 2008;63(4):484-5.
 30. Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Correlation of exhaled breath temperature with bronchial blood flow in asthma. *Respir Res*. 2005;6:15.

Sobre os autores

Raul Emrich Melo

Pesquisador Associado. Disciplina de Alergia, Imunologia Clínica e Reumatologia, Departamento de Pediatria, Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina – UNIFESP-EPM – São Paulo (SP) Brasil.

Todor A. Popov

Professor Titular. Clínica de Alergia e Asma, Universidade Médica de Sofia, Sofia, Bulgária.

Dirceu Solé

Professor Titular e Livre-Docente. Disciplina de Alergia, Imunologia Clínica e Reumatologia, Departamento de Pediatria, Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina – UNIFESP-EPM – São Paulo (SP) Brasil.