



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CÊNCIAS MÉDICAS (CCM)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE TRANSLACIONAL

DENISE MAIARA DA SILVA CARNEIRO

**EMPREGO DA METABONÔMICA BASEADA EM RMN PARA O
MONITORAMENTO DA RESPOSTA AO TRATAMENTO DE CRIANÇAS E
ADOLESCENTES À TERAPIA PARA CONTROLE DA RINITE ALÉRGICA**

RECIFE

2023

DENISE MAIARA DA SILVA CARNEIRO

**EMPREGO DA METABONÔMICA BASEADA EM RMN PARA O
MONITORAMENTO DA RESPOSTA AO TRATAMENTO DE CRIANÇAS E
ADOLESCENTES À TERAPIA PARA CONTROLE DA RINITE ALÉRGICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Translacional da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de mestre em Saúde Translacional.

Área de concentração: Saúde Humana e Tecnologias Integrativas.

Orientador: Dr. Ricardo Oliveira da Silva
Coorientador: Dr. Décio Medeiros Peixoto

RECIFE

2023

Catálogo na fonte:
Bibliotecário: Aécio Oberdam, CRB4: 1895

C289e Carneiro, Denise Maiara da Silva.
Emprego da metabonômica baseada em rmn para o monitoramento da resposta ao tratamento de crianças e adolescentes à terapia para controle da rinite alérgica / Denise Maiara da Silva Carneiro – 2023.
68 p.

Orientador: Ricardo Oliveira da Silva
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Médicas. Programa de Pós-Graduação em Saúde Translacional. Recife, 2023.
Inclui referências e anexos.

1. Biomarcadores. 2. Modelos preditivos. 3. Doenças crônicas. 4. Asma. 5. Autorrelato. Silva, Ricardo Oliveira da (orientador). II. Título.

614.07 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2023 - 321)

DENISE MAIARA DA SILVA CARNEIRO

**EMPREGO DA METABONÔMICA BASEADA EM RMN PARA O
MONITORAMENTO DA RESPOSTA AO TRATAMENTO DE CRIANÇAS E
ADOLESCENTES À TERAPIA PARA CONTROLE DA RINITE ALÉRGICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Translacional da
Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de
mestre em Saúde Translacional.

Área de concentração: Saúde Humana e Tecnologias Integrativas.

Aprovada em: 18/10/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ricardo Oliveira Silva (Orientador)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Mário Ribeiro de Melo Júnior (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Ana Caroline Cavalcanti Dela Bianca Melo (Examinador Externo)

Universidade Federal de Pernambuco

Edil de Albuquerque Rodrigues Filho (Examinador Externo)

Universidade Federal de Pernambuco

Dedico aos meus pais, Maria e Mário, e ao meu filho, Gustavo

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus que me concedeu a realização desse sonho e eu não teria conseguido sem sua permissão. Toda honra e toda glória seja dada ao seu nome.

Minha mãe Maria e meu pai Mário pelo apoio, força e investimento nos meus estudos, por serem minha base e minha força.

Ao meu filho Gustavo, esse esforço e luta no meu crescimento profissional é por você também filho.

Aos meus orientadores Ricardo Oliveira e Décio Peixoto, pelos conhecimentos repassados, por me ajudarem a trilhar esse caminho.

À Tatiane Rodrigues por toda ajuda, disponibilidade, paciência e apoio, me ajudou muito na construção desse sonho.

A Ronaldo Dionísio que mesmo sem me conhecer me ajudou a entender sobre o assunto para que eu prestasse a seleção.

A todos do Programa de Pós-Graduação em Saúde Translacional.

Aos colegas de turma pelas experiências trocadas.

Aos médicos, funcionários e pacientes do ambulatório de Alergologia e Imunologia do Hospital das Clínicas da UFPE, que me ajudaram muito durante a pesquisa.

Que Deus abençoe infinitamente a vida de cada um de vocês, sou extremamente grata por toda contribuição que todos tiveram na minha jornada e na minha vida. A vocês o meu muito obrigada.

RESUMO

A rinite alérgica é uma condição crônica prevalente em crianças e adolescentes, caracterizada por inflamação na mucosa nasal em resposta a alérgenos. A adesão ao tratamento é fundamental para o controle dos sintomas e melhoria na qualidade de vida dos pacientes. O presente estudo teve como objetivo monitorar, usando uma estratégia metabonômica baseada em espectroscopia de RMN de ^1H , crianças e adolescentes em tratamento contra a rinite alérgica. Para o estudo, foram recrutados pacientes com rinite alérgica, inicialmente, separados em dois grupos com base na adesão ao tratamento (boa e má adesão), segundo o autorrelato do paciente ou responsável. Amostras de soro foram coletadas dos participantes e armazenadas para obter perfis metabonômicos. Além disso, foram coletados dados das características demográficas, clínicas e laboratoriais dos participantes. Inicialmente, foi realizada uma análise exploratória usando Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise Hierárquica de Cluster (HCA). Na análise classificatória, utilizou-se Análise Discriminante Ortogonal por Mínimos Quadrados Parciais (OPLS-DA). Os metabólitos mais relevantes para a construção do modelo OPLS-DA foram identificados por meio da importância da variável na projeção (VIP). Em relação aos participantes do estudo ($n=25$), a idade média foi igual a 8,8 anos, com predominância do sexo masculino. A maioria dos participantes recebeu o diagnóstico de rinite alérgica na forma moderada/grave e asma concomitante. Dos participantes, mais da metade ($n=17$) relataram adesão ao tratamento. A análise exploratória usando PCA e HCA não apresentou distinção entre os grupos, em função da classificação de Boa ou Má Adesão. No entanto, a HCA identificou dois grupos distintos. Após a análise dos prontuários médicos, verificou-se que a avaliação da hipertrofia do corneto por meio da rinoscopia estava relacionada à tendência de resposta observada nos grupos identificados pela HCA. Assim, os grupos foram nomeados como Grupo RC, composto por 14 amostras de pacientes que apresentaram resposta clínica ao tratamento farmacológico, evidenciada pela involução ou progressão da hipertrofia do corneto, e Grupo RI, composto por 11 amostras de pacientes indiferentes ao tratamento farmacológico, sem melhora ou piora clínica da hipertrofia do corneto. No modelo OPLS-DA, foram identificados 10 metabólitos relevantes que contribuíram para a separação dos grupos. Os metabólitos identificados foram L-arginina, lactato, serina, acetoacetato, alanina e glutamato, que apresentaram níveis séricos mais elevados no grupo que apresentou resposta clínica (RC). Enquanto, VLDL/LDL, N-acetil D-glucosamina, colina e glicose apresentaram níveis séricos mais elevados o grupo de voluntários com resposta indiferente (RI) ao tratamento. Esses resultados sugerem que no grupo RI, há envolvimento do metabolismo lipídico e da colina,

enquanto no grupo RC, os processos relacionados a metabolismo de aminoácidos demonstram maior relevância. Os achados do estudo indicam que o autorrelato não é um bom dado de entrada para estudos metabonômicos e podem induzir decisões equivocadas. Também foram observados indícios de que pacientes do grupo RI apresentam um estado mais avançado da doença e estão sendo precocemente identificados pela modelagem metabonômica. Isso pode ser útil para orientar o tratamento de rinite alérgica em crianças e adolescentes.

Palavras-chave: biomarcadores; modelos preditivos; doenças crônicas; asma; autorrelato.

ABSTRACT

Allergic rhinitis is a prevalent chronic condition in children and adolescents, characterized by inflammation in the nasal mucosa in response to allergens. Adherence to treatment is crucial for symptom control and improvement in the quality of life of patients. The present study aimed to monitor, using a metabolomic strategy based on ¹H NMR spectroscopy, children and adolescents undergoing treatment for allergic rhinitis. For the study, patients with allergic rhinitis were initially recruited and divided into two groups based on treatment adherence (good and poor adherence), according to patient or guardian self-report. Serum samples were collected from the participants and stored to obtain metabolomic profiles. Additionally, demographic, clinical, and laboratory characteristics of the participants were recorded. Initially, an exploratory analysis using Principal Component Analysis (PCA) and Hierarchical Cluster Analysis (HCA) was performed. In the classification analysis, Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis (OPLS-DA) was used. The most relevant metabolites for building the OPLS-DA model were identified through Variable Importance in Projection (VIP). Regarding the study participants (n=25), the mean age was 8.8 years, with a predominance of males. Most participants were diagnosed with moderate/severe allergic rhinitis and concomitant asthma. More than half of the participants (n=17) reported adherence to treatment. Exploratory analysis using PCA and HCA showed no distinction between groups based on Good or Poor Adherence classification. However, HCA identified two distinct groups. After reviewing medical records, it was found that the assessment of turbinate hypertrophy through rhinoscopy was related to the observed response trend in the groups identified by HCA. Thus, the groups were named the RC Group, composed of 14 samples from patients who showed a clinical response to pharmacological treatment, evidenced by the regression or progression of turbinate hypertrophy, and the RI Group, composed of 11 samples from patients indifferent to pharmacological treatment, with no clinical improvement or worsening of turbinate hypertrophy. In the OPLS-DA model, 10 relevant metabolites contributing to the separation of groups were identified. The identified metabolites were L-arginine, lactate, serine, acetoacetate, alanine, and glutamate, which showed higher serum levels in the group that exhibited a clinical response (RC). Meanwhile, VLDL/LDL, N-acetyl D-glucosamine, choline, and glucose showed higher serum levels in the group of volunteers with an indifferent response (RI) to treatment. These results suggest that in the RI group, lipid metabolism and choline are involved, while in the RC group, processes related to amino acid metabolism demonstrate greater relevance. The study findings indicate that self-reporting is not a reliable input for metabolomic

studies and may lead to erroneous decisions. There were also indications that patients in the RI group have a more advanced stage of the disease and are being early identified by metabolomic modeling. This could be useful in guiding the treatment of allergic rhinitis in children and adolescents.

Keywords: biomarkers; predictive models; chronic disease; asthma; self-reporting.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Lista de Figuras

- Figura 1 - Classificação da rinite alérgica em função da duração e gravidade dos sintomas. Considera-se Persistente quando os sintomas são observados em 4 dias ou mais por semana ou por mais de 4 semanas 25
- Figura 2 - Principais etapas do desenvolvimento de um estudo metabonômico.....32
- Figura 3 - Representações gráficas resultantes da Análise de Componentes Principais. Escores t_1 vs t_2 (esquerda) e pesos p_1 vs p_2 (direita) devem ser examinados simultaneamente, a fim de compreender as relações entre tendências e grupos observados nas amostras (*score plot*) e quais variáveis (metabólitos) – são responsáveis por essa tendência (*loadings plot*)36
- Figura 4 - Gráficos de escores da PLS-DA e performance do teste de permutação. a) Gráfico de pontuação PLS-DA bidimensional (Círculos vermelhos e verdes: correspondem a dois grupos distintos); b) Classificação PLS-DA usando diferentes números de componentes. O asterisco vermelho indica o melhor classificador, a tabela inserida resume Q^2 , R^2 e precisão do melhor modelo; c) Estatísticas do teste de permutação para 1000 permutações com estatística observada $p < 0,01$ 37
- Figura 5 - VIP scores (*Variable Importance in Projection*) discriminando entre amostras de dois grupos para identificar as variáveis (ou metabólitos) que mais contribuem para separação entre dois grupos de amostras. Apenas os escores VIP maior que 1 foram incluídos Título do Gráfico 39
- Figura 6 - Figura 6 - Análise de componentes principais (PCA) dos dados de espectroscopia de RMN de 1H do soro de crianças e adolescentes com rinite alérgica (RA). Os triângulos em vermelho representam as amostras de pacientes aderentes ao tratamento da rinite alérgica e em verde as amostras de pacientes não aderentes.....45
- Figura 7 - Análise Hierárquica de Cluster ((HCA) utilizando os espectros de ressonância Magnética Nuclear. BA = Boa adesão (pacientes aderentes); MA = Má adesão (pacientes não aderentes)46
- Figura 8 - À esquerda, gráfico de escores, e à direita, resultado do teste de permutação da OPLS-DA, usando como output a classificação feita a partir da HCA. Os círculos em vermelho representam pacientes do grupo RC (resposta clínica) e em verde os do grupo RI (indiferença ao tratamento)47
- Figura 9 - VIP scores dos metabólitos para a discriminação entre os grupos de resposta clínica (RC) e resposta indiferente (RI) ao tratamento da rinite alérgica Título do Organograma.....49

Lista de Quadros

Quadro 1 - Manifestações clínicas e características associadas à rinite alérgica.....	23
Quadro 2 - Medicamentos utilizados no tratamento de rinite alérgica.....	26
Quadro 3 - Medidas de Controle Ambiental que atuam no tratamento da rinite alérgica.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características sociodemográficas e clínicas dos participantes do estudo de acordo com os grupos de resposta clínica ao tratamento (RC) e resposta indiferente (RI).....43

Tabela 2 - Características demográficas e clínicas quanto às doenças alérgicas dos participantes do estudo.....47

Tabela 3 - Atribuição dos metabólitos (δ /ppm) no soro de crianças e adolescentes com rinite alérgica e asma..... 50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACT	Teste de controle de asma
EM	Espectrometria de massa
HCA	Análise de Agrupamentos Hierárquicos
HMDB	Human Metabolome Database
IgE	Imunoglobulina E
ISAAC	International Study of Asthma and Allergies
KEGG	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
LDA	Análise Discriminante Linear
LOOCV	Validação Cruzada por Amostra Excluída
OPLS-DA	Análise discriminante por projeções ortogonais à estrutura latente
PC	Componente Principal
PCA	Análise de Componentes Principais
PLS-DA	Análise Discriminantes por Mínimos Quadrados Parciais
RA	Rinite alérgica
RC	Respsta clínica
RI	Resposta indeterminada
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
TCLE	Termo de Consentimento Livre Esclarecido
VIP	Variable Importance in Projection
VLDL	Lipoproteína de Muito Baixa Densidade
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
WHO	Organização Mundial da Saúde

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVOS.....	18
2.1	OBJETIVO GERAL.....	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICO.....	18
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	19
3.1	RINITE ALÉRGICA.....	19
3.1.1	Epidemiologia.....	19
3.1.2	Fatores de risco.....	21
3.1.3	Manifestações clínicas.....	22
3.1.4	Diagnóstico.....	23
3.1.5	Tratamento.....	25
3.2	VISÃO GERAL DA METABONÔMICA.....	30
3.2.1	Abordagens analíticas em metabonômica.....	33
3.2.2	Formalismos quimiométricos.....	34
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	40
4.1	TIPO DE ESTUDO E PARTICIPANTES.....	40
4.2	COLETA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS DE SORO.....	41
4.3	ENSAIO METABONÔMICO E PROCESSAMENTO DOS DADOS.....	41
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	42
4.5	ASPECTOS ÉTICOS.....	42
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
5.1	DADOS DOS PACIENTES.....	43
5.2	ABORDAGEM QUIMIOMÉTRICA.....	44
5.3	IDENTIFICAÇÃO DOS METABÓLITOS.....	49
6	CONCLUSÕES.....	54
	REFERÊNCIAS.....	55
	ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	63
	ANEXO B – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	65

1. INTRODUÇÃO

A rinite alérgica (RA) é uma doença inflamatória crônica não infecciosa da mucosa nasal mediada pela imunoglobulina E (IgE) devido a exposição a alérgenos em indivíduo sensibilizado (CZECH; OVERHOLSER; SCHULTZ, 2023; WANG et al., 2023). Globalmente, afeta cerca de 40% da população, sendo uma das doenças crônicas mais comuns na infância. Os sintomas clínicos incluem hipersecreção de muco, congestão, espirros, prurido da mucosa e gotejamento pós-nasal, que podem ser reversíveis espontaneamente ou com tratamento (MA et al., 2020; SCHULER; MONTEJO, 2019).

Os alérgenos envolvidos na resposta alérgica são em sua maioria derivados de proteínas que estão no ar, como pólen, ácaros da poeira doméstica, pelos de animais e fungos, sendo o pólen a fonte mais provável de alérgenos externos e os ácaros da poeira a fonte mais comum de alérgenos em ambientes internos (PAYANDEH et al., 2022). As faixas etárias mais afetadas pela rinite alérgica são crianças, adolescentes e adultos jovens (PASSALI et al., 2023; SCHULER; MONTEJO, 2018). Na população pediátrica, a prevalência de RA atinge 8% das crianças de 6 a 8 anos e aumenta para 35% em 13 a 14 anos (AIT-KHALED et al., 2009; NIETO et al., 2011). Nesses grupos, a rinite alérgica é uma condição multifatorial, resultante da interação entre fatores genéticos e ambientais (LIU et al., 2023).

Atualmente, a classificação baseia-se na duração e na gravidade dos sintomas, sendo categorizada como rinite alérgica intermitente/persistente e leve ou moderada/grave (BOUSQUET et al., 2020). Essa abordagem proporciona uma compreensão abrangente da condição alérgica e é útil no manejo e tratamento adequados da doença (WISE et al., 2023). Apesar da ampla disponibilidade de opções de tratamento com antialérgicos e corticoides e recomendações de diretrizes, muitos pacientes não cumprem a prescrição médica de forma adequada ou interrompem o tratamento, o que pode levar a piora ou não melhora dos sintomas e conseqüentemente diminuição da qualidade de vida (DEL CUVILLO et al., 2017).

Desse modo, a avaliação da adesão ao tratamento é fundamental para determinar se a falta de controle da doença é resultado de regimes de tratamento ineficazes ou se os medicamentos não estão sendo tomados conforme prescritos (HOLMES; HEANEY, 2021). Avaliar a adesão como parte do regime de cuidados clínicos de rotina de um paciente pode, portanto, garantir que os pacientes obtenham o máximo benefício de seus medicamentos e pode potencialmente evitar escalonamentos desnecessários na terapia (GRAY et al., 2018).

Os métodos de avaliação da adesão frequentemente incluem o autorrelato do paciente (usado neste estudo), checagem do prontuário, pesagem do medicamento, contagem de doses,

monitoramento dos níveis (séricos) de medicamentos e monitoramento eletrônico (BINGHAM et al., 2020; HOLMES; HEANEY, 2021; HUGTENBURG et al., 2013). Embora não haja universalmente limite acordado para definir uma boa adesão, um valor de 80% tem sido frequentemente usado para dicotomizar pacientes aderentes e não aderentes (OSTERBERG; BLASCHKE, 2005; PAPI et al., 2018).

A descrição dos sintomas clínicos e a duração são utilizados para monitorar a adesão e a eficácia terapêutica, mas sua sensibilidade é limitada, especialmente em crianças, o que pode resultar em agravamento da doença e aumento dos custos na área da saúde (AGUERO et al., 2023). Desse modo, entre outros aspectos é necessário identificar biomarcadores que possam fornecer informações sobre o estado de saúde dos pacientes, visando melhorar seu manejo e impulsionar o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes (XIE et al., 2021).

Nesse sentido, a metabonômica tem se destacado como uma ferramenta promissora para investigar doenças complexas (GOSH et al., 2019; HUANG et al., 2022; ZHOU et al. 2019). Ao analisar os perfis metabólicos, a metabonômica possibilita a identificação de padrões específicos de metabólitos associados às condições patológicas, auxiliando no diagnóstico, prognóstico e compreensão dos mecanismos subjacentes às doenças (NOTO et al., 2022). Nesse contexto, a estratégia metabonômica baseada em espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H permite a avaliação de biofluidos, com preparo mínimo de amostra, sendo também uma técnica não destrutiva e de rápida avaliação (ZHENG et al., 2021). Além disso, a técnica de RMN permite detectar simultaneamente centenas de metabólitos com massas moleculares menores que 1 kDa que são os produtos do metabolismo celular, contribuindo para eficiência e agilidade nos estudos metabonômicos relacionados às doenças alérgicas (HUANG et al., 2022).

Recentemente, alguns estudos empregaram plataformas metabonômicas para explorar alterações metabólicas em indivíduos com asma, pneumonia e doença pulmonar obstrutiva crônica, identificando alguns potenciais biomarcadores e importantes vias metabólicas associadas às doenças (ARAÚJO et al., 2020; GOSH et al., 2019; XU et al., 2021). No entanto, a estratégia metabonômica ainda não foi amplamente utilizada para estudar casos de rinite alérgica (HOLMES; HEANEY, 2021). Ma et al (2020) construíram modelos metabolômicos para esse fim, usando cromatografia líquida associada à espectrometria de massas. O estudo foi realizado usando 28 amostras de soro de pacientes diagnosticados com rinite alérgica e 28 voluntários saudáveis, conseguindo um modelo diagnóstico usando o formalismo OPLS-DA. ZHOU et al (2019) exploraram a metabonômica baseada em RMN de ^1H para estudar amostras de soro de pacientes com rinite alérgica induzida por pólen. Como resultado, registraram

alterações nos perfis metabólicos de energia, aminoácidos e lipídios nos pacientes, que podem ser marcadores de diagnóstico e/ou prognóstico para pacientes com polinose. A aplicação metabonômica para descobrir novos biomarcadores na rinite alérgica é sugerida tanto para a caracterização da rinite quanto para o monitoramento de pacientes em diferentes estágios da doença.

A integração entre a metabonômica e a rinite alérgica representa um avanço significativo na compreensão da doença e pode produzir informações valiosas para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas personalizadas e aprimoramento do manejo clínico dos pacientes, principalmente em pacientes pediátricos. Neste estudo, admitisse a hipótese de que a adesão (ou não) à terapia para controle da rinite alérgica provoca mudanças no perfil de metabólitos endógenos dos pacientes, que podem ser monitoradas por espectroscopia de RMN de ^1H e, portanto, são úteis para monitorar a adesão do tratamento e o manejo terapêutico da rinite alérgica em crianças e adolescentes.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver um modelo metabonômico baseado em espectroscopia de RMN de ^1H para avaliar crianças com rinite alérgica.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Obter os espectros de RMN de ^1H de amostras de soro de participantes diagnosticados com rinite alérgica e processar os dados espectrais para o estudo metabonômico;
- ✓ Explorar os dados clínicos dos participantes e sua relação com a adesão ao tratamento farmacológico (Boa e Má Adesão) para rinite alérgica;
- ✓ Fazer análise exploratória dos dados espectrais e construir diferentes modelos metabonômicos para classificação correta das amostras;
- ✓ Identificar os principais metabólitos responsáveis pela discriminação dos participantes do estudo.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. RINITE ALÉRGICA

A rinite é a inflamação crônica da mucosa nasal, clinicamente classificada, de acordo com a etiologia, em: (a) infecciosa (causadas por vírus, e menos frequentemente por bactérias); (b) não alérgica e não infecciosa (grupo heterogêneo, indivíduos sem sinais de infecção e de inflamação alérgica); (c) alérgica (desencadeada por inalação de alérgeno em indivíduos sensibilizados) ou (d) mista (desencadeantes alérgicos e não alérgicos) (CZECH; OVERHOLSER; SCHULTZ, 2023; HELLINGS et al., 2017). Os sintomas clássicos da rinite incluem obstrução ou congestão nasal, secreção nasal (anterior e/ou posterior), dor ou pressão facial e hiposmia, causando impacto significativo na qualidade de vida dos participantes (SCHULER; MONTEJO, 2019).

O fenótipo mais comum e reconhecível é a rinite alérgica (RA), desencadeada principalmente por uma resposta de hipersensibilidade do tipo 1, mediada por imunoglobulina E (IgE), devido a exposição ao alérgeno em indivíduo sensibilizado (BROŽEK et al., 2017). Os alérgenos envolvidos na resposta alérgica são, em sua maioria, derivados de proteínas que estão no ar, como pólen, ácaros da poeira doméstica, pelos de animais e fungos, sendo o pólen a fonte mais provável de alérgenos externos e os ácaros da poeira a fonte mais comum de alérgenos em ambientes internos (PAYANDEH et al., 2019). A RA relacionada ao pólen segue um padrão sazonal, uma vez que o pólen é liberado em estações específicas do ano, desencadeando respostas alérgicas quando entram no nariz e nas vias aéreas brônquicas (ZHOU et al., 2019).

A rinite alérgica representa um desafio para a saúde pública em todo o mundo, devido à sua alta prevalência e à presença de comorbidades associadas, como asma e sinusite (CAI-LING et al., 2023; JI; JANG; 2023; MICHALIK et al., 2020;). Essa condição não apenas compromete a qualidade de vida dos indivíduos afetados, mas também resulta em significativos gastos econômicos diretos e indiretos para o sistema de saúde (QUINN et al., 2017). Além disso, a rinite alérgica tem impactado negativamente na produtividade, uma vez que os sintomas associados a essa condição estão entre as principais razões para as faltas no trabalho e na escola (D'AMATO et al., 2020).

3.1.1. Epidemiologia

A rinite alérgica é uma das doenças mais comuns na área de otorrinolaringologia, afetando entre 5% e 50% da população mundial e a taxa de prevalência tem apresentado aumento, principalmente em países desenvolvidos, devido a fatores climáticos e

ambientais (WISE et al., 2023). A notificação da prevalência da rinite alérgica pode variar de acordo com o método de diagnóstico utilizado e a faixa etária dos participantes estudados, o que pode explicar parte da variabilidade relatada nos índices de prevalência (PAYANDEH et al., 2019). Várias iniciativas têm sido realizadas com o propósito de estabelecer diretrizes e consensos para padronizar a abordagem e o diagnóstico da rinite alérgica (WISE et al., 2023). Essas iniciativas contribuem para promover tratamento mais efetivo dessa condição e melhor comparação entre estudos.

Estima-se que aproximadamente 20% a 30% dos adultos e até 40% das crianças são afetadas pela rinite alérgica em todo o mundo (MELTZER, 2016). A sensibilização aos alérgenos e a presença de sintomas podem se manifestar em crianças a partir dos 12 meses de idade. Um estudo longitudinal multicêntrico que acompanhou crianças desde o nascimento até os 7 anos de idade na Alemanha, evidenciou que geralmente são necessários dois períodos de exposição sazonal ao alérgeno para desenvolver clinicamente rinite alérgica. Nessa coorte, nenhuma criança foi diagnosticada com rinite sazonal até 12 meses de idade (KULIG et al., 2000).

A prevalência de rinite alérgica em crianças tem sido amplamente investigada em estudos transversais, sendo os mais abrangentes o ISAAC (*International Study of Asthma and Allergies in Childhood*) nas Fases 1 e 3 (AIT-KHALED et al., 2009; BJÖRKSTÉN et al., 2008; STRACHAN et al., 1997). Esses estudos envolvem a administração de questionários sobre sintomas associados à asma, rinite e eczema atópico em centenas de milhares de crianças em duas faixas etárias distintas: 6 a 7 anos e 13 a 14 anos, abrangendo 91 centros de 38 países, incluindo o Brasil. Considerando todos os centros analisados, os resultados indicaram prevalência de 8,5% de rinite alérgica em crianças de 6 a 7 anos e 14,6% em crianças de 13 a 14 anos,

No contexto brasileiro, os dados da Fase III do estudo ISAAC realizado entre 2002 e 2003 revelaram variações na prevalência de rinite entre diferentes regiões. As taxas de prevalência de rinite na faixa etária de 6-7 anos foram mais elevadas na região sul e nordeste, 27,9% e 26,1% respectivamente (SOLÉ et al., 2006). Em relação a faixa entre 12-13 anos foram observadas maiores taxas de prevalência nas regiões Nordeste e Norte, com 32,4% e 32%. Entre os Centros investigados na região Nordeste, o estado de Pernambuco foi incluído na avaliação da faixa etária de 12-13 anos com coleta de dados realizadas em Recife e Caruaru, onde a prevalência registrada foi 35,8% e 25,5% respectivamente (SOLÉ et al 2006).

Um estudo realizado na região sul do Brasil, utilizando o método ISAAC para avaliar a

prevalência de asma e rinite em crianças de 6 a 7 anos, comparou dados de 2007, 2012 e 2017. Os resultados indicaram aumento na prevalência de asma ao longo desse período e prevalência relativamente alta de rinite alérgica (45,3%, 45,0%, 36,4% em 2007, 2012 e 2017, respectivamente) (DE OLIVEIRA et al., 2020).

As variações regionais na prevalência relatada de rinite ressaltam algumas limitações nos estudos “abertos” baseados em questionários de prevalência. Muitos desses estudos podem estar superestimando ou subestimando a prevalência da rinite, devido às disparidades na educação dos respondentes e nas definições de rinite alérgica adotada pelos pesquisadores (Van WONDEREN et al., 2010). Para compreender melhor os efeitos das influências geográficas na epidemiologia da rinite alérgica e as possíveis associações com as mudanças climáticas, têm sido conduzidas diversas pesquisas nessa área (ZHANG et al., 2021).

A prevalência da rinite alérgica variou entre 15% e 25% entre pacientes investigados em quatro regiões geográficas. As crianças, adolescentes e adultos jovens foram os grupos etários mais afetados pela doença, muitas vezes apresentando comorbidades, como asma, sinusite, conjuntivite e pólipos nasais. Os aeroalérgenos mais comuns foram o pólen e os ácaros (67,31%), seguidos por pelos de animais e poluentes (23,08%) e alérgenos fúngicos (21,15%) (PASSALI et al., 2018).

3.1.2. Fatores de risco

Exposições ambientais, mudanças climáticas e estilo de vida estão gradualmente sendo considerados como fatores de risco para rinite alérgica. Evidências crescentes demonstram que a poluição do ar está associada ao aumento da prevalência de rinite alérgica, bem como ao início e à intensificação de rinite sensibilizada alérgica desencadeada por pólen transportado pelo ar (D'AMATO et al., 2019; ZHANG et al., 2021). Mudanças nos fatores climáticos (temperatura, velocidade do vento, umidade, trovoadas) podem prolongar a estação do pólen e criar novas fontes de pólen devido a espécies invasoras (D'AMATO et al., 2020; FAIRWEATHER; HERTIG; TRAILD-HOFFMANN, 2020).

Fatores de estilo de vida, como maior tempo em ambientes fechados, uso de antibióticos, menor exposição a animais de fazenda e animais de estimação, além de exposição limitada a alérgenos ambientais e infecções parasitárias, são considerados fatores importantes que podem influenciar a prevalência da rinite alérgica (ALKOTOB et al., 2020). Também é sugerido que a dieta alimentar desempenha um papel no aumento da prevalência de doenças alérgicas e asma. Uma metanálise com estudos observacionais revelou a associação direta entre obesidade ou sobrepeso e o risco de desenvolver rinite alérgica em crianças (ZHOU et al., 2019).

Por outro lado, o padrão alimentar pode atuar como forma de prevenção de doenças alérgicas (CHANG-CHIEN et al., 2023). Roduit et al. (2021) relataram que butirato e propionato, que são ácidos graxos de cadeia curta encontrados em determinados alimentos e produzidos por microrganismos no intestino por meio da fermentação de fibra, apresentaram altos níveis nas fezes de crianças aos doze meses de idade, as quais apresentaram significativamente menor sensibilização atópica e menor incidência de asma entre os 3 e 6 anos de idade. Além disso, as crianças com níveis mais altos de butirato também demonstraram menor propensão a serem diagnosticadas com alergia alimentar ou rinite alérgica.

Em estudo conduzido para investigar os alérgenos em crianças e os fatores de influência relacionados com a incidência de rinite alérgica, LIU et al (2023) observaram estreita relação com a presença de asma, exposição a fumaça do cigarro, ambiente com grande circulação de pessoas, redecoreação recente do ambiente (até dois anos), histórico familiar de alergia e presença de animais domésticos, entre outros fatores. De acordo com os autores, a adoção de medidas direcionadas pode prevenir o surgimento e recorrência da doença. Paralelamente, a ventilação diária e a limpeza foram identificadas como fatores protetores para a redução da incidência e ocorrência da rinite alérgica.

3.1.3. Manifestações clínicas

A rinite alérgica caracteriza-se por sintomas como rinorreia, paroxismos de espirros, prurido nasal, tosse, gotejamento pós-nasal, inflamação conjuntival, congestão das vias aéreas superiores, principalmente nas fossas nasais e seios maxilares e frontais (BOUSQUET et al., 2020). Indivíduos com rinite alérgica podem apresentar uma variedade de achados físicos, incluindo linhas matinais de Dennie-Morgan (vincos ou dobras inferiores às pálpebras inferiores), prega nasal horizontal (causada pelo frequente hábito de coçar a narina com movimento para cima), edema infraorbitário e escurecimento conhecido como olheiras alérgicas (SAKANO et al., 2018).

Consequências desfavoráveis também são relatadas tanto na qualidade de vida quanto no desempenho cognitivo, as quais são predominantemente atribuídas a alterações nos padrões respiratórios. Essas mudanças comprometem a qualidade do sono, impactam negativamente o desempenho cognitivo e afetam a capacidade de concentração, resultando em fadiga generalizada e sonolência diurna (ZHANG et al., 2021). As principais manifestações clínicas da rinite alérgica são apresentadas no Quadro 1.

Quadro 1 - Manifestações clínicas e características associadas à rinite alérgica

Manifestações Clínicas	Descrição
Prurido	Nasal, ocular, palato, conduto auditivo
Coriza	Hialina
Espirros	Salvas de espirros
Alteração da sensibilidade	Paladar, olfato e audição
Obstrução nasal	Voz anasalada, roncos noturnos, dor de garganta, rouquidão, respiração bucal, palato em ogiva e má oclusão dentária
Odinofagia	Sensação de dor ao engolir
Função	Pigarro
Olheiras alérgicas	Vasodilatação produzida pela inflamação alérgica
Linha de Dennie-Morgan	Dobra na pálpebra inferior
Prega nasal	Prega no dorso do nariz produzida por esfregar o nariz
Palidez da mucosa nasal	Mucosa com coloração azulada
Edema dos cornetos	Aumento de volume dos cornetos nas cavidades nasais

Além dos sintomas clássicos, a rinite alérgica também pode levar a hiposmia, ansiedade, depressão e outros sintomas relacionados à função cerebral, causando sérios impactos na vida dos pacientes e familiares (HOYTE; NELSON, 2018). A presença dos sintomas relacionados à função cerebral também aumenta a dificuldade e os custos do diagnóstico e do tratamento da rinite alérgica (OZDOGANOGLU et al., 2012; SALIMI et al., 2019). Portanto, a prevenção e o tratamento dos sintomas relacionados à função cerebral na rinite alérgica assumem grande relevância.

Associações comuns com rinite alérgica incluem dermatite atópica, asma e alergias alimentares (LIU et al., 2023). A rinite alérgica é considerada fator de risco para o desenvolvimento da asma, doença respiratória crônica caracterizada pelo estreitamento reversível das vias aéreas brônquicas e hiperresponsividade a diversos estímulos biológicos e ambientais (XU et al., 2022). A asma geralmente coexiste com a rinite e é causa importante de morbimortalidade crônica no mundo. No Brasil e na Espanha, foi observado que cerca de 75% das crianças e adolescentes, com idades entre 3 e 18 anos, apresentaram, concomitante, rinite e asma (LASMAR et al., 2007; PEREZ et al., 2021).

3.1.4. Diagnóstico

O diagnóstico da rinite alérgica é estabelecido por meio de avaliação clínica detalhada, que inclui o histórico clínico do paciente e os achados do exame físico, bem como exames complementares de diagnóstico. Entre esses estão os testes de sensibilização aos alérgenos, por

meio de testes cutâneos de puntura e dosagem sérica da IgE, a fim de confirmar a relação entre a história clínica do paciente e os potenciais alérgenos envolvidos (WANG et al., 2018).

O exame físico do paciente com rinite alérgica envolve a avaliação dos olhos, ouvidos, nariz e garganta. Inicialmente, a abordagem a ser considerada é a realização da rinoscopia anterior, que é uma técnica simples, sem necessidade de equipamentos caros e que permite a visualização da parte frontal da cavidade nasal. Além disso, é útil para identificar complicações ou outras condições nasais, como pólipos nasais ou desvio de septo. Nesse exame, frequentemente observa-se a mucosa nasal pálida, edemaciada e com abundante secreção clara ou mucoide, com sensibilidade de 67% e especificidade de 37%. Em casos crônicos, observa-se hipertrofia dos cornetos nasais, que apresenta sensibilidade de 90%, mas especificidade de apenas 2,3% (EREN et al., 2013).

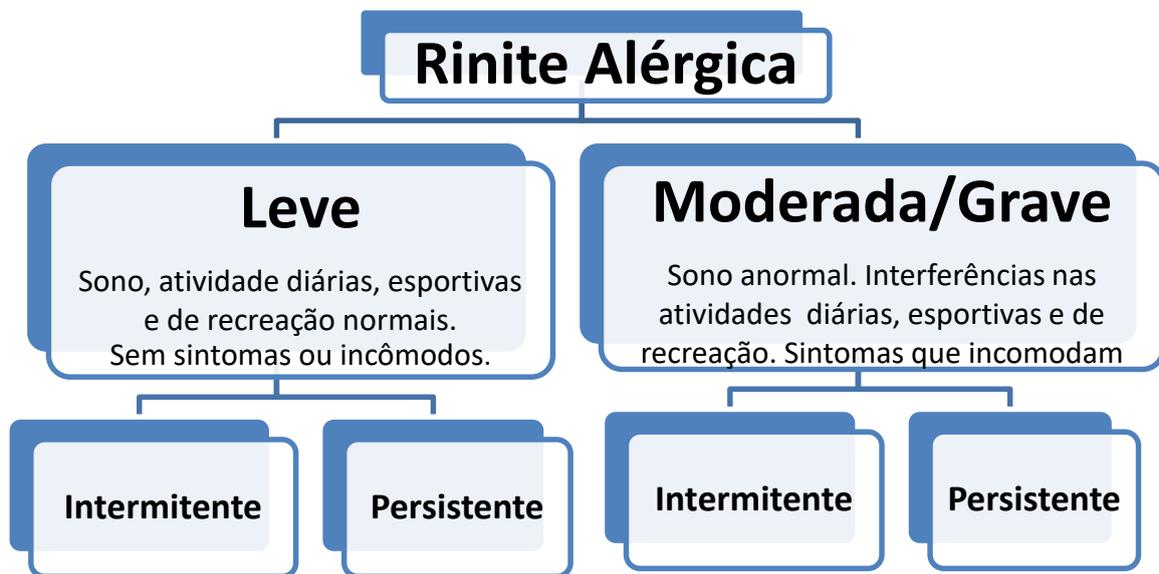
A limitação da rinoscopia anterior reside no fato de não possibilitar a visualização completa da cavidade nasal, incluindo o meato médio, onde frequentemente ocorrem drenagens dos seios maxilar, frontal e etmoidal anterior, que são comumente afetados na rinite alérgica. Para superar essa limitação, a realização de uma endoscopia nasal pode ser considerada. Essa técnica permite uma distinção mais clara entre patologias estruturais e da mucosa, embora geralmente seja reservada para pacientes que não respondem ao tratamento convencional (CALDEIRA et al., 2021). Ainda no exame físico, é realizado o exame dos olhos, sendo possível observar lacrimejamento e inflamação na conjuntiva, enquanto na orofaringe pode-se identificar o gotejamento pós-nasal (SCHULER; MONTEJO, 2019).

Para o diagnóstico diferencial da rinite alérgica com outras formas de rinite, como a rinite eosinofílica não alérgica, rinite vasomotora, rinite irritativa, rinite ocupacional e rinites associadas à doenças sistêmicas, o teste cutâneo é frequentemente utilizado (AGNIHOTRI; MCGRATH; 2019). Em alguns casos, a citologia nasal também pode ser requerida como método complementar de diagnóstico, especialmente para diferenciar entre rinites eosinofílicas e não eosinofílicas, com base na predominância de eosinófilos na secreção nasal (SAKANO et al., 2018).

O teste cutâneo de puntura comumente empregado é o *Prick Test* devido à facilidade de realização, baixa ocorrência de efeitos adversos (risco próximo a 0,05%) e por ser pouco doloroso para o paciente. Além de desempenhar papel essencial no diagnóstico diferencial das doenças da mucosa nasal, o teste cutâneo auxilia na determinação do padrão de sensibilização de cada paciente (WANG et al., 2018). Desse modo, a partir dos resultados do teste cutâneo de puntura, medidas de redução de exposição podem ser implementadas para minimizar o contato com os alérgenos, bem como para o tratamento adequado da doença (ZHOU et al., 2019).

A classificação fenotípica atual da rinite alérgica é baseada em critérios como gravidade (leve, moderada/grave) e duração dos sintomas relatados (intermitente e persistente) (Bousquet et al., 2020). A categoria "leve" indica a ausência de incômodos, enquanto "moderado/grave" indica a presença de pelo menos um sintoma (BROŽEK et al., 2017). A distinção da duração entre intermitente ou persistente é realizada de acordo com o número de dias na semana, e mesmo no ano, em que o indivíduo apresenta sintomas (Figura 1). Essa classificação proporciona uma compreensão mais abrangente da condição alérgica contribuindo para o manejo e tratamento adequados da doença (SAKANO et al., 2018).

Figura 1 - Classificação da rinite alérgica em função da duração e gravidade dos sintomas. Considera-se Persistente quando os sintomas são observados em quatro ou mais dias por semana ou por mais de 4 semanas.



Nos últimos anos, observou-se um aumento significativo nos estudos sobre doenças alérgicas, visando identificar biomarcadores que possam ser aplicados na prática clínica. Embora vários marcadores de inflamação alérgica (por exemplo, IgE, eosinofilia, óxido nítrico exalado fracionado) tenham sido descritos, sua utilidade no diagnóstico, prognóstico e terapia ainda é controversa (VILLASEÑOR et al., 2017).

3.1.5. Tratamento

Medidas farmacológicas

O manejo da rinite alérgica pode envolver evitar alérgenos, farmacoterapia, imunoterapia específica para alérgenos ou uma combinação dos três (MUSSAP et al., 2021; XIANG et al.,

2020). As opções farmacológicas incluem corticosteróides, anti-histamínicos, descongestionantes, agentes anticolinérgicos orais e intranasais e antileucotrienos orais (AGÜERO et al., 2023; JI; JANG, 2023) (Quadro 2). O uso desses medicamentos deve ser realizado sob supervisão médica, levando em consideração as necessidades e características individuais de cada paciente.

Para aliviar sintomas de prurido nasal, espirros e coriza associados à rinite alérgica, frequentemente são prescritos medicamentos antialérgicos, como os anti-histamínicos, que devem ser adequados para a faixa etária do paciente (SCHULER; MONTEJO, 2019; ZHANG et al., 2022). Além dos anti-histamínicos, outros tipos de medicamentos podem ser prescritos para tratar os sintomas da rinite alérgica, como os corticosteroides nasais.

No caso de rinite alérgica persistente, os corticosteroides ajudam a reduzir a inflamação nas vias nasais, aliviando o congestionamento, o prurido e a coriza (SAKANO et al., 2018). Também podem ser recomendados descongestionantes nasais em casos de obstrução nasal muito intensa, no entanto, seu uso deve ser limitado a curtos períodos, uma vez que o uso prolongado pode causar efeitos colaterais.

Os antileucotrienos apresentam resposta terapêutica semelhante aos anti-histamínicos na rinite alérgica sazonal (AGÜERO et al. 2023). A recomendação para o uso desses medicamentos é fundamentada em sua segurança e tolerabilidade, porém, sua eficácia em comparação com os anti-histamínicos ainda é objeto de debate (LIU et al., 2018). Esses medicamentos podem ser uma opção a ser considerada, após a avaliação das contraindicações, em crianças com rinite alérgica e asma concomitante, uma vez que estão associados à melhora de ambas as doenças (BROŽEK et al., 2017).

Quadro 2 - Medicamentos utilizados no tratamento de rinite alérgica

Medicamentos	Tipo	Produtos Comerciais
Antihistamínicos	Nasal Oral	Azelastina, Fluticasona+Azelaстина Cetirizina, Loratadina, Desloratadina, Fexofenadina.
Corticosteroides nasais	Nasal	Fluticasona, Budesonida, Mometasona
Descongestionantes nasais	Nasal	Oximetazolina, Xilometazolina
Antileucotrienos	Oral	Montelucaste
Imunoterapia específica	Subcutânea sublingual	Depende do alérgeno específico e do fabricante

Adaptado de Agüero et al. (2023)

Nos casos de rinite alérgica persistente e com alérgenos identificados, a imunoterapia específica pode ser recomendada (XIANG et al., 2020). O tratamento envolve a administração gradual de doses crescentes do alérgeno ao longo do tempo, com o objetivo de reduzir a sensibilidade do sistema imunológico e diminuir a resposta alérgica (BOUSQUET et al., 2020). A imunoterapia específica (subcutânea ou sublingual) pode melhorar os sintomas de doenças alérgicas e reduzir o risco de asma em pacientes com rinite isolada (XIE et al., 2021; ZHENG et al., 2021).

A recente meta-análise conduzida por JI; JANG (2023) com estudos clínicos randomizados e controlados, examinou a eficácia e segurança da imunoterapia sublingual no tratamento da rinite alérgica. Os resultados revelaram que as intervenções mais eficazes para o controle dos sintomas foram as imunoterapias sublingual e subcutânea direcionadas ao tratamento da rinite alérgica desencadeada por ácaros da poeira. Além disso, um ponto importante destacado é que a imunoterapia sublingual demonstrou menor incidência de reações adversas, o que a torna uma opção mais segura para os pacientes.

Em crianças e adolescentes o tratamento da rinite alérgica requer uma abordagem personalizada e deve ser supervisionado por profissional qualificado, como pediatra (menores de 12 anos), otorrinolaringologista ou alergologista. O médico considerará a gravidade dos sintomas, a idade do paciente, condições de saúde preexistentes, além das condições socioeconômicas para determinar a melhor abordagem terapêutica, visando minimizar os impactos da rinite alérgica e melhor adesão ao tratamento (SÁNCHEZ; SÁNCHEZ; CARDONA, 2018; SCHULER; MONTEJO, 2019).

A adesão às medicações prescritas é um aspecto negligenciado no manejo da rinite alérgica, levando, portanto, a resultados insatisfatórios do tratamento. A falta de adesão ao tratamento em doenças respiratórias crônicas, como asma e rinite alérgica, está relacionada a crises agudas, deterioração na qualidade de vida e aumento dos gastos no sistema de saúde (HUGTENBURG et al., 2013). Embora suas consequências sejam conhecidas, a adesão insuficiente ao tratamento continua sendo um problema recorrente para o controle clínico adequado dessas doenças (BAIARDINI et al., 2019).

Na população pediátrica, a adesão ao tratamento pode apresentar desafios significativos, especialmente devido à resistência que as crianças podem ter em relação à administração de medicamentos, a falta de compreensão dos benefícios do tratamento ou a presença de efeitos colaterais desagradáveis podem influenciar negativamente a adesão (AGUERO, 2023). As taxas de adesão nessa população são extremamente variáveis, de 11% a 93%, com média estimada em torno de 50% (MATSUI, 2007). A adesão ao tratamento pode ser definida como

“a extensão em que o comportamento de uma pessoa – tomar a medicação, seguir uma dieta e/ou executar mudanças no estilo de vida corresponde às recomendações acordadas de um profissional de saúde” (WHO, 2003).

A não adesão pediátrica pode resultar em recuperação mais lenta e aumento dos custos para a família, bem como para o sistema de saúde, incluindo visitas médicas, demandando mais internações hospitalares e uso de recursos médicos (SÁNCHEZ; SÁNCHEZ; CARDONA, 2018). Além dos custos financeiros, a não adesão ao tratamento também pode ter consequências emocionais e psicossociais para a criança e a família (HOYTE; NELSON, 2018). A frustração, a preocupação e a angústia podem afetar a qualidade de vida e o bem-estar de todos os envolvidos.

A adesão ao tratamento da rinite alérgica é influenciada por diversos fatores, a gravidade da doença e seu impacto na qualidade de vida desempenham papel crucial na adesão terapêutica. As características do medicamento, como a frequência e via de administração, possíveis efeitos colaterais e custo, também podem afetar significativamente a utilização adequada da terapia farmacológica prescrita (HUGTENBURG et al., 2013; PAPI et al., 2018). Navarro et al. (2011) realizaram estudo baseado em inquérito em que 20% dos participantes/responsáveis relataram adesão às recomendações de tratamento por um curto tempo ou apenas quando os sintomas estavam presentes e/ou mais intensos. Por sua vez, o nível intelectual, cultural, estrutura familiar e características psicológicas do paciente são fatores que podem influenciar sua adesão ao tratamento (EL-RACHIDI et al., 2017). No contexto médico, uma boa relação médico-paciente é fundamental para a eficácia clínica de uma estratégia terapêutica. Ressalta-se que o sucesso do tratamento de uma doença crônica está intrinsecamente ligado à soma e interação desses múltiplos e complexos fatores (ROSÁRIO, 2019).

Embora os medicamentos possam proporcionar alívio temporário da rinite alérgica, é fundamental ressaltar que esta é uma condição crônica que tem impacto significativo na qualidade de vida dos indivíduos afetados (AGNIHOTRI et al., 2019). Nesse sentido, é essencial aprofundar a compreensão acerca da fisiopatologia subjacente da rinite alérgica, que engloba processos complexos relacionados ao sistema imunológico e às vias respiratórias. Melhor compreensão desses mecanismos possibilitará o desenvolvimento de estratégias de manejo mais eficazes para controlar a inflamação e aliviar os sintomas associados à doença.

Medidas não farmacológicas

O melhor método para controlar a rinite alérgica é a prevenção, evitando os alérgenos. Nesse sentido, o paciente/responsável e o profissional de saúde devem elaborar estratégias de

prevenção na tentativa de minimizar ou eliminar a exposição aos agentes desencadeadores de sensibilização (WISE et al., 2023). Entretanto, a maioria dos pacientes alérgicos frequentemente têm múltiplos alérgenos ambientais, tornando difícil evitá-los, devido à sua presença em diferentes contextos e situações do dia a dia. (LIU et al., 2023). Isso destaca a complexidade do controle ambiental e a necessidade de estratégias de tratamento que considerem a diversidade de alérgenos aos quais os pacientes podem estar expostos.

Desse modo, a primeira linha de defesa no tratamento da rinite alérgica em crianças e adolescentes é evitar a exposição aos alérgenos desencadeantes (AGUERO et al., 2023). Identificar e eliminar ou reduzir a presença de ácaros, pólen, fungos e pelos de animais no ambiente pode ajudar a prevenir o aparecimento dos sintomas (MELTZER, 2016; ZHOU et al., 2019). As principais medidas de controle ambiental para prevenção e controle da rinite alérgica são apresentadas no Quadro 3.

Quadro 3 - Medidas de Controle Ambiental que atuam no tratamento da rinite alérgica

Medidas de Controle	Descrição
Redução de alérgenos	Identificar e reduzir a exposição a alérgenos como ácaros, mofo, pelos de animais e pólen.
Controle de ácaros	Lavar regularmente roupas de cama em água quente, usar capas impermeáveis em colchões e travesseiros, aspirar regularmente o ambiente.
Controle de fungos	Prevenir a proliferação de fungos por meio do controle da umidade, ventilação adequada e reparo de vazamentos ou infiltrações.
Controle de pelos de animais	Limitar a exposição a animais de estimação, manter os animais fora dos quartos, realizar limpeza regular dos espaços.
Controle de pólen	Fechar as janelas durante os períodos de alta concentração de pólen, evitar atividades ao ar livre nesses períodos, tomar banho e trocar de roupa ao chegar em casa.
Evitar irritantes	Reduzir a exposição a irritantes nasais como fumaça de cigarro, produtos químicos irritantes e poluentes do ar.

Estudos anteriores têm indicado que pacientes diagnosticados com doenças alérgicas, como a rinite, exibem respostas diversas ao mesmo tratamento farmacológico, mesmo quando adotam medidas para controlar o ambiente (PAPI et al., 2018; ZHOU et al., 2019). Essa diversidade de respostas é atribuída a modificações nas interações genéticas, envolvendo um extenso conjunto de genes (BENSON et al., 2016). Desse modo, a introdução de tecnologias ômicas de alto rendimento, como genômica, transcriptômica, epigenômica, proteômica e metabonômica/metabolômica, tem proporcionado o desenvolvimento de perfis moleculares mais abrangentes e a compreensão mais profunda da patogênese dessas doenças (MISRA et al., 2019).

3.2 VISÃO GERAL DA METABONÔMICA

A metabonômica é uma abordagem abrangente e quantitativa para a análise do metaboloma de um sistema biológico em resposta a estímulos fisiopatológicos ou modificações genéticas (CANUTO et al., 2018). Embora os termos metabolômica e metabonômica sejam usados de forma intercambiável, possuem diferenças sutis em seu escopo. A metabolômica engloba e define todo o metaboloma em organismos e sistemas multicelulares, enquanto a metabonômica se concentra nas mudanças metabólicas no sistema, muitas vezes em resposta a um fenótipo evocado ou intervenções (LINDON; NICHOLSON, 2008).

Dentre as abordagens "ômicas" que medem mudanças globais em células, a metabonômica se destaca por caracterizar as alterações dinâmicas de pequenas moléculas geradas a partir de diversos processos intracelulares complexos (FIEHN et al., 2000; KAN et al., 2017). Essa capacidade de analisar e quantificar as mudanças metabólicas tem tornado a metabonômica um método promissor para investigar a saúde humana, especialmente em estados de doença (MISRA et al., 2019). Os avanços recentes na capacidade de alto rendimento, bem como o progresso na química e na análise de dados de metabólitos, contribuíram para o crescimento dessa área de pesquisa (XU et al., 2022).

A metabonômica concentra-se no estudo sistemático de compostos químicos de baixo peso molecular (até 1500 Da) presentes em amostras biológicas, como urina, sangue, resíduos fecais, extratos de tecidos, mucosa sinusal, entre outros (ARAÚJO et al., 2022; JOHNSON; IVANISEVIC; SIUZDAK, 2016). Esses compostos desempenham funções-chave nas vias metabólicas associadas a processos normais e patológicos, atuando como produtos primários, intermediários e/ou finais do metabolismo (ZHENG et al., 2021). No corpo humano, estes compostos de baixa massa molar podem resultar do metabolismo humano ou microbiano, ambiente, dieta e interações entre esses fatores (MUSSAP et al., 2016). Ao permitir identificar alterações metabólicas, a metabonômica pode contribuir para a descoberta de metabólitos expressos diferencialmente, os quais desempenham papel fundamental como biomarcadores no diagnóstico, diferenciação entre doenças e monitoramento do progresso da terapia médica (JIANG; LI, 2023; MICHALIK et al., 2020).

Atualmente, o soro e o plasma sanguíneos são os fluidos biológicos predominantemente examinados em estudos metabonômicos (GONZÁLEZ-DOMINGUEZ et al., 2020; XIE et al., 2021; YUAN et al., 2022; ZHENG et al., 2021). A escolha do soro para análises metabonômica pode otimizar o diagnóstico na prática clínica, especialmente em pacientes com sensibilização alérgica, uma vez que geralmente são realizadas dosagens de IgE, também avaliadas no soro.

Outra característica relevante é que amostras do plasma e soro contêm compostos metabolicamente ativos e metabólitos lipossolúveis que não estão presentes na urina (JUNG et al., 2013).

No entanto, vários fatores pré-analíticos devem ser abordados na metabolômica sérica ou plasmática. A coagulação sanguínea é um fator importante a ser considerado na seleção de amostras entre soro e plasma. Os tubos de coleta e o tempo de coleta podem modificar os perfis metabólicos, incluindo a abundância de ácido araquidônico, arginina, sarcosina e quinurenina (CRUICKSHANK- QUINN et al., 2018; PAGLIA et al., 2018). Fatores de confusão adicionais, como temperatura e centrifugação, também podem contribuir para padrões metabólicos únicos, devido a metabólitos liberados de plaquetas ou enzimas (LIU et al., 2018). Por fim, as condições de transporte e armazenamento de amostras também devem ser cuidadosamente controladas para uma reprodutibilidade ideal (GONZALEZ-DOMINGUEZ et al., 2020; TORELL et al., 2017).

A metabonômica utiliza três estratégias principais: metabonômica direcionada, impressão digital metabólica e perfil metabólico (MICHALIK et al., 2020). A impressão digital metabólica é uma abordagem qualitativa que busca identificar o maior número de metabólitos em amostras biológicas, a fim de detectar alterações em seus níveis entre os grupos estudados (FAZLOLLAHI et al., 2016). Essa abordagem pode oferecer *insights* sobre como a doença se desenvolve ou sobre a presença e progressão dela. Para explorar maior variedade de metabólitos com diferentes propriedades físico-químicas, é comum utilizar esse tipo de estratégia metabonômica. Técnicas analíticas como cromatografia gasosa, eletroforese capilar e cromatografia líquida em conjunto com espectrometria de massa e/ou espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) são amplamente utilizadas (JOHNSON; IVANISEVIC; SIUZDAK et al., 2016).

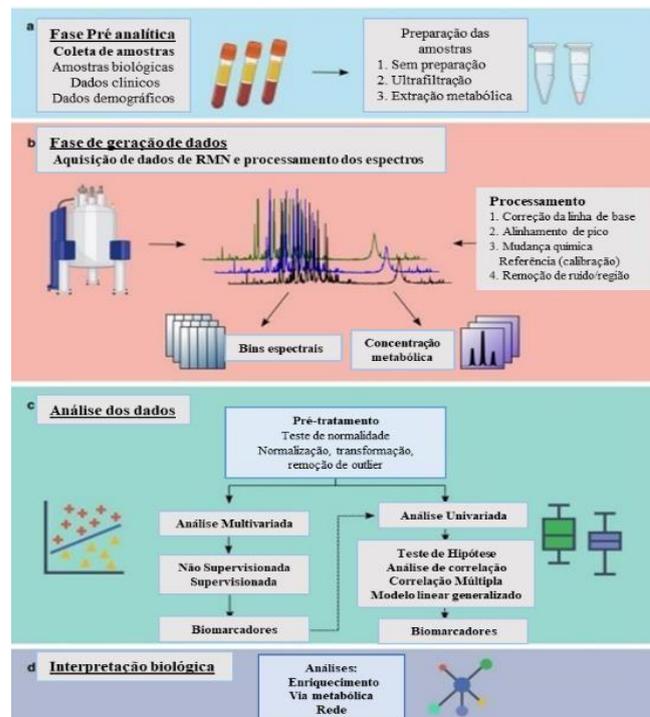
A análise do perfil metabólico proporciona uma nova oportunidade para investigar os efeitos metabólicos globais em sistemas biológicos complexos (FAZLOLLAHI et al., 2016; KELLY et al., 2017; SAITO, MATSUDA, 2010). Para essa finalidade, a espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H de alta resolução (RMN de ^1H) é amplamente empregada, devido à sua confiabilidade e à relativa simplicidade na preparação da amostra (ZHOU et al., 2019). A RMN de ^1H permite a detecção de diversas classes de compostos, como aminoácidos, ácidos graxos, carboidratos, nucleotídeos e muitos outros, fornecendo uma visão abrangente do estado metabólico de uma amostra biológica (JOESTEN et al., 2019).

Os estudos metabonômicos direcionados concentram-se na análise de um conjunto pré-determinado de metabólitos de interesse, com ênfase na sua identificação e quantificação

(GONZÁLEZ-DOMINGUEZ et al., 2020). O pré-tratamento das amostras é mais complexo do que nas abordagens não direcionadas (ARAÚJO et al., 2022). Desse modo, pode incluir métodos de extração, como extração líquido-líquido, extração em fase sólida e microextração em fase sólida, para garantir a limpeza e concentração adequadas das amostras.

No processo de desenvolvimento de estudos metabonômicos, é fundamental definir previamente o problema biológico específico a ser investigado. Essa definição requer a formulação de uma ou mais perguntas que serão abordadas e respondidas no final do estudo, além da escolha do método mais adequado a ser empregado (CANUTO et al., 2018). Uma investigação metabonômica envolve etapas distintas que são pré-analítica, analítica e pós-analítica (GONZÁLEZ-DOMINGUEZ et al., 2020; PINTO et al., 2017; VILLASEÑOR et al., 2017). A fase pré-analítica abrange a coleta, transporte, armazenamento e processamento das amostras (LIU et al., 2023). A fase analítica compreende a aplicação de técnicas, como espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), cromatografia em fase gasosa ou líquida acoplada à espectrometria de massas. Na fase pós-analítica, são realizados o processamento dos espectros, análise multivariada de dados, identificação dos metabólitos e interpretação biológica dos dados obtidos (HUANG et al., 2022) (Figura 2).

Figura 2. Principais etapas do desenvolvimento de um estudo metabonômico



Fonte: Huang et al. (2022).

A metabonômica está em constante desenvolvimento e tem se destacado como uma ferramenta poderosa para o estudo de doenças alérgicas que afetam a infância e a adolescência,

como rinite e asma. Metabólitos envolvidos em reações alérgicas em resposta à exposição a alérgenos têm o potencial de servir como biomarcadores específicos para asma e rinite (ZHOU et al., 2019). No entanto, poucos estudos abordaram a relação entre perfis metabólicos e sensibilização alérgica em relação à rinite na infância. Compreender as mudanças metabólicas dinâmicas que ocorrem durante a infância e início da adolescência possibilita a exploração da diversidade dos perfis metabólicos nessa faixa etária e a investigação de como essas variações podem estar associadas ao crescimento, desenvolvimento e saúde das crianças (FANOS; ANTONUCCI; ATZORI, 2013).

3.2.1 Abordagens Analíticas em Metabonômica

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) e a espectrometria de massas (EM) representam plataformas analíticas amplamente utilizadas em metabonômica (EMBEDE et al., 2016; GAO et al., 2016; JOESTEN et al., 2019; MA et al., 2020; ZHENG et al., 2021). A espectrometria de massas é mais difundida e comumente empregada, provavelmente devido à sua alta sensibilidade, que permite a identificação e quantificação de um número elevado de metabólitos por meio de abordagens direcionadas e não direcionadas (JOHNSON; IVANISEVIC; SIUZDAK, 2016; VILLASEÑOR et al., 2017). Os potenciais fontes de erros na quantificação de metabólitos, usando EM, estão associadas à extração irreprodutível, derivatização e degradação de metabólitos.

Mais recentemente, a espectroscopia de RMN tem sido amplamente utilizada na avaliação e exploração do metaboloma humano como marcadores de estados de doença e na compreensão da diversidade de vias metabólicas os mais diferentes organismos. Os modelos metabonômicos baseados em RMN englobam condições de doença como hepatite B crônica (GILANY et al., 2019), câncer geniturinário (MANZI et al., 2020), fibrose cística (MONTUSCHI et al., 2012); asma e doença pulmonar obstrutiva crônica (GHOSH et al., 2019).

A RMN é uma técnica não invasiva, rápida e não destrutiva, que permite a detecção de metabólitos *in vivo* e *in vitro* com mínima intervenção na preparação das amostras. Isso a torna especialmente adequada para estudos que envolvem muitas amostras (HUANG et al., 2022; ZHENG et al., 2021). Na RMN, as propriedades magnéticas dos núcleos atômicos são exploradas para fornecer informações sobre a estrutura molecular, permitindo a identificação dos metabólitos presentes nos biofluidos investigados. A identificação é baseada em padrões de deslocamentos químicos, multiplicidade do sinal e intensidades de picos característicos de cada metabólito (SMITH, 1995). Em alguns casos, podem ser utilizados experimentos 2D, como o HSQC ^1H - ^{13}C , promovendo uma dupla confirmação da atribuição.

Outro ponto relevante em relação à RMN é a reprodutibilidade para aquisição de dados, o que favorece a comparação de dados entre os estudos (ZHOU et al., 2019). No entanto, a interpretação dos dados espectrais se constitui numa etapa desafiadora, principalmente devido à presença de compostos interferentes, resultando em picos sobrepostos (MISRA et al., 2019). Alguns trabalhos de revisão destacam as melhores práticas para a aplicação da metabonômica por RMN e ressaltam a importância de relatórios padronizados que abordem os aspectos da análise química em experimentos metabonômicos, incluindo: preparação de amostras, análise experimental, controle de qualidade, identificação de metabólitos, e pré-processamento de dados (GONZALEZ- DOMINGUEZ et al., 2020; SPICER; SALEK; STEINBECK, 2017). A padronização é importante para garantir a consistência e a confiabilidade dos resultados obtidos em diferentes estudos e laboratórios. A falta de padronização pode levar a variações nos resultados e dificultar a comparação entre diferentes estudos (PILON et al., 2020).

O pré-processamento dos dados e a análise multivariada desempenham um papel fundamental na interpretação e extração de conhecimento dos dados metabonômicos obtidos por meio da RMN e espectrometria de massa (HUANG et al., 2022; MA et al., 2020; ZHOU et al., 2019). Essas etapas são essenciais para proporcionar uma compreensão mais abrangente dos processos metabólicos e de suas relações com as doenças e condições estudadas. O pré-processamento dos dados envolve uma série de técnicas, como normalização, remoção de ruídos e correção de deslocamentos químicos, visando garantir a qualidade e confiabilidade dos resultados (PINTO, 2017). A análise multivariada, por sua vez, permite identificar padrões, correlações e diferenças entre os grupos estudados, contribuindo para a identificação de biomarcadores e de possíveis alterações metabólicas associadas às condições investigadas (MUSSAP et al., 2021).

3.2.2 Formalismos quimiométricos

Devido à crescente aplicação de modelos matemáticos e princípios estatísticos na Química, surgiu o termo Quimiometria, que se caracteriza como um campo interdisciplinar que relaciona estatística multivariada, ciência da computação, química analítica e outras áreas afins (FERREIRA, 2015). Podemos considerar três grandes áreas de atuação na Quimiometria: planejamento de experimentos, calibração multivariada e reconhecimento de padrões. Esta última abordagem tem sido amplamente adotada na análise de dados metabonômicos, incluindo dados obtidos por meio da espectroscopia de RMN. A utilização de dados de RMN como entrada para tratamentos quimiométricos permite explorar informações complexas presentes nos espectros e obter uma análise mais aprofundada dos metabólitos presentes nos biofluidos

estudados (PINTO, 2017; SMOLINSKA et al., 2012).

A análise metabonômica pode ser realizada utilizando fluxos de trabalho não direcionados ou direcionados. O fluxo de trabalho não direcionado adota uma abordagem holística, visando obter o máximo de informações possível de um sistema específico. Ao analisar uma amostra biológica, a primeira abordagem deve ser conduzida com métodos de reconhecimento de padrões, com o intuito de identificar assinaturas metabólicas capazes de discriminar diferentes estados fisiopatológicos (ARAÚJO et al., 2022).

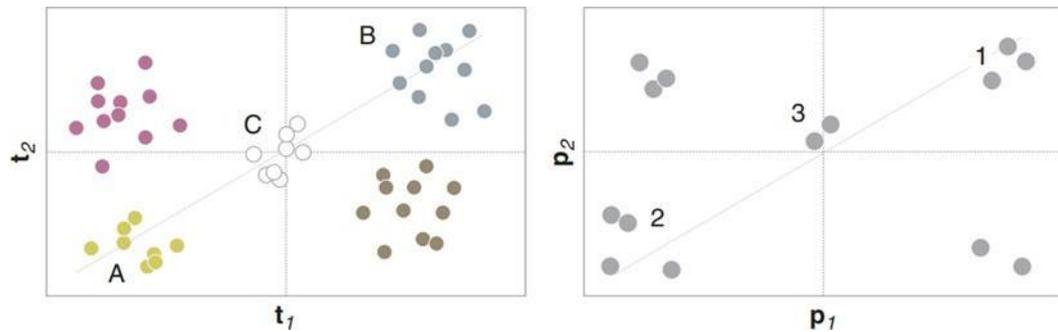
Dentre os métodos não-supervisionados, ou seja, sem usar informações de classe, destacam-se a Análise de Componentes Principais (PCA) e a Análise de Agrupamentos Hierárquicos (HCA) como os mais amplamente utilizados. Essas técnicas contribuem significativamente na análise de dados metabonômicos, permitindo a identificação de padrões, similaridades e estruturas intrínsecas nos conjuntos de dados, bem como identificar amostras anômalas (PINTO, 2017). A análise de agrupamento ou análise de cluster geralmente é baseada no conceito de similaridade, reconhecidamente a maneira mais fácil e intuitiva de definir matematicamente a similaridade entre dois objetos.

Nas análises metabonômicas, a HCA é utilizada para revelar informações sobre a estrutura e organização dos dados, auxiliando na identificação de subgrupos ou *clusters* de metabólitos relacionados (SMOLINSKA et al., 2012). Embora seja uma técnica simples e bastante utilizada, a HCA apresenta uma desvantagem, que é a de não agregar informações sobre a composição química dos agrupamentos, ou seja, não revela quais sinais químicos (metabólitos) são responsáveis pelo agrupamento de determinadas amostras (PILON et al., 2020).

A PCA é uma ferramenta quimiométrica de análise multivariada não-supervisionada que tem como objetivo derivar novas variáveis não correlacionadas, conhecidas como componentes principais, a partir de um conjunto de variáveis originais (PINTO, 2017). As componentes principais são combinações lineares das variáveis originais, onde o número de componentes principais (p) é menor que o número de variáveis originais (m). Cada componente principal explica parte da variância dos dados, sendo ordenadas de acordo com a quantidade de variância que explicam. A PCA promove a transformação do conjunto inicial de variáveis, possivelmente dependentes entre si, em um conjunto reduzido de variáveis independentes (LYRA, 2010). Com isso, é possível projetar as amostras, ou as variáveis originais, no sistema de coordenadas definido pelas componentes principais construídas. A Figura 3 apresenta um exemplo de gráfico de escores e de pesos de uma análise de PCA. No primeiro caso, tem-se o gráfico de escores, que mostra os agrupamentos naturais das amostras. No caso da projeção das

variáveis originais, tem-se o gráfico de pesos (do inglês, *loading*), que mostra quais variáveis originais são importantes para os agrupamentos observados.

Figura 3. Representações gráficas resultantes da Análise de Componentes Principais. Escores t_1 vs t_2 (esquerda) e pesos p_1 vs p_2 (direita) devem ser examinados simultaneamente, a fim de compreender as relações entre tendências e grupos observados nas amostras (*score plot*) e quais variáveis (metabólitos) – são responsáveis por essa tendência (*loadings plot*).



Fonte: Pinto (2017)

Nos estudos metabonômicos, é comum que o impacto do objeto de estudo sobre a variância do conjunto de dados seja muito pequeno e, portanto, não seja observada discriminação nas primeiras componentes principais. Nesses casos, a alternativa é usar um método supervisionado de análise multivariada, ou seja, usar a informação de classe. A análise supervisionada tem sido amplamente utilizada na descoberta de biomarcadores (HUANG et al., 2022; SMOLINSKA et al., 2012). Nesse processo, a matriz de dados é comparada a um modelo pré-definido, que deve ser robusto e estatisticamente sólido. O objetivo principal dos métodos supervisionados é obter uma correlação entre as variáveis químicas e o conjunto de dados usando-o como base para previsão (PILON et al., 2020).

Dependendo dos objetivos do estudo e dos cálculos aplicados nas análises supervisionadas, existem diversas ferramentas disponíveis para a discriminação e diferenciação de dados. Essas ferramentas incluem Análise Discriminantes por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA), Análise discriminante por Projeções Ortogonais à estrutura latente (OPLS-DA) e a Análise Discriminante Linear (LDA) que são os métodos comumente usados nos estudos metabonômicos para construção de modelos.

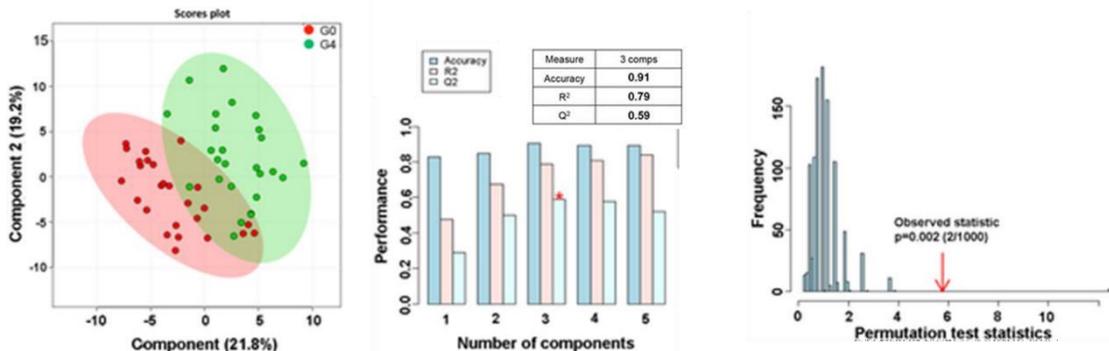
A PLS-DA (do inglês, *Partial Least Squares Discriminant Analysis*) é um método supervisionado bastante utilizado em quimiometria. Similarmente a PCA, estabelece um novo conjunto de combinações lineares a partir das variáveis originais, essas novas variáveis recebem o nome de variáveis latentes. A PLS-DA estabelece uma relação entre duas categorias de variáveis: as variáveis independentes, que representam as medidas experimentais, e a variável dependente, que consiste nas classes ou grupos que desejamos identificar ou discriminar

(BEVILACQUA; BRO, 2020; EMBADE et al., 2016). O modelo gerado pela PLS-DA tem como parâmetros os valores de R², que permite avaliar a qualidade do ajuste do modelo aos dados de treinamento, fornecendo informações sobre o quão bem as variáveis independentes explicam a variabilidade nas classes ou grupos que mede a adequação do modelo para o conjunto de dados de treino; e o Q², que é utilizado para avaliar a capacidade de previsão do modelo (PINTO, 2017), bem como a sua capacidade de fazer previsões precisas em novos conjuntos de dados.

Em geral, a validação dos modelos PLS-DA ocorre a partir de grupo de teste, representado por um conjunto de amostras separadas antes da construção do modelo, que posteriormente é usado para testar a capacidade preditiva dos modelos construídos. Quando o número de amostras disponível é reduzido, dificultando a separação de um grupo de teste, usa-se a validação cruzada e o teste de permutação. Na validação cruzada, adota-se a prática de retirar uma amostra e um modelo é construído com $(n-1)$ amostras restantes. A amostra excluída tem sua classe predita pelo modelo criado. Esse procedimento é repetido para todas as amostras do conjunto de dados (SZYMAŃSKA et al., 2012). Ao fim, verifica-se a taxa de classificação correta obtida, a qual fornece uma avaliação do desempenho do modelo em relação à capacidade de previsão.

No teste de permutação, vários modelos são criados com as classes das amostras sendo aleatoriamente trocadas, sendo avaliada as performances de cada modelo com classes permutadas construído *versus* o modelo com as classes corretas. A Figura 4 apresenta um exemplo de gráficos de escores da PLS-DA e da performance do teste de permutação.

Figura 4. Gráficos de escores da PLS-DA e performance do teste de permutação. **a)** Gráfico de pontuação PLS-DA bidimensional (Círculos vermelhos e Círculos verdes: correspondem a dois grupos distintos); **b)** Classificação PLS-DA usando diferentes números de componentes. O asterisco vermelho indica o melhor classificador, a tabela inserida resume Q², R² e precisão do melhor modelo; **c)** Estatísticas do teste de permutação para 1000 permutações com estatística observada $p < 0,01$.



Fonte: Embade et al. (2016)

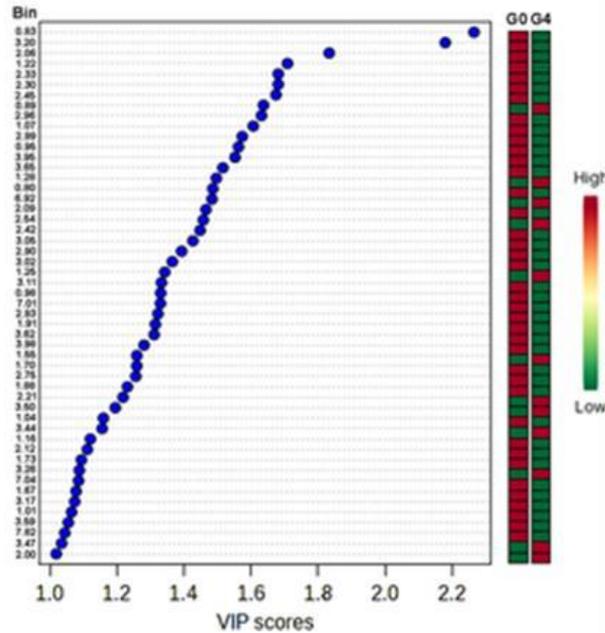
Quando a variância dentro da classe é grande a ponto de dificultar a visualização dos elementos de cada classe, pode-se utilizar um recurso matemático para concentrar a variância que não tem relação com o objeto de estudo em componentes ortogonais à componente de interesse, que representa as classes investigadas ou modeladas. Essa modelagem é chamada de OPLS-DA, que constitui uma técnica amplamente empregada na análise metabômica devido à sua capacidade de identificar e diferenciar padrões metabólicos entre grupos distintos (YUAN et al., 2021). O modelo OPLS-DA é particularmente útil quando se busca encontrar biomarcadores ou identificar características metabólicas que possam discriminar de forma eficaz diferentes condições ou grupos de amostras (GHOSH et al., 2019; MA et al., 2020). A validação do modelo OPLS-DA é uma etapa crítica para garantir a robustez e a confiabilidade dos resultados obtidos e é semelhante à descrita para a PLS-DA.

No modelo OPLS-DA a capacidade preditiva (Q^2) é uma medida que indica o quão bem o modelo pode fazer previsões acuradas em dados não utilizados durante o treinamento. Valores mais altos de Q^2 indicam uma maior capacidade preditiva e, conseqüentemente, maior confiabilidade do modelo. O coeficiente de determinação (R^2) é um indicador da proporção da variabilidade total da variável de resposta (classe) que é explicada pelo modelo. Valores mais altos de R^2 indicam que o modelo é capaz de explicar uma maior porcentagem da variabilidade observada na classe (PINTO, 2007).

O teste de permutação é utilizado para verificar o quanto a classificação das amostras nos grupos designados é melhor do que qualquer outra classificação aleatória. Neste teste, as classes são permutadas centenas ou milhares de vezes (PONTES, 2019). O modelo OPLS-DA é então treinado com os dados permutados, e o desempenho resultante é comparado com o desempenho do modelo original. Essa validação permite avaliar se as diferenças observadas entre os grupos são estatisticamente significativas.

A partir do OPLS-DA, é possível realizar uma análise estatisticamente robusta, destacando as principais variações metabólicas associadas aos grupos de interesse, o que contribui para a compreensão dos mecanismos subjacentes às condições estudadas. Ao empregar essa modelagem, também é possível encontrar a medida da importância das variáveis na construção dos modelos (GHOSH, et al., 2019). Esta medida pode ser realizada por meio da importância da variável na projeção (VIP, do inglês *Variable Importance in Projection*). Os VIP scores são calculados com base na projeção dos dados nos componentes de variância e covariância discriminantes da OPLS-DA (TRIBA et al., 2015). A Figura 5 apresenta um exemplo de gráfico de scores VIP.

Figura 5. VIP scores (*Variable Importance in Projection*) discriminando entre amostras de dois grupos para identificar as variáveis (ou metabólitos) que mais contribuem para separação entre dois grupos de amostras. Apenas os escores VIP maior que 1 foram incluídos.



Fonte: Embade et al. (2016)

Quanto mais elevado for o VIP score associado à variável metabólica, maior é sua contribuição para a discriminação dos grupos. Comumente, estabelece-se um ponto de corte para os VIP scores, e valores iguais ou superiores a 1 são considerados relevantes. Portanto, as variáveis com VIP scores maiores que 1 são consideradas relevantes para a discriminação nos modelos OPLS-DA (EMBADE et al., 2016). Assim, os VIP scores são usados para identificar as variáveis (deslocamento químico) mais importantes para a discriminação entre os grupos e identificar os metabólitos.

Destaca-se que uma compreensão sólida dos métodos estatísticos e das técnicas quimiométricas utilizadas é fundamental para extrair informações valiosas dos dados metabonômicos. Isso inclui conhecer os princípios por trás dos algoritmos empregados, os parâmetros utilizados, as suposições subjacentes e as limitações de cada abordagem. Ao compreender esses aspectos, é possível realizar uma boa análise, selecionando as ferramentas mais adequadas para os dados.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. TIPO DE ESTUDO E PARTICIPANTES

Trata-se de um estudo prospectivo com pacientes recrutados no ambulatório de Alergia e Imunologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE). Foram incluídos no estudo pacientes com rinite alérgica, confirmada por histórico médico e teste cutâneo de punção positivo, com idades entre 6 e 12 anos e ambos os sexos. Importante destacar que uma parcela significativa desses indivíduos também apresentava diagnóstico de asma, seja controlada ou não, durante o período de pesquisa.

Os critérios de exclusão foram: pacientes que estavam em tratamento regular para doenças crônicas, uma vez que a medicação usada no tratamento dessas doenças provoca mudança no perfil de metabólitos endógenos. Após anamnese, os pais ou responsáveis das crianças elegíveis para o estudo foram convidados a participar da pesquisa e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo A). Cabe ressaltar que a rotina clínica dos pacientes não foi alterada em função da pesquisa.

Inicialmente, os participantes foram separados em pacientes aderentes (boa adesão) e não aderentes (má adesão) ao tratamento farmacológico com corticóides nasais, levando em consideração o relato do paciente ou responsável durante as consultas de acompanhamento no ambulatório de Alergologia. A adesão foi considerada satisfatória quando os pacientes comunicaram seguir aproximadamente 80% (sem esquecer de usar a medicação e aplicando-a com a técnica correta) da prescrição medicamentosa, conforme indicado durante a consulta de acompanhamento. Os participantes são atendidos, em média, a cada três meses, por uma equipe de médicos e profissionais da área da saúde. Os medicamentos frequentemente receitados para o tratamento dos pacientes com rinite, como os corticoides furoato de mometasona e budesonida, estão inclusos na lista de disponibilidade do Sistema Único de Saúde (SUS) e são fornecidos diretamente no hospital, assegurando o acesso regular aos pacientes que necessitam.

Além do relato dos pacientes, informações sobre sintomas clínicos, exame físico incluindo rinoscopia (palidez da mucosa e hipertrofia dos cornetos), gravidade, duração da rinite alérgica, controle da rinite (controlada – paciente sem incômodo no dia da consulta; não controlada – paciente com sintomas e incômodo no dia da consulta), controle da asma (teste de controle de asma – ACT), características demográficas, incluindo sexo e idade dos participantes recrutados também foram coletados.

4.2. COLETA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS DE SORO

Amostras de sangue foram coletadas de pacientes com rinite alérgica (2,0 mL) e o soro foi separado por centrifugação, sendo armazenado a -40°C até o momento da análise de espectroscopia de RMN no Laboratório de Metabonômica e Quimiometria (LabMeQ), Departamento de Química Fundamental da UFPE. As amostras foram preparadas para análise, utilizando 400 μL de soro e 200 μL de água deuterada e em seguida, foram transferidas para tubos de análise de RMN com 5 mm de diâmetro.

4.3. ENSAIO METABONÔMICO E PROCESSAMENTO DOS DADOS

Os espectros de RMN de ^1H das amostras de soro foram obtidos usando um espectrômetro VNMR400 operando a 400 MHz. Os parâmetros utilizados na aquisição dos espectros foram os seguintes: o filtro T2 associado à sequência de pulsos de pré-saturação do sinal de água (Pressat-CPMG) com janela espectral de 4006,4 Hz, tempo de aquisição 2,556 segundos, 128 transientes, tempo de espera e de saturação do sinal da água iguais a 2,0 segundos, tempo entre os pulsos (*tau*) igual a 400 μs , 88 ciclos, dando um tempo de eco total (*bigtau*) igual a 70,4 ms a 25°C (BECKONERT, 2007). O sinal do grupo foi utilizado como referência de deslocamento químico (BATISTA, 2018).

Para o processamento dos espectros de RMN, foi utilizado o software MestReNova 12.0.0, a linha de base foi corrigida manualmente. Em seguida, a região de 0,5 a 4,5 ppm dos espectros foi selecionada e utilizou-se bins de 0,04 ppm. Foi construída uma matriz de dados, na qual cada linha corresponde a uma amostra, enquanto cada coluna corresponde a uma variável (deslocamento químico). Portanto, a matriz construída tem 25 linhas e 101 colunas, sendo 100 bins (deslocamento químico, variável contínua) e uma variável de classe. A matriz de dados foi pré-processada utilizando normalização na linha (espectros das amostras) e autoescalonamento na coluna (deslocamento químico), o que permite ajustar as intensidades dos metabólitos para uma comparação mais precisa.

O estudo metabonômico foi realizado utilizando a plataforma *online* e gratuita MetaboAnalyst 5.0. Todos os metabólitos identificados foram comparados com os bancos de dados KEGG (*Kyoto Encyclopaedia of Genes and Genomes*, www.genome.jp) e HMDB (*Human Metabolome Database*), que fornecem informações sobre as vias metabólicas e as propriedades químicas dos compostos.

4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise do metaboloma, foram empregados formalismos não-supervisionados e supervisionados. Na fase de análise exploratória, foram utilizados a técnica não supervisionada de Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise Hierárquica de Cluster (HCA), para observar a distribuição dos dados e identificar possíveis padrões ou agrupamentos. Para a análise classificatória, utilizou-se a Análise Discriminante Ortogonal de Mínimos Quadrados (OPLS-DA), que é um método supervisionado para identificar sinais espectrais que contribuem significativamente para diferenciação dos grupos (GAO et al., 2016).

Para detectar a robustez do modelo OPLS-DA, utilizou-se a Validação Cruzada (*Leaving- One Out Cross Validation-LOOCV*) e o teste de permutação com 2000 permutações (PONTES, 2000). Os metabólitos mais relevantes para a construção do modelo foram identificados por meio da importância variável na projeção (VIP).

Os dados da rinoscopia (palidez da mucosa e hipertrofia dos cornetos), gravidade da RA, controle da rinite e da asma, características demográficas, incluindo sexo e idade dos participantes recrutados também foram coletados e submetidos a análise estatística pelo teste Qui quadrado com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4.5. ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco, sob o Número do Parecer: 5.242.885 (Anexo B). Antes de iniciar a pesquisa, todos os responsáveis pelos participantes assinaram de forma voluntária o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. DADOS DOS PACIENTES

A amostra de estudo foi composta por 25 indivíduos que atenderam os critérios de elegibilidade. A idade média dos participantes foi de 8,8 anos, com 56% do sexo masculino. A maioria dos participantes recebeu o diagnóstico de rinite alérgica na forma moderada/grave (Tabela 1). Além disso, observou-se que parte expressiva dos participantes (76%) apresentava rinite alérgica e asma de forma concomitante (Tabela 4).

Tabela 1. Características demográficas e clínicas quanto às doenças alérgicas dos participantes do estudo.

Variável	n (%)
Idade (média ± DP)	8,8 (± 1,9) anos
Sexo	
Feminino	11 (44%)
Masculino	14 (56%)
Diagnóstico	
Apenas Rinite alérgica (RA)	6 (24%)
Rinite alérgica e asma	19 (76%)
Classificação da RA quanto à frequência	
Intermitente	0
Persistente	25 (100%)
Classificação da RA quanto à gravidade	
Leve	6 (24%)
Moderada/grave	19 (76%)
Categoria da RA quanto ao controle	
Controlada	19 (76%)
Não controlada	6 (24%)
Categoria da asma quanto ao controle (n=19)	
Controlada	12 (63%)
Não controlada	7 (37%)
Autorelato quanto ao tratamento	
Adesão	17 (68%)
Não adesão	8 (32%)

RA= Rinite Alérgica

Em relação ao controle da rinite alérgica, foi constatado que 76% dos participantes apresentavam rinite não controlada, ou seja, manifestavam pelo menos um sintoma no momento da consulta (Tabela 1). Entre os sintomas relatados, coriza, obstrução e prurido nasal foram frequentemente mencionados como os que mais interferiram nas atividades diárias. Nesse contexto, é importante destacar que doenças respiratórias como a rinite alérgica podem ter efeitos adversos na educação de crianças e adolescentes, o que pode ocasionar baixo

desempenho escolar e alto índice de absenteísmo (SANCHEZ et al., 2018). Além de afetar a qualidade de vida e a saúde psicológica (XIANG et al., 2020).

Outro aspecto relevante observado é que, ao analisar os casos em que a rinite alérgica estava associada à asma (n=19), constatou-se que 63% dos pacientes apresentavam asma controlada. Esse resultado aponta que mesmo em pacientes com controle adequado da asma, a rinite alérgica pode persistir de forma não controlada, possivelmente devido à exposição contínua aos alérgenos desencadeantes e às características individuais do paciente, como fatores genéticos, histórico familiar, alergia alimentar e doenças atópicas (LIU et al., 2023).

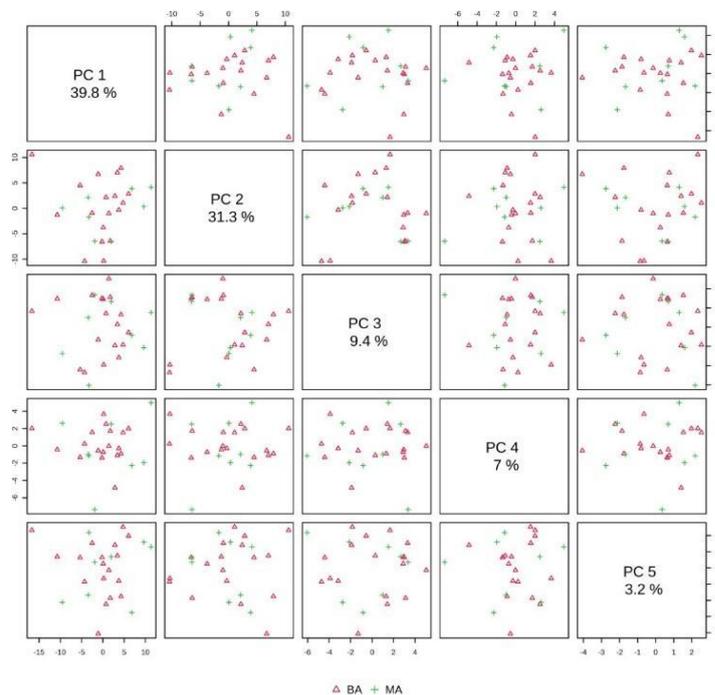
No presente estudo, constatou-se que 68% dos responsáveis pelos participantes relataram aderir corretamente e de forma regular às prescrições médicas de corticoides nasais. A adesão à terapia prescrita é fundamental para o sucesso do tratamento em pacientes pediátricos e adolescentes. Estudos anteriores têm demonstrado que a taxa de adesão nesses grupos é variável, com estimativas entre 30% e 70% (WANG et al., 2014; NAVARRO et al., 2011). A complexidade do tratamento, a compreensão das informações fornecidas, o suporte social e as características individuais dos pacientes são alguns dos fatores que podem afetar a adesão terapêutica em crianças e adolescentes (HOLMES; HEANEY, 2021). Além disso, a amplitude da variabilidade nos dados de adesão observados na literatura pode ser atribuída, em parte, à utilização de diferentes métodos para medir a adesão, incluindo questionários autorreferidos, monitoramento eletrônico e registros de prescrição médica (MODI et al., 2006). Cada método possui limitações específicas e pode levar a estimativas diferentes da adesão.

5.2. ABORDAGEM QUIMIOMÉTRICA

No contexto da avaliação da adesão, o autorrelato do paciente, como empregado no presente estudo, é uma medida comumente utilizada devido ao seu baixo custo e facilidade de aplicação no ambiente clínico (HOLMES; HEANEY, 2021). No entanto, estudos têm revelado que os pacientes tendem a superestimar sua adesão quando solicitados a relatá-la. Essa superestimação pode ocorrer devido a diferentes motivos, como constrangimento ou vergonha de admitir a não adesão ao tratamento, bem como dificuldades em lembrar com precisão os detalhes do uso da medicação ou de compreender o modo correto de utilização (HUGTENBURG et al., 2013). Desse modo, os relatos dos pacientes podem não refletir com precisão a realidade da adesão ao tratamento. Para avaliar a acurácia das informações autoreferidas sobre a adesão, este estudo empregou uma análise exploratória com dados metabonômicos obtidos por espectroscopia de RMN de ^1H gerados pela análise das amostras de soro dos participantes.

A análise de componentes principais (PCA) foi usada para verificar a presença de agrupamentos naturais relacionados à adesão autorrelatada dos participantes. A PC1 explicou 39,8% da variação total dos dados, enquanto a PC2 explicou 31,3% (Figura 6). Ao analisar o gráfico 2D da PCA, no qual cada ponto representa uma amostra e a distância entre eles reflete as diferenças metabólicas, não foi observada nenhuma tendência de agrupamento não supervisionada das amostras com base na adesão autorreferida pelos participantes (Figura 6).

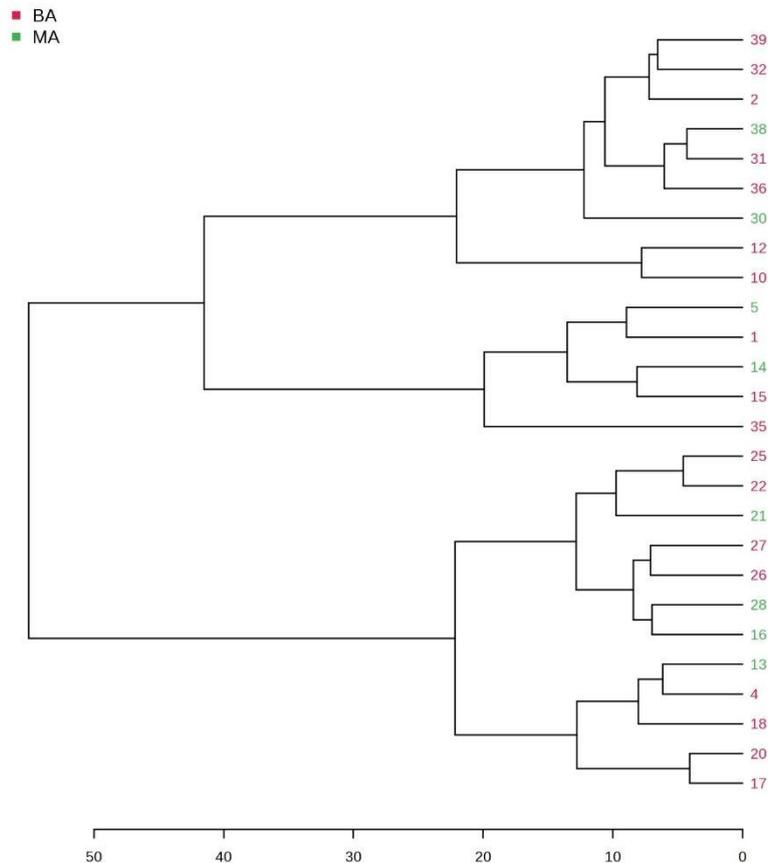
Figura 6 - Análise de componentes principais (PCA) usando dados espectrais de RMN de ^1H do soro de crianças e adolescentes com rinite alérgica (RA). Os triângulos em vermelho representam as amostras de pacientes aderentes ao tratamento da rinite alérgica e em verde as amostras de pacientes não aderentes.



Fonte: Metaboanalyst 5.0

Diante da ausência de agrupamento das amostras com base na adesão ao tratamento, optou-se por utilizar a Análise Hierárquica de Cluster (HCA) para investigar a estrutura das amostras e buscar uma nova forma de classificação. A HCA indicou o arranjo natural de dois grupos distintos com 14 e 11 amostras em cada grupo, como apresentado na Figura 7, utilizando a distância de corte de 45.

Figura 7 - Análise Hierárquica de Cluster (HCA) usando dados espectrais de RMN. BA = Boa adesão (pacientes aderentes); MA = Má adesão (pacientes não aderentes)



Fonte: Metaboanalyst 5.0

Para melhor interpretação da HCA, realizou-se uma avaliação aprofundada dos prontuários médicos. Ao analisar o histórico médico dos pacientes, considerando a avaliação da hipertrofia do corneto e da palidez da mucosa por meio da rinoscopia realizada na consulta anterior à coleta das amostras de soro dos pacientes (geralmente realizada entre três e quatro meses antes) e durante o próprio procedimento de coleta, identificou-se que esta indicava tendência de resposta ao tratamento.

Assim, os dois grupos identificados pela HCA foram denominados: Grupo RC, composto por 14 amostras de soro de pacientes que demonstraram resposta clínica ao tratamento farmacológico (involução ou progressão) baseada no acompanhamento da hipertrofia do corneto e palidez da mucosa; e Grupo RI: composto por 11 amostras de pacientes que foram indiferentes (não respondentes) ao tratamento, sem melhora ou piora clínica da hipertrofia do corneto e da palidez.

O uso do acompanhamento dos achados na rinoscopia (hipertrofia do corneto e palidez) como uma variável de resposta ao tratamento clínico foi definido após observação minuciosa

dos prontuários e análise estatística dos dados ($p=0,048$) (Tabela 2). Cabe destacar que a maioria dos estudos anteriores se concentrou apenas em descrever as características e avaliar a eficácia do tratamento em relação aos participantes que apresentaram resposta ao tratamento, enquanto negligenciaram a análise dos que não responderam. O presente estudo busca preencher essa lacuna, abordando também a avaliação dos não respondedores.

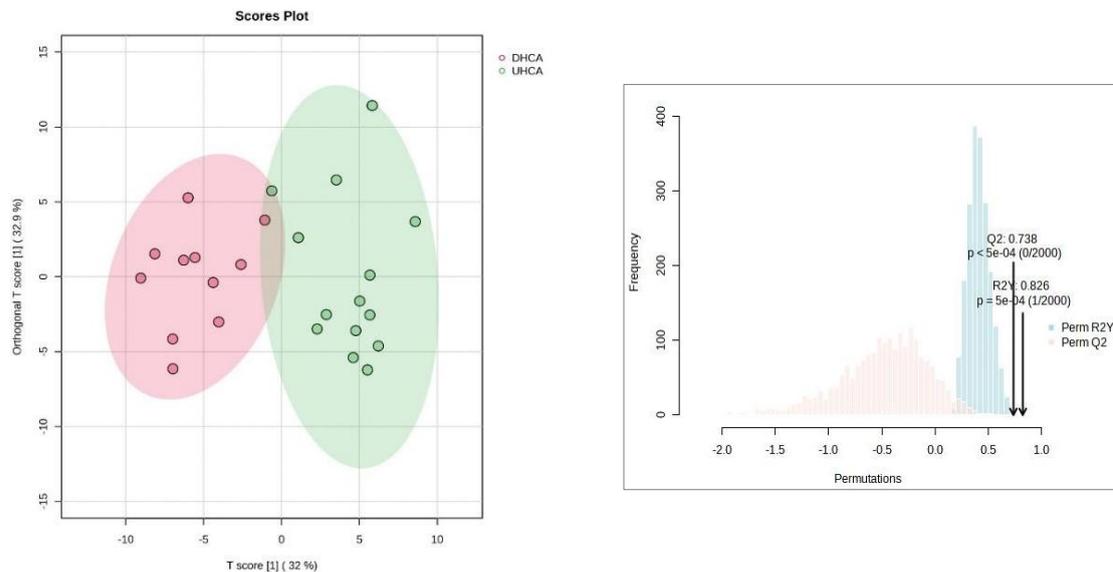
Tabela 2. Características sociodemográficas e clínicas dos participantes do estudo de acordo com os grupos de resposta clínica ao tratamento (RC) e resposta indiferente (RI).

	Grupo RC	Grupo RI	<i>p</i> -valor
Número de voluntários	14	11	–
Idade (média ± DP)	9 ± 2 anos	8 ± 2 anos	0,967
Sexo (M/F)	6/8	8/3	0,135
<i>Exames físico</i>			
Rinite Moderada/Grave	10	10	0,226
Resposta P/M da rinoscopia	8	2	0,048
Boa adesão (autorrelato)	10	7	0,678

DP – Desvio-padrão. Resposta P/M da rinoscopia = resposta de piora ou melhora da rinoscopia

Visando investigar as alterações nos metabólitos em pacientes com rinite alérgica em relação ao tipo de resposta ao tratamento, utilizou-se o modelo supervisionado OPLS-DA, que permitiu a diferenciação mais precisa entre as amostras analisadas. A Figura 8 apresenta o gráfico de escores da OPLS-DA, usando a classificação definida na Análise Hierárquica de Clusters como matriz resposta.

Figura 8. À esquerda, gráfico de escores, e à direita, resultado do teste de permutação da OPLS-DA, usando como output a classificação feita a partir da HCA. Os círculos em vermelho representam pacientes do grupo RC (resposta clínica) e em verde os do grupo RI (indiferença ao tratamento).



Fonte:Metaboanalyst 5.0

O OPLS-DA é uma ferramenta robusta na análise de dados metabonômicos, possibilitando a identificação de padrões metabólicos relevantes e a discriminação entre grupos de interesse (YUAN et al., 2021). O modelo que apresentou a melhor performance foi identificado pela validação cruzada *Leave-One-Out* (LOOCV). Assim, um teste de 2000 permutações foi aplicado e apresentou valor de Q2 igual a 0,738 (Figura 8). Os valores de p observados no teste de permutação indicam que o modelo tem significância estatística.

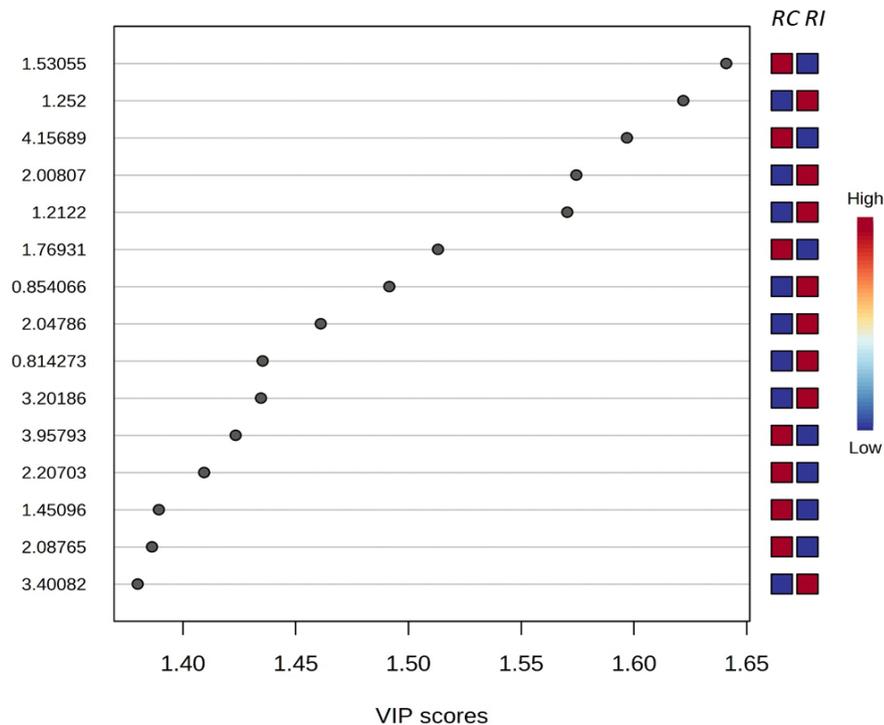
O valor de Q2 é uma medida de validação cruzada que avalia a capacidade do modelo em prever os resultados corretamente (GAO et al., 2016; TRIBA et al., 2015). Considerando a análise realizada utilizando o modelo OPLS-DA, é possível assumir que as informações discriminatórias entre os grupos de interesse estão presentes nos dados avaliados. No entanto, devido à variação tanto dentro como entre os grupos, a distinção das características das amostras que diferenciam os grupos apresentou uma capacidade preditiva de 73%. Para melhorar os resultados dessa classificação, é importante considerar o aumento do tamanho da amostra e a robustez do modelo. A ampliação do número de amostra permitirá a representação mais abrangente e representativa das características dos grupos, enquanto aprimorar a robustez do modelo pode contribuir para uma discriminação mais precisa e confiável (YUAN et al., 2021).

Ma et al. (2020) realizaram um estudo metabonômico para caracterizar as diferenças em amostras de soro de pacientes com rinite alérgica e voluntários saudáveis, utilizando o método supervisionado OPLS-DA. Os valores de Q2 usado para avaliar a qualidade dos modelos discriminantes foi de 0,957 para o grupos com rinite alérgica e controle. Os índices de predição relatados sugerem acurácia de classificação extremamente boa ($\geq 95\%$), principalmente ao diferenciar casos de rinite alérgica do controle. No estudo realizado por CHANG-CHIEN et al. (2020), que investigaram o perfil metabonômico de crianças com e sem asma usando modelo OPLS-DA foi observado um valor de Q2 de 0,813. Os valores de Q2 nos dois estudos citados foram superiores ao encontrado no modelo OPLS-DA utilizado neste estudo. Isto deve-se a diferença do quadro clínico dos voluntários. Nos casos citados, os estudos foram conduzidos com controles saudáveis, o que facilita a modelagem. Por outro lado, no presente estudo todos os participantes compartilham uma condição clínica semelhante (rinite alérgica e rinite alérgica com asma concomitante), tornando a diferença mais sutil, dificultando a modelagem. Cabe destacar que cada estudo tem suas particularidades e que os resultados podem variar de acordo com as condições experimentais.

5.3 IDENTIFICAÇÃO DOS METABÓLITOS

As frequências espectrais obtidas das amostras de soro de pacientes com rinite alérgica e rinite alérgica com asma concomitante foram comparadas com frequências conhecidas (GOWDA et al., 2014; HTUN et al., 2021) para identificar as variáveis (deslocamento químico) relevantes para a separação dos grupos. A contribuição relativa de cada variável foi mensurada com base no gráfico de VIP scores (Figura 9). Variáveis com VIP scores superiores a 1 foram selecionadas como potenciais biomarcadores (MA et al., 2020), correspondendo a quinze deslocamentos (Figura 9). Na escala de cores ao lado do gráfico (azul e vermelha), é possível observar em que grupo aquela região espectral é mais intensa (vermelho) (Figura 9). Assim, os sinais de RMN com deslocamento (δ) 3,20 ppm; 0,81ppm; 0,85 ppm; 1,21ppm; 1,25 ppm e 3,40 ppm têm sinais mais intensos no grupo com resposta indiferente ao tratamento (RI). Por outro lado, os deslocamentos (δ) 1,53 ppm; 4,15 ppm; 1,77 ppm; 3,95 ppm; 2,20 ppm; 1,45 ppm; 2,08 ppm são mais intensos no grupo com participantes que apresentaram resposta clínica ao tratamento (RC) (Figura 9).

Figura 9. VIP scores dos metabólitos para a discriminação entre os grupos de resposta clínica (RC) e resposta indiferente (RI) ao tratamento da rinite alérgica.



Fonte: Metaboanalyst 5.0

Na tabela 6, são apresentados os 10 metabólitos identificados. De modo geral, as mudanças nos perfis metabólicos do soro estão relacionadas à ativação ou perturbação de

diversas vias biológicas, sobretudo no metabolismo energético, corpos cetônicos e lipídios.

No grupo de participantes com resposta clínica ao tratamento (RC) (piora ou melhora), o aminoácido L-arginina (1,53 ppm), apresentou o maior score entre os metabólitos identificados (Figura 9, Tabela 3). Além de sua função na síntese de proteínas, a L-arginina também possui papel significativo como substrato para a atividade de enzimas específicas, tais como as arginases. A atividade dessas enzimas, conhecidas como arginases, costuma ser induzida em situações inflamatórias, constituindo um fator fundamental na regulação do metabolismo da L-arginina (JUNG et al., 2013).

Tabela 3. Atribuição dos metabólitos (δ /ppm) no soro de crianças e adolescentes com rinite alérgica e asma

<i>Metabólitos mais intensos no Grupo I – Resposta Clínica (RC)</i>	
L-arginina	1,53 ppm
Lactato	4,15 ppm
Não identificado	1,77 ppm
Serina	3,95 ppm
Acetoacetato	2,20 ppm
Alanina	1,45 ppm
Glutamato	2,08 ppm
<i>Metabólitos mais intensos no Grupo II – Resposta Indiferente (RI)</i>	
VLDL/LDL	0,81-0,85; 1,21-1,25 ppm
N-acetil D-Glucosamina	2,01-2,05 ppm
Colina	3,20 ppm
Glicose	3,40 ppm

Além da L-arginina, aminoácidos glicogênicos como a alanina, serina e glutamato (ácido glutâmico) também foram encontrados com sinais mais elevados no Grupo RC. Os aminoácidos glicogênicos podem contribuir para a produção de glicose durante a gliconeogênese, entretanto, a síntese de glicose a partir de aminoácidos é uma estratégia usada quando os estoques de glicogênio estão esgotados (MOTTA et al., 2014). Durante a inflamação, as demandas metabólicas aumentadas podem levar à mobilização de aminoácidos armazenados. Essa mobilização ocorre para fornecer os substratos necessários à síntese de proteínas envolvidas na resposta imunológica.

Em consonância com esses achados, Zhou et al. (2019) investigando o perfil metabólico na polinose, uma condição alérgica caracterizada pela rinite alérgica em resposta ao pólen, identificaram uma variedade de aminoácidos sendo mobilizados durante os estágios de crise da doença. Segundo os autores, durante as reações de estresse imunológico, ocorre uma redistribuição dos aminoácidos, que são utilizados principalmente na síntese de proteínas

envolvidas na inflamação e na resposta imune.

O lactato, como um produto metabólico gerado durante a via glicolítica, está envolvido no metabolismo energético e tem sido objeto de estudo em relação a doenças alérgicas, como a asma e a rinite (GAO et al., 2016; VILLASEÑOR et al., 2017). Assim, durante condições de alta demanda energética e/ou baixa disponibilidade de oxigênio, as células podem ativar a glicólise anaeróbica como forma de produzir energia rapidamente.

No contexto da rinite alérgica, principalmente na forma persistente da doença, as células da mucosa nasal estão em estado de atividade metabólica elevada, o que leva as células a aumentarem a captação de glicose e a metabolizá-la por meio da via glicolítica (KELLY et al., 2017). Além disso, a presença de lactato na mucosa nasal inflamada pode influenciar a comunicação e a ativação células envolvidas na resposta inflamatória como histamina e citocinas (XIE et al., 2021). Essa sinalização mediada pelo lactato pode amplificar a resposta inflamatória na rinite alérgica, contribuindo para a persistência da inflamação e não melhora dos sintomas, o que possivelmente ocorre nos participantes que apresentaram piora do quadro clínico durante o tratamento.

Além disso, os soros dos pacientes do grupo RC apresentam sinais mais elevados de acetoacetato, que é a principal substância dos corpos cetônicos. Esses corpos cetônicos são produzidos na matriz mitocondrial das células hepáticas em resposta à escassez de carboidratos, com o objetivo de fornecer energia ao organismo (HUANG et al., 2022). Portanto, esse achado sugere que o acetoacetato está atuando no fornecimento geral de energia, indicando possíveis problemas na utilização eficiente de glicose por parte do organismo.

A partir dos metabólitos identificados, observou-se que os participantes com resposta indiferente ao tratamento (RI) apresentaram alterações metabólicas mais pronunciadas para VLDL/LDL, N-acetil D-Glucosamina, colina e glicose. Esses metabólitos demonstraram pontuações VIP mais elevadas, indicando sua relevância na diferenciação entre os grupos de resposta ao tratamento (Figura 9; Tabela 6). Os sinais mais intensos das lipoproteínas VLDL/LDL no grupo RI, sugere a mobilização de lipídios como uma estratégia para suprir a demanda energética. Durante períodos em que o organismo requer maior quantidade de energia, os lipídeos desempenham papel importante, fornecendo uma fonte de energia mais abundante em comparação aos carboidratos (FARRAIA et al., 2019). A mobilização lipídica, também pode estar associada ao estresse oxidativo. Durante a oxidação dos ácidos graxos, ocorre a produção de espécies reativas de oxigênio que podem danificar células e tecidos, levando ao estresse oxidativo (KELLY et al., 2017; MICHALIK et al., 2020).

No contexto das doenças respiratórias, as moléculas oxidantes podem comprometer as

funções ciliares do epitélio respiratório, aumentar a produção de muco, promover a contração do músculo liso e atuar como moléculas de quimiotaxia para células inflamatórias. Cabe destacar que distúrbios no metabolismo lipídico podem levar ao acúmulo de lipídios nas células, incluindo células imunes, que podem influenciar processos inflamatórios (SAGDIC et al., 2010).

A colina é um nutriente essencial à estrutura e metabolismo celular, estando envolvida na modulação da resposta inflamatória e desempenha papel essencial na biossíntese da fosfatidilcolina, que é um fosfolípido que compõe as bicamadas lipídicas das membranas celulares (COMHAIR et al., 2015). Durante o processo inflamatório, a fosfatidilcolina pode ser convertida em ácido araquidônico, precursor de mediadores inflamatórios, como as prostaglandinas, leucotrienos e esfingomielina (ROLIM et al., 2015). Estes mediadores estão envolvidos na broncoconstrição, inflamação das vias aéreas, e produção de muco associada à asma e à rinite (HANG et al., 2021; VILLASEÑOR et al., 2017). O desequilíbrio ou a produção excessiva de mediadores inflamatórios, a partir do ácido araquidônico, pode contribuir para processos inflamatórios crônicos. Ainda sobre a colina destaca-se a sua participação na promoção do transporte e da utilização dos lipídios. Assim, a desregulação dos níveis de colina observada em vários estudos pode estar relacionada à alterações nos metabólitos lipídicos (BORGES HAUBERT et al., 2015).

Os glicanos, como o N-acetil D-Glucosamina, são açúcares biologicamente importantes que, em particular, estão envolvidos na resposta inflamatória e na função do sistema imunológico. Os N-glicanos podem atuar na ativação e a função de células imunes como mastócitos e eosinófilos, que são centrais nas respostas alérgicas e inflamatórias das vias aéreas (RADOVANI; GUDELJ, 2022). Também podem interferir no processo de sinalização, dependendo do tipo de N-glicano e do receptor envolvido, essa sinalização pode ter diversos efeitos (GUDELJ; LAUC; PEZER, 2018). Pesquisadores estão explorando como a modificação dos padrões de N-glicanos nas células imunes pode ser usada para modular a resposta inflamatória na asma, potencialmente desenvolvendo tratamentos mais direcionados e eficazes para a doença.

Ressalta-se que a relação específica entre os metabólitos identificados e a rinite alérgica requer investigações adicionais. No entanto, os resultados obtidos sugerem que os metabólitos séricos identificados têm o potencial de distinguir os pacientes com base nas respostas inflamatórias agudas com maior ou menor intensidade. O Grupo RI, no qual a maioria dos participantes não responderam ao tratamento, apresentou um perfil metabólico com presença marcante de lipoproteínas e colina que em condições de inflamação podem se tornar partículas

pró-inflamatórias.

Por outro lado, os pacientes do grupo RC também apresentaram características inflamatórias, mas com a presença de metabólitos que sugerem uma condição inflamatória com características comumente relatadas em pacientes com rinite alérgica. Isso pode sugerir, dependendo de confirmação com um espaço amostral maior, que a modelagem aqui apresentada consegue identificar os pacientes com diferentes características inflamatórias. Assim, os pacientes não respondentes ao tratamento preconizado, possivelmente necessitam de tratamento individualizado.

Uma vantagem significativa do presente estudo é que se trata de um estudo pioneiro na análise das alterações metabólicas em crianças e adolescentes com rinite alérgica usando RMN de ^1H , que é uma técnica não-invasiva, que praticamente não precisa elaborar a amostra e com tempo de análise reduzido em relação a outras técnicas analíticas. No entanto, várias limitações foram evidenciadas, como o número de pacientes estudados; a metodologia autorrelatada para medir adesão; o fato de o estudo não contar com uma população controle, constituída por indivíduos saudáveis. A falta de validação externa em uma nova coorte pode limitar a aplicabilidade dos resultados encontrados no estudo, pois não há garantias que os mesmos padrões ou conclusões seriam observados em diferentes grupos de indivíduos. Portanto, esse é um estudo que indica que a informação está contida no conjunto de dados. Assim, são necessários estudos adicionais com maior número de participantes, validação externa, bem como diferentes instrumentos para mensuração da adesão que apresenta diversas peculiaridades devido à complexidade do tratamento e ao caráter crônico da doença.

6. CONCLUSÕES

O objetivo inicial de monitorar, por meio da metabonômica baseada em RMN, a adesão dos pacientes à terapia para a rinite alérgica ficou prejudicada em função da incerteza quanto a definição de boa e má adesão, a partir de autorrelato ou indicações clínicas. Todavia, as amostras apresentaram agrupamento natural na análise exploratória e esse agrupamento tem relação com a resposta a terapia para tratar rinite alérgica. Foram identificados dois grupos, reunindo pacientes que se mostraram indiferente ao tratamento; e aqueles que apresentaram alguma resposta ao tratamento. A espectroscopia RMN de ^1H de amostras de soro de pacientes com rinite alérgica, combinada com técnicas de análise multivariada, sugere respostas inflamatórias agudas que variam em intensidade entre os grupos. No grupo indiferente, observam-se evidências do envolvimento do metabolismo lipídico e da colina, enquanto no grupo de resposta, os processos relacionados a aminoácidos demonstram maior relevância. Isso sugere que o modelo metabonômico, inicialmente projetado para atestar a adesão à terapia para controle da rinite alérgica, está discriminando os pacientes com diferentes respostas inflamatórias.

Além disso, a ausência de diferença metabonômica entre os pacientes com boa e má adesão ao tratamento, com base na adesão autorreferida pelos participantes, destaca a necessidade de utilizar abordagens combinadas, que englobam tanto métodos subjetivos quanto objetivos, para avaliar de forma abrangente a adesão dos pacientes ao tratamento da rinite alérgica. Portanto, os achados do presente estudo contribuem para o avanço, a partir da estratégia metabonômica, na caracterização do paciente e na definição da terapia para controlar a rinite alérgica, em cada caso.

REFERÊNCIAS

- AGNIHOTRI, N. T; MCGRATH, K. G. Allergic and nonallergic rhinitis. **Allergy, asthma & immunology research**, v. 3, n. 3, p. 148 – 156, jul. 2020. Disponível em: doi:10.2500/aap.2019.40.4251.
- AGÜERO, C. A. Rinitis alérgica en pediatría: recomendaciones para su diagnóstico y tratamiento. **Archivos Argentinos de Pediatría**, v. 121, n. 2, p. e202202894, abr. 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5546/aap.2022-02894>.
- AÏT-KHALED, N. et al. Global map of the prevalence of symptoms of rhinoconjunctivitis in children: The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase Three. **Allergy**, v. 64, n. 1, p. 123-148, jan. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2008.01884>.
- ALKOTOB, S. S. et al. Advances and novel developments in environmental influences on the development of atopic diseases. **Allergy**, v. 75, n. 12, p. 3077-3086, dez. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/all.14624>.
- ARAÚJO, R. et al. Infection Biomarkers Based on Metabolomics. **Metabolites**, v. 12, n. 2, p. 92, jan. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/metabo12020092>.
- BEVILACQUA, M.; BRO, R. Can We Trust Score Plots? **Metabolites**, v. 10, n. 7, p. 278, jul. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/metabo10070278>.
- BINGHAM, Y. et al. Electronic adherence monitoring identifies severe preschool wheezers who are steroid responsive. **Pediatric Pulmonology**, v. 55, n. 9, p. 2254-2260, jul. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ppul.24943>.
- BJÖRKSTÉN, B. et al.; ISAAC Phase III Study Group. Worldwide time trends for symptoms of rhinitis and conjunctivitis: Phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood. **Pediatric allergy and immunology**, v. 19, n. 2, p. 110-124, mar. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3038.2007.00601.x>.
- BORGES, H. N. J. et al. Choline and fructooligosaccharide: Non-alcoholic fatty liver disease, cardiac fat deposition, and oxidative stress markers. **Nutrition and Metabolic Insights**, v. 8, p. 1-6, 2015. Disponível em <https://doi.org/10.4137/nmi.S24385>.
- BOUSQUET, J. et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2) LEN and AllerGen). **Allergy**, v.63, Suppl 86, p.8-160, abr. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2007.01620.x>.
- BROWN, H. J. et al. Histopathologic differences between adult and pediatric patients with chronic rhinosinusitis. **International Forum of Allergy & Rhinology**, v. 13, n. 1, p. 25-30, jan. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/alr.23037>.
- BROŽEK, J. L. et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines-2016 revision. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 140, n. 4, p. 950-958, oct. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.03.050>.

CHEN, C. L. et al. Perturbated glucose metabolism augments epithelial cell proinflammatory function in chronic rhinosinusitis. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 151, n. 4, p. 991-1004.e20, abr. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2022.09.036>.

CANUTO, G. A. B. et al. Metabolomics: Definitions, state-of-the-art and representative applications. **Química Nova**, v. 41, n. 1, p. 75–91, jan. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170134>.

COMHAIR, S. A. et al. Metabolomic Endotype of Asthma. *Journal of Immunology*, v. 195, n.2, p.643-650, jul. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1500736>.
CRUICKSHANK-QUINN, C. I. et al. Metabolomics and transcriptomics pathway approach reveals outcome-specific perturbations in COPD. **Scientific Reports**, v. 8, p. 17132, jun. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35372-w>.

D'AMATO, G. et al. Latest news on relationship between thunderstorms and respiratory allergy, severe asthma, and deaths for asthma. **Allergy**, v. 74, n. 1, p. 9-11, jan. 2019.

D'AMATO, G. et al. The effects of climate change on respiratory allergy and asthma induced by pollen and mold allergens. **Allergy**, v. 75, n. 9, p. 2219-2228, jun. 2020.

CZECH, E. J. et al. Allergic Rhinitis. **Primary Care**, v. 50, n. 2, p. 159-178, jun. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pop.2023.01.003>.

DEL CUVILLO, A. et al. Allergic rhinitis severity can be assessed using a visual analogue scale in mild, moderate and severe. **Rhinology**, v. 55, n. 1, p. 34-38, oct. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.4193/Rhin16.025>.

EMBADE, N. et al. Metabolic Characterization of Advanced Liver Fibrosis in HCV Patients as Studied by Serum ¹H-NMR Spectroscopy. **PLoS One**, v. 11, n. 5, e0155094, may. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155094>.

EREN, E. et al. Diagnosis of allergic rhinitis: inter-rater reliability and predictive value of nasal endoscopic examination: a prospective observational study [published correction appears in *Clinical Otolaryngology*]. **Clinical Otolaryngology**, v. 38, n. 6, p. 481-486, aug. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/coa.12171>.

FAIRWEATHER, V.; HERTIG, E.; TRIDL-HOFFMANN, C. A brief introduction to climate change and health. **Allergy**, v. 75, n. 9, p. 2352-2354, set. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/all.14511>.

FANOS, V.; ANTONUCCI, R.; ATZORI, L. Metabolomics in the developing infant. **Current opinion in pediatrics**, v. 25, n. 5, p. 604-611, out. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/alr.23037>.

FAZLOLLAHI, F. et al. Lipidomic profiling of sinus mucosa from patients with chronic rhinosinusitis. **Clinical and Translational Science**, v. 8, n. 2, p. 107-115, apr. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/cts.12256>.

FERREIRA, M. M. C. Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações. Editora da Unicamp, 2015. GAO, H. et al. The metabonomic study of Shaoyao-Gancao decoction in a rat model of

acute bronchial asthma by ^1H NMR. **Analytical Methods**, v. 8, p. 570-585, nov. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c5ay01701g>.

GILANY, K. et al. Metabolomics analysis of the saliva in patients with chronic hepatitis b using nuclear magnetic resonance: A pilot study. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v.22, n.9, p.1044-1049, sep. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.22038/ijbms.2019.36669.8733>.

GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZ, R. et al. Recommendations and best practices for standardizing the pre- analytical processing of blood and urine samples in metabolomics. **Metabolites**, v.10, n.6, p.229, 2020 Jun. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/metabo10060229>.

GHOSH, N. et al. Metabolomic signatures of asthma-COPD overlap (ACO) are different from asthma and COPD. **Metabolomics: Official journal of the Metabolomic Society**, v. 15, n. 6, p. 1-11, jun. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11306-019-1552-z>.

GRAY, W. N. et al. “Medication adherence in pediatric asthma: A systematic review of the literature. **Pediatric Pulmonology**, v. 53, n. 5 (2018): p.668-684, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ppul.23966>

GUDELJ, I.; LAUC. G.; PEZER, M. Immunoglobulin G Glycosylation in Aging and Diseases. **Cellular Immunology**, v. 333, p. 65–79, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2018.07.009>.

HELLINGS, P.W. et al. Non-allergic rhinitis: Position paper of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. **Allergy**, v. 72, n.11, p. 1657-1665, nov. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/all.13200>.

HOLMES, J.; HEANEY, L. G. Measuring adherence to therapy in airways disease. **Breathe**, v. 17, p.210037, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1183/20734735.0037-2021>

HOYTE, F. C. L.; NELSON, H. S. Recent advances in allergic rhinitis. **F1000Res**, v. 7, p.F1000 Faculty Rev-1333, 2018. Disponível em: <https://f1000research.com/articles/7-1333/v1>.

HUANG, K. et al. Systematic Review of NMR-Based Metabolomics Practices in Human Disease Research. **Metabolites**, v. 12, n. 10, p.2-15, oct. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/metabo12100963>.

HUGTENBURG, J. G. et al. Timmers L, Elders PJ, Vervloet M, van Dijk L. Definitions, variants, and causes of nonadherence with medication: a challenge for tailored interventions. **Patient Preference and Adherence**, v. 7, p. 675-682, jul. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/PPA.S29549>.

Jl, Z.; JIAN, G. F. Efficacy and safety of sublingual immunotherapy for allergic rhinitis: A network meta-analysis. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1144816, mar. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1144816>.

JOESTEN, W.C.; KENNEDY, M. A. RANCM: a new ranking scheme for assigning confidence levels to metabolite assignments in NMR-based metabolomics studies.

Metabolomics, v. 15, n.1, p.5, jan. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11306-018-1465-2>.

JOHNSON, C. H.; IVANISEVIC, J.; SIUZDAK, G. Metabolomics: Beyond biomarkers and towards mechanisms. **Nature Reviews. Molecular Cell Biology**, v. 17, n. 7, p. 451-459, jul. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.25>.

JUNG, J. et al. Serum metabolomics reveals pathways and biomarkers associated with asthma pathogenesis. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 43, n. 4, p. 425–433, apr. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/cea.12089>

KAN, M.; SHUMYATCHER, M.; HIMES, B.E. Using omics approaches to understand pulmonary diseases. **Respiratory Research**, v. 18, p. 149, aug. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12931-017-0631-9>.

KELLY, R. S. et al. Asthma Metabolomics and the Potential for Integrative Omics in Research and the Clinic. **Chest**, v. 151, n. 2, p. 262–277, jun. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chest.2016.10.008>.

KULIG M. et al. Development of seasonal allergic rhinitis during the first 7 years of life. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 106, n. 5, p. 832-839, aug. 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1067/mai.2000.110098>.

LASMAR, L. M. et al. Prevalence of allergic rhinitis and its impact on the use of emergency care services in a group of children and adolescents with moderate to severe persistent asthma. **Jornal de Pediatria**, v. 83, n. 6, p. 555-561, nov-dec. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.2223/JPED.1727>.

LINDON, J. C.; NICHOLSON, J. K. Analytical technologies for metabonomics and metabolomics, and multi-omic information recovery. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 3, p. 194–204, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.08.009>.

LIU, G. et al. Oral antihistamines alone vs in combination with leukotriene receptor antagonists for allergic rhinitis: a meta-analysis. **Otolaryngology-head and neck surgery**, v.158, p.450–458. mar. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0194599817752624>.

LIU, Y. L. et al. Allergen detection and logistic multifactor analysis of allergic rhinitis. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 27, n. 7, p. 2751-2758. apr. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.26355/eurev_202304_31903.

LYRA, W. S. et al. Classificação periódica: um exemplo didático para ensinar análise de componentes principais. **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1594-1597, jul. 2010.

MANZI, M. et al. Improving diagnosis of genitourinary cancers: Biomarker discovery strategies through mass spectrometry-based metabolomics. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 178, p.112905, feb. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.112905>.

MARIÑO-SÁNCHEZ, F. et al. Multimorbidities of Pediatric Allergic Rhinitis. **Current Allergy and Asthma Reports**, vol. 19, n. 2, p.13, feb. 2019. Disponível em:

<https://doi.org/10.1007/s11882-019-0843-9>.

MELTZER, E. O. Allergic Rhinitis: Burden of Illness, Quality of Life, Comorbidities, and Control. **Immunology and Allergy Clinics of North America**, v.36, n. 2, p. 235-248, mar. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.iac.2015.12.002>.

MICHALIK, M. et al. An Overview of the Application of Systems Biology in an Understanding of Chronic Rhinosinusitis (CRS) Development. **Journal of Personalized Medicine**, v. 10, n. 4, p. 245, nov. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jpm10040245>.

MISRA, B. et al. Integrated Omics: Tools, Advances, and Future Approaches. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 62, n. 1, p.21-45, jul. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1530/JME-18-0055>.

MONTUSCHI, P. et al. NMR spectroscopy metabolomic profiling of exhaled breath condensate in patients with stable and unstable cystic fibrosis. **Thorax**, v. 67, n. 3, p. 222-228, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2011-200072>.

MUSSAP, M. et al. Slotting metabolomics into routine precision medicine. **Expert Review of Precision Medicine and Drug Development**, v. 6, n. 3, p. 173-187, apr. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/23808993.2021.1911639>.

NAVARRO, A. et al. Clinical use of oral antihistamines and intranasal corticosteroids in patients with allergic rhinitis. **Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology**, v. 21, n. 5, p. 363-369, 2011.

NIETO, A. et al. Pediatric allergy and immunology in Spain. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 22, n. 7, p. 742-750, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3038.2011.01211.x>.

NOTO, A. Metabolomics in Otorhinolaryngology. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 9, p. 934311, sep. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.934311>.

OSTERBERG, L.; BLASCHKE, T. Adherence to medication. **The New England Journal of Medicine**, v. 353, n. 5, p. 487-497, aug. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMra050100>.

PAGLIA, G. et al Influence of collection tubes during quantitative targeted metabolomics studies in human blood samples. **Clinica Chimica Acta**, v. 486, p. 320-328, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.08.014>.

PAPI, A. et al. Relationship of Inhaled Corticosteroid Adherence to Asthma Exacerbations in Patients with Moderate-to-Severe Asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice**, v. 6, n. 6, p. 1989-1998.e3, Nov.-Dec. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2018.03.008>.

PASSALI, D. et al. The International Study of the Allergic Rhinitis Survey: outcomes from 4 geographical regions. **Asia Pacific Allergy**, v. 8, n. 1, p. e7, jan. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.5415/apallergy.2018.8.e7>.

PAYANDEH, P. et al. Allergens Prevalence among Patients with Respiratory Allergies in Mashhad, Iran. **Tanaffos**, v. 18, n. 2, p. 133-141, feb. 2019. PMID: 32440301.

PEREZ A. V. et al. Characterization of severe asthma in the pediatric population. **Allergologia et Immunopathologia**, v. 49, n. 2, p. 60-65, mar. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.15586/aei.v49i2.65>.

PILON, A. C. et al. Metabolômica de plantas: métodos e desafios. **Química Nova**, v.43, n. 3, p.329- 354, mar. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170499>

PINTO, R. C. Chemometrics Methods and Strategies in Metabolomics. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 965, p. 163-190, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-47656-8_7.

PONTES, T. A. et al. Osteopenia-osteoporosis discrimination in postmenopausal women by 1H NMR-based metabolomics. **PLoS ONE**, v. 14, n. 5, p. 1–10, may. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217348>.

QUINN, R. A. Integrating Microbiome and Metabolome Data to Understand Infectious Airway Disease. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 196, n. 7, p. 806-807, Oct. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1164/rccm.201704-0671ED>.

RADOVANI, B.; GUDELJ, I. “N-Glycosylation and Inflammation; the Not-So-Sweet Relation. **Frontiers in immunology**, v. 13, p.89336, Jun. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.893365>.

RAGO, D. et al. Characteristics and Mechanisms of a Sphingolipid-associated Childhood Asthma Endotype. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 203, n. 7, p. 853-863, feb. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1164/rccm.202008-3206OC>.

RODUIT, C. et al. High levels of butyrate and propionate in early life are associated with protection against atopy. **Allergy**, v. 74, n. 4, p. 799-809, apr. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/all.13660>.

SAITO, K.; MATSUDA, F. Metabolomics for functional genomics, systems biology, and biotechnology. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, p. 463-489, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.043008.092035>.

SAKANO E, et al. IV Brazilian Consensus on Rhinitis – an update on allergic rhinitis. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 84, n. 1, p. 3-14, 2018.

SANCHEZ, J.; SÁNCHEZ, A.; CARDONA, R. Clinical differences between children with asthma and rhinitis in rural and urban areas. **Colombia Médica**, v. 49, n. 2, p. 169–174, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.25100/cm.v49i2.3015>.

SCHULER, C.F.; MONTEJO, J.M. Allergic Rhinitis in Children and Adolescents. **Pediatric Clinics of North America**, v. 66, n. 5, p. 981-993, Oct. 2019. Disponível em: <https://doi.org/DOI:10.1016/j.aca.2012.05.049>.

SMOLINSKA, A. et al. NMR and pattern recognition methods in metabolomics: from data acquisition to biomarker discovery: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 750, p. 82-97, Oct. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.05.049>.

SOLÉ, D. et al. Prevalência de sintomas de asma, rinite e eczema atópico entre crianças e adolescentes brasileiros identificados pelo International Study of Asthma and Allergies (ISAAC): fase 3. **Jornal De Pediatria**, v. 82, n. 5, p. 341-346, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0021-75572006000600006>.

SPICER, R. A. et al. Compliance with minimum information guidelines in public metabolomics repositories. **Scientific Data**, v. 4, p. 170137, 26 Sep. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/sdata.2017.137>.

STRACHAN D. et al. Worldwide variations in prevalence of symptoms of allergic rhinoconjunctivitis in children: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 8, n. 4, p. 161-176, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3038.1997.tb00156.x>.

SUMNER, L. W. et al. Proposed minimum reporting standards for chemical analysis Chemical Analysis Working Group (CAWG) Metabolomics Standards Initiative (MSI). **Metabolomics**, v. 3, n. 3, p. 211-221, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11306-007-0082-2>.

SZYMAŃSKA, E. et al. Double-check: validation of diagnostic statistics for PLS-DA models in metabolomics studies. **Metabolomics**, v. 8, Suppl 1, p. 3-16, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11306-011-0330-3>.

TORELL, F. et al. The effects of thawing on the plasma metabolome: evaluating differences between thawed plasma and multi-organ samples. **Metabolomics**, v. 13, n. 6, p. 66, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11306-017-1196-9>.

TRIBA, M. N. et al. PLS/OPLS models in metabolomics: the impact of permutation of dataset rows on the K-fold cross-validation quality parameters. **Molecular BioSystems**, v. 11, n. 1, p. 13-19, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c4mb00414k>.

Van WONDEREN, K. E. et al. Different definitions in childhood asthma: how dependable is the dependent variable? **The European Respiratory Journal**, v. 36, n. 1, p. 48-56, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1183/09031936.00154409>.

VILLASEÑOR, A. et al. Allergic asthma: an overview of metabolomic strategies leading to the identification of biomarkers in the field. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 47, n. 4, p. 442-456, apr. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/cea.12902>.

WANG, X. et al. Recent advances in the diagnosis of allergic rhinitis. **Expert Review of Clinical Immunology**, v. 14, n. 11, p. 957-964, Nov. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/1744666X.2018.1530113>.

WANG, Y. et al. Characterization of dysbiosis of the conjunctival microbiome and nasal microbiome associated with allergic rhinoconjunctivitis and allergic rhinitis. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1079154, 2023. Disponível em:

<https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1079154>.

WEDES, S. H. et al. Urinary bromotyrosine measures asthma control and predicts asthma exacerbations in children. **The Journal of Pediatrics**, v. 159, n. 2, p. 248–55.e1, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2011.01.029>.

WISE, S. K. et al. International consensus statement on allergy and rhinology: Allergic rhinitis - 2023. **International Forum of Allergy & Rhinology**. V.13, n. 4, p.293-859. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/alr.23090>.

World Health Organization. Adherence to Long-Term Therapies: Evidence for action. 2003.

XIE, S. et al. Prediction of Sublingual Immunotherapy Efficacy in Allergic Rhinitis by Serum Metabolomics Analysis. **International Immunopharmacology**, v. 90, p. 107211, nov. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.107211>.

XU, S. et al. Metabolomics in asthma: A platform for discovery. *Molecular Aspects of Medicine*, v. 85, p. 100990, mar. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2021.100990>.

YU, Y. et al. Biomarker discovery for tuberculosis using metabolomics. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 10, p. 1099654, feb. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2023.1099654>.

YUAN, Y. et al. Airway Microbiome and Serum Metabolomics Analysis Identify Differential Candidate Biomarkers in Allergic Rhinitis. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 771136, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.771136>.

ZHANG, Y. Advances and highlights in allergic rhinitis. **Allergy**, v. 76, n. 11, p. 3383-3389, aug. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/all.15044>.

ZHENG, P. et al. Metabolomics reveals process of allergic rhinitis patients with single- and double- species mite subcutaneous immunotherapy. **Metabolites**, v. 11, n. 9, p. 613, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/metabo11090613>.

ZHOU, Y. et al. ¹H NMR-based metabolomic study of metabolic profiling for pollinosis. **The World Allergy Organization Journal**, v. 12, n. 1, p. 100005, nov. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.waojou.2018.11.005>

ANEXO A



HOSPITAL DAS CLÍNICAS - UFPE
Centro de Pesquisas em Alergia e Imunologia



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA RESPONSÁVEL LEGAL PELO MENOR DE 18 ANOS)

Solicitamos a sua autorização para convidar o (a) seu/sua filho (a) _____ ou menor que está sob sua responsabilidade} para participar, como voluntário (a), da pesquisa **(DESENVOLVIMENTO DE MODELOS METABONÔMICOS PARA IDENTIFICAR ADESÃO DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES AO TRATAMENTO DE RINITE ALÉRGICA)**.

Esta pesquisa é da responsabilidade da pesquisadora Denise Maiara da Silva Carneiro, Rua Nossa Senhora do Perpétuo Socorro, 700, Jardim Jordão, Jaboatão dos Guararapes, Cep- 54320-550/ 81-996394304/denise.carneiro@ufpe.br.

Está sob a orientação de Dr. Ricardo Oliveira Silva Telefone: 81-994494065, e-mail (ricardo.silva@ufpe.br).

O/a Senhor/a será esclarecido(a) sobre qualquer dúvida a respeito da participação dele/a na pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e o/a Senhor/a concordar que o(a) menor faça parte do estudo, pedimos que rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias.

Uma via deste termo de consentimento lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável. O/a Senhor/a estará livre para decidir que ele/a participe ou não desta pesquisa. Caso não aceite que ele/a participe, não haverá nenhum problema, pois desistir que seu filho/a participe é um direito seu. Caso não concorde, não haverá penalização para ele/a, bem como será possível retirar o consentimento em qualquer fase da pesquisa, também sem nenhuma penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Esta pesquisa tem como objetivo estudar pacientes com Rinite alérgica, que estão em tratamento medicamentoso e identificar através da técnica de ressonância magnética nuclear de Hidrogênio (RMN de 1 H), que visa avaliar os metabólitos presentes no corpo, se os pacientes estão aderindo ao tratamento através do exame laboratorial de sangue. Quando dos exames de rotina do ambulatório de alergia HC UFPE será separado uma parte (2ml de soro) para a realização da pesquisa. Os materiais que serão utilizados na coleta de sangue são estéreis e descartáveis, para que não haja risco de contaminação.

Será necessária apenas uma coleta de sangue. No entanto, caso haja problemas com a amostra de sangue coletada, como material insuficiente ou quebra de tubos, o/a menor será convidado a participar de uma nova coleta. A coleta de sangue no braço poderá acarretar uma leve dor e pequenos hematomas, contudo, não comprometerá a sua saúde. Para amenizar os riscos, a coleta será realizada por profissionais experientes que tomarão os cuidados necessários para diminuir o risco de que o local onde a veia for mexida fique arroxeadado e/ou dolorido. Ainda assim, como a coleta se dará após a consulta com o médico alergologista, todo o apoio será dado pelo mesmo e do corpo de enfermagem de apoio ao ambulatório de alergia, caso haja necessidade.

Os benefícios diretos que os participantes terão será a estimativa de adesão ao tratamento para rinite alérgica utilizando a metabonômica como técnica promissora na avaliação dos metabólitos existentes no organismo humano, em uma única coleta de sangue.

Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. O material coletado nesta pesquisa ficarão armazenados no Laboratório de Metabonômica e Quimiometria (LABMEQ) no Departamento de Química Fundamental da UFPE, podendo ser utilizado em pesquisas futuras utilizando técnicas de espectrometria de massas e cromatografia, e os dados de prontuário coletados ficarão armazenados em pastas de arquivo e no computador pessoal dos pesquisadores, sob a responsabilidade da pesquisadora Denise Maiara da Silva Carneiro, no endereço acima informado, pelo período de mínimo 5 anos.

Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação).

O Sr./Sra. poderá solicitar, se assim quiser, o relatório final da pesquisa que o menor sob sua responsabilidade fez parte, e também cópias de todos os resultados dos exames complementares realizados nesta pesquisa poderão ser solicitadas ao pesquisador

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do HC/UFPE no endereço: **(Avenida Prof. Moraes Rego n° 1235, Cidade Universitária, 3° andar, Bloco C, Recife- PE, Brasil CEP: 50670-901, Tel.: (81) 2126.3743 – e-mail: cep.hcpe@ebserh.gov.br).**

Assinatura do pesquisador (a)

CONSENTIMENTO DO RESPONSÁVEL PARA A PARTICIPAÇÃO DO/A VOLUNTÁRIO

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, responsável por

_____, autorizo a sua participação no estudo **DESENVOLVIMENTO DE MODELOS METABONÔMICOS PARA IDENTIFICAR ADESÃO DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES AO TRATAMENTO DE**

RINITE ALÉRGICA, como voluntário(a). Fui devidamente informado(a) e esclarecido(a) pelo(a) pesquisadora sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes da participação dele (a). Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de seu acompanhamento, para mim ou para o (a) menor em questão.

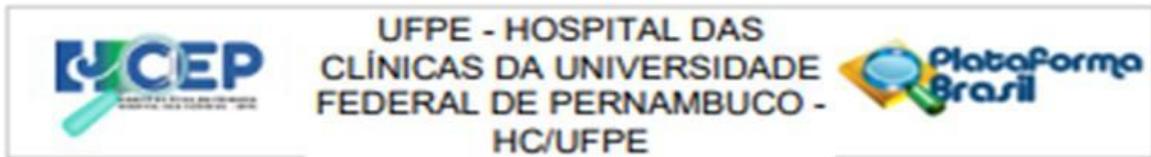
Local e data _____

Assinatura do (da) responsável: _____

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do voluntário em participar. 02 testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

ANEXO B – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DESENVOLVIMENTO DE MODELOS METABONÔMICOS PARA IDENTIFICAR ADESÃO DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES AO TRATAMENTO DE RINITE

Pesquisador: Denise Maiara da Silva Carneiro

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 54080521.3.0000.8807

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.242.885

Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma pesquisa clínica que será desenvolvida por uma mestranda do Programa de Pós-graduação em Saúde Translacional da Universidade Federal de Pernambuco, sob orientação dos Professores pesquisadores Ricardo Oliveira Silva e Décio Medeiros Peixoto no ambulatório de Imunologia e Alergologia do Hospital das Clínicas.

O presente projeto de pesquisa será guiado pela hipótese que o nível de adesão ao tratamento da Rinite Alérgica altera o perfil de metabólitos endógenos presentes no soro desses pacientes e pode ser monitorado através da estratégia metabonômica. Essa estratégia é uma medida quantitativa que visa encontrar mudanças nos níveis de metabólitos endógenos de biofluidos ou tecidos, que sejam o resultado de doenças ou tratamento terapêutico.

A metodologia prevê o recrutamento de quarenta crianças na faixa etária de 06 a 14 anos de ambos os sexos que possuem o diagnóstico médico de rinite alérgica e estão em acompanhamento no referido serviço. Serão excluídos os pacientes que apresentem histórico de outras doenças respiratórias ou em tratamento regular para doenças crônicas, como diabetes e hipertensão. Será realizado uma anamnese dos incluídos e captado uma alíquota de sangue para realização dos exames de rotina e o específico para o estudo. A alíquota do estudo será analisada no Departamento de Química Fundamental, no LabMeQ – Laboratório de Metabonômica e Quimiometria da UFPE. O material biológico será armazenado em temperatura adequada conforme

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, 1235, Bloco C, 3º andar do prédio principal, Ala Norte, 1ª sala à esquerda do
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.670-901
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-3743 **E-mail:** cep.hcpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 5.242.885

normas técnicas e comporá um banco de soro para pesquisas por um período de cinco anos.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral:

Construir modelos metabonômicos baseados em espectroscopia de ressonância nuclear magnética de Hidrogênio-1 (RMN de ^1H) para identificar o grau de adesão de crianças e adolescentes ao tratamento de rinite alérgica.

Específicos:

- Obter os espectros de RMN de ^1H de amostras de soro de crianças e adolescentes que estão sendo acompanhadas no ambulatório de Imunologia e Alergologia do Hospital das Clínicas;
- Estudar o perfil metabólico das crianças e adolescentes, associando ao grau de adesão descrito pelos profissionais de saúde que atendem o paciente;
- Identificar as rotas metabólicas envolvidas na discriminação dos grupos do estudo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: As coletas de sangue serão realizadas por profissionais treinados e orientados para reduzir os riscos e desconfortos. Pode ocorrer do procedimento deixar o braço um pouco dolorido e apresentar hematoma. Para amenizar os riscos da manipulação do material biológico, todas as etapas seguirão um protocolo de boas práticas de laboratório e utilizarão equipamentos de proteção individual desde a manipulação do soro até o descarte dos materiais. Há ainda o risco de perda de dados quando do armazenamento das informações dos pacientes. Os dados serão armazenados no computador pessoal da pesquisadora e haverá um backup em pen drive devidamente guardado no Departamento de Química Fundamental UFPE pelo período de cinco anos.

Benefícios: A metabonômica é uma técnica que identifica em uma única análise vários metabólitos endógenos através de sinais espectrais, pretende-se que com a ascensão da pesquisa sobre o tema no futuro a técnica esteja empregada nos diversos laboratórios e centros de saúde para que a população possa ter acesso ao diagnóstico dos diversos distúrbios de maneira ágil e eficaz.

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, 1235, Bloco C, 2º andar do prédio principal, Ala Norte, 1ª sala à esquerda do
Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.670-901
UF: PE Município: RECIFE
Telefone: (81)2126-3743 E-mail: cep.hcpe@ufpe.br



UFPE - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PERNAMBUCO -
HC/UFPE



Continuação do Parecer: 5.242.885

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto bem delineado, com objetivos e metodologia adequadamente construídos, de forma a chegar aos resultados esperados. A metabonômica é uma técnica que identifica em uma única análise vários metabólitos endógenos através de sinais espectrais e assim pesquisas que possam utilizá-la servirão de benefícios aos profissionais, serviços de saúde e a população que terá acesso ao diagnóstico de forma ágil e eficaz.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide "Conclusões ou Pendência e Lista de Inadequações."

Recomendações:

Vide "Conclusões ou Pendência e Lista de Inadequações."

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

APROVADO.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1858440.pdf	24/01/2022 16:58:33		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALEMenor_7_a_18.docx	24/01/2022 16:55:59	Denise Maiara da Silva Cameiro	Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA_PENDENCIAS.docx	24/01/2022 16:52:09	Denise Maiara da Silva Cameiro	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado_brochura_investigador_corr_dec.docx	24/01/2022 16:50:05	Denise Maiara da Silva Cameiro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	A9_TCLEResponseveis_menores_260221.docx	24/01/2022 16:49:35	Denise Maiara da Silva Cameiro	Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto.pdf	01/12/2021 21:17:09	Denise Maiara da Silva Cameiro	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.docx	20/11/2021 19:38:04	Denise Maiara da Silva Cameiro	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	20/11/2021 19:37:12	Denise Maiara da Silva Cameiro	Aceito

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, 1235, Bloco C, 3º andar do prédio principal, Ala Norte, 1ª sala à esquerda do
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.670-901
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-3743 **E-mail:** cep.hcpe@ufpe.br



UFPE - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PERNAMBUCO -
HC/UFPE



Continuação do Parecer: 5.242.885

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 14 de Fevereiro de 2022

Assinado por:

Givaneide Oliveira de Andrade Luz
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, 1235, Bloco C, 3º andar do prédio principal, Ala Norte, 1ª sala à esquerda do
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.670-901
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81) 3126-3743 **E-mail:** cep.hcpe@ebserh.gov.br