



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**FABÍOLA CÁSSIA DE OLIVEIRA SILVA VIEIRA**

**CAPACIDADE FUNCIONAL, FORÇA MUSCULAR INSPIRATÓRIA,  
MEDIADORES INFLAMATÓRIOS E QUALIDADE DE VIDA DE PACIENTES  
COM DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA APÓS UM PROGRAMA DE  
REABILITAÇÃO PULMONAR DE LONGA DURAÇÃO**

**RECIFE**

**2016**

**FABÍOLA CÁSSIA DE OLIVEIRA SILVA VIEIRA**

**CAPACIDADE FUNCIONAL, FORÇA MUSCULAR INSPIRATÓRIA,  
MEDIADORES INFLAMATÓRIOS E QUALIDADE DE VIDA DE PACIENTES  
COM DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA APÓS UM PROGRAMA DE  
REABILITAÇÃO PULMONAR DE LONGA DURAÇÃO**

Dissertação apresentada pela mestranda Fabíola Cássia de Oliveira Silva Vieira, sob orientação da Profa. Dra. Patrícia Érika de Melo Marinho e coorientação da Profa. Dra. Daniele Sirineu Pereira, a ser apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do grau de mestre.

**Área de Concentração: Qualidade de vida, saúde e humanidade**

**Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Patrícia Érika de Melo Marinho**

**Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Daniele Sirineu Pereira**

**RECIFE**

**2016**

Catálogo na fonte  
Bibliotecária: Susyleide Brito, CRB4-1141

V658c Vieira, Fabíola Cássia de Oliveira Silva.  
Capacidade funcional, força muscular inspiratória, mediadores inflamatórios e qualidade de vida de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica após um programa de reabilitação pulmonar de longa duração / Fabíola Cássia de Oliveira Silva Vieira – 2016.  
95 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Patrícia Érika de Melo Marinho.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Recife, 2016.  
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Citocinas. 2. DPOC. 3. Qualidade de vida. I. Marinho, Patrícia Érika de Melo (Orientadora). II. Título.

610 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2017-025)

**FABÍOLA CÁSSIA DE OLIVEIRA SILVA VIEIRA**

**CAPACIDADE FUNCIONAL, FORÇA MUSCULAR INSPIRATÓRIA, MEDIADORES  
INFLAMATÓRIOS E QUALIDADE DE VIDA DE PACIENTES COM DOENÇA  
PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA APÓS UM PROGRAMA DE REABILITAÇÃO  
PULMONAR DE LONGA DURAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE em CIÊNCIAS DA SAÚDE.

Aprovado em: 16/08/2016

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof.º. Dr.º. Marcelo Tavares Viana (Presidente)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof.ª. Drª. Arméle de Fátima Dornelas de Andrade- (Examinador Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof.ª. Drª. Célia Maria Machado Barbosa de Castro - (Examinador Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**

**REITOR**

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

**VICE-REITOR**

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

Prof. Dr. Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**DIRETOR**

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**COORDENADOR**

Prof. Dr. Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho

**VICE- COORDENADOR**

Prof. Dr. Brivaldo Markman Filho

**CORPO DOCENTE**

Prof.<sup>a</sup> Ana Lúcia Coutinho Domingues

Prof.<sup>a</sup> Ângela Luiza Branco Pinto Duarte

Prof. Ary Gomes Filho

Prof. Brivaldo Markman Filho

Prof. Bruno Severo Gomes

Prof.<sup>a</sup> Cláudia Diniz Lopes Marques

Prof. Décio Medeiros Peixoto

Prof. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira

Prof. Edgar Guimarães Victor

Prof. Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto

Prof. Emanuel Sávio de Cavalcanti Sarinho

Prof. Emília Chagas Costa

Prof.<sup>a</sup> Heloísa Ramos Lacerda de Melo

Prof. Hilton Justino de Oliveira

Prof. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira

Prof. José Ângelo Rizzo

Prof.<sup>a</sup> Lucila Maria Valente

Prof. Lucio Villar Rabelo Filho

Prof. Marcelo Renato Guerino

Prof. Marcelo Tavares Viana

Prof.<sup>a</sup> Patrícia Érika de Melo Marinho

Prof. Paulo Sérgio Ramos Araújo

Prof.<sup>a</sup> Romualda Castro do Rêgo Barros

Prof. Sandro Gonçalves de Lima

Prof.<sup>a</sup> Simone Cristina Soares Brandão

Dedico este trabalho aos meus pais, pelo amor incondicional; aos meus filhos, razões da minha vida e minhas grandes motivações; ao meu marido, por todo amor e companheirismo e aos meus irmãos, pelo carinho e amizade.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, em quem eu deposito minha Fé e que sempre tem sido fortaleza em minha vida.

A minha Orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Patrícia Érika de Melo Marinho, por todo conhecimento compartilhado, pela dedicação, carinho e credibilidade a mim confiada e por me fazer ir além do que era possível.

A minha coorientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Daniele Sirineu Pereira, pela parceria e confiança, pela participação fundamental na sugestão do uso BDNF e considerações fundamentais na construção deste trabalho.

A Dr.<sup>a</sup> Thacianna Costa, terei eterna gratidão por sua disponibilidade, paciência e atenção comigo nas dosagens das citocinas. Tornei-me fã e admiradora da sua grandiosa inteligência!

A todos que fazem o LIKA, aqui representados pela Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Célia Castro, meu agradecimento sincero, possibilitando a viabilização da minha pesquisa.

A CAPES pelo auxílio financeiro na bolsa de estudos.

Aos pacientes, sem eles nada seria possível, pois disponibilizaram seu tempo e consentiram participar desde estudo.

A todos os meus colegas mestrando: A luta foi grande mas, enfim, conseguimos! E em especial às minhas amigas Rilda Souza e Érica Albuquerque pelo companheirismo, amizade e por me escutarem nos momentos alegres e difíceis.

A todos que contribuíram com este trabalho, em especial aos meus professores do Programa de Pós graduação do Centro de Ciências da saúde-UFPE, por terem sido “fontes de ensino”, e pelas lições que levarei pra vida.

E a todas da secretaria do Programa de Pós-graduação de Ciências da Saúde da UFPE: Esmeralda Dantas, Cibele Graciliano e Sueli Fonseca, muito obrigada por todo carinho e apoio.

“Eu não tinha quase nada além da fé...

E foi suficiente”.

Autor desconhecido

## RESUMO

**Objetivo:** Avaliar os efeitos de um programa de reabilitação pulmonar (PRP) de longa duração sobre a capacidade funcional, força muscular inspiratória (Pimáx), qualidade de vida (SGRQ) e os níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$ , sTNFR1, sTNFR2, IL-1 $\beta$  e BDNF em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC). **Método:** Estudo de intervenção do tipo antes e depois, piloto. Foi realizado no Laboratório de Fisioterapia Cardiopulmonar do Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco no período de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2014. Participaram inicialmente da pesquisa 9 pacientes com diagnóstico clínico funcional de DPOC, que tiveram avaliados a função pulmonar através da espirometria, a capacidade funcional através do teste de caminhada de 6 minutos (TC 6min), a força inspiratória através da manovacuometria, a qualidade de vida através do *Saint George Respiratory Questionnaire* (SGRQ) e analisados os níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$  e seus receptores solúveis (sTNFR1 e sTNFR2), IL-1 $\beta$  e BDNF antes e após um PRP de 6 meses de duração. **Resultados:** São apresentados a partir do artigo original intitulado “Efeitos de um programa de reabilitação pulmonar de longa duração sobre a capacidade funcional e o perfil inflamatório de pacientes com DPOC: estudo piloto”. Observou-se no presente estudo que a maioria dos pacientes com DPOC eram do sexo masculino (83, 3%), apresentavam 2 ou mais comorbidades e faziam uso de medicações associadas para os sintomas da doença em 75% dos casos. Dos 9 pacientes iniciais, 7 concluíram o PRP e tiveram avaliados os marcadores, onde se observou melhora na distância Percorrida (ganho 26 a 331m) e na Pimáx para a maior parte dos pacientes. Houve melhora dos domínios impacto e total para todos os pacientes e dos sintomas e atividade para a maior parte deles ao final do PRP. Os níveis de BDNF reduziram enquanto o TNF- $\alpha$ , sTNFR1, sTNFR2 e IL-1 $\beta$  aumentaram em alguns pacientes ao final do PRP. Conclusão: O PRP de seis meses de duração melhorou a capacidade funcional, a Pimáx e a qualidade de vida para a maior parte dos pacientes, se mostrando eficaz. Os marcadores da inflamação mostraram comportamento variado ao final do estudo, apresentando melhora sobre os níveis de sTNFR2 e BDNF após o PRP.

**Descritores:** Citocinas. DPOC. Qualidade de Vida.

## ABSTRACT

**Objective:** Evaluate the effects of a pulmonary rehabilitation program (PRP) long lasting on functional capacity, maximal inspiratory pressure (MIP), quality of life (SGRQ) and plasma levels of TNF- $\alpha$ , sTNFR1, sTNFR2, IL-1 $\beta$  and BDNF in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Method:** Type intervention study before and after pilot. Was held in Cardiopulmonary Physical Therapy Laboratory of the Department of Physical Therapy, Federal University of Pernambuco in the period from February 2010 to February 2014. Initially participants were 9 patients with functional clinical diagnosis of COPD, which had evaluated the lung function by spirometry, functional capacity through the 6-minute walk test (CT 6min), inspiratory force by manometer, the quality of life through the Saint George Respiratory Questionnaire (SGRQ) and analyzed plasma levels of TNF- $\alpha$  and its soluble receptor (sTNFR1 and sTNFR2), IL-1 $\beta$  and BDNF PRP before and after a 6 months duration. **Results:** They are presented from the original article entitled "Effects of a pulmonary rehabilitation program on long-term functional capacity and inflammatory profile of COPD patients: a pilot study." It was noted in this study that most COPD patients were male (83, 3%) had two or more comorbid and made use of medications for associated disease symptoms in 75% of cases. The initial 9 patients completed the PRP and 7 were evaluated markers where improvements were observed in PD (26 to gain 331M) and MIP for most patients. There was improvement in impact areas and total for all patients and symptoms and activity for most of them the end of the PRP. BDNF levels are reduced as TNF- $\alpha$ , sTNFR1, sTNFR2 and IL-1 $\beta$  increased in some patients at PRP. **Conclusion:** The six-month PRP improved functional capacity, Pimax and quality of life for most patients, proving to be effective. The inflammation markers showed varied behavior at the end of the study, showing improvement on the levels of sTNFR2 and BDNF after PRP.

**Key words:** Cytokines. COPD. Quality of Life.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Características clínicas, antropométricas, medicamentos e carga tabágica dos pacientes com DPOC que participaram do estudo.

**Tabela 2.** Características iniciais e finais do TC6min e da força muscular respiratória dos sete pacientes com DPOC que realizaram o PRP.

**Tabela 3.** Características iniciais e finais do TNF- $\alpha$ , sTNFR1, sTNFR2, IL-1 $\beta$  e BDNF dos sete pacientes com DPOC que realizaram o PRP.

**Tabela 4.** Características iniciais e finais dos domínios do *Saint George Respiratory Questionnaire (SGRQ)* dos sete pacientes com DPOC que realizaram o PRP.

## LISTA DE SIGLAS

|                                |                                                                                                      |
|--------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>ATS</b>                     | <b>AMERICAN THORACIC SOCIETY</b>                                                                     |
| <b>BDNF</b>                    | <b>FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO</b>                                                         |
| <b>CVF</b>                     | <b>CAPACIDADE VITAL FORÇADA</b>                                                                      |
| <b>DP</b>                      | <b>DISTÂNCIA PERCORRIDA</b>                                                                          |
| <b>DPOC</b>                    | <b>DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA</b>                                                            |
| <b>ERS</b>                     | <b>EUROPEAN RESPIRATORY SOCIETY</b>                                                                  |
| <b>IL 6</b>                    | <b>INTERLEUCINA 6</b>                                                                                |
| <b>IL 8</b>                    | <b>INTERLEUCINA 8</b>                                                                                |
| <b>IL-1<math>\beta</math></b>  | <b>INTERLEUCINA 1 BETA</b>                                                                           |
| <b>IMC</b>                     | <b>INDICE DE MASSA CORPÓREA</b>                                                                      |
| <b>IPE</b>                     | <b>INDICE DE PERCEPÇÃO DO ESFORÇO</b>                                                                |
| <b>MEEM</b>                    | <b>MINE EXAME DO ESTADO MENTAL</b>                                                                   |
| <b>PIMÁX</b>                   | <b>PRESSÃO INSPIRATÓRIA MÁXIMA</b>                                                                   |
| <b>PRP</b>                     | <b>PROGRAMA DE REABILITAÇÃO PULMONAR</b>                                                             |
| <b>RM</b>                      | <b>REPETIÇÃO MÁXIMA</b>                                                                              |
| <b>SGRQ</b>                    | <b>SAINT GEORGE RESPIRATORY QUESTIONNAIRE</b>                                                        |
| <b>TC 6 MIN</b>                | <b>TESTE DE CAMINHADA DE SEIS MINUTOS</b>                                                            |
| <b>TNF-<math>\alpha</math></b> | <b>FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA</b>                                                                 |
| <b>TNFR1</b>                   | <b>RECEPTOR DO FATOR DE NECROSE TUMORAL 1</b>                                                        |
| <b>TNFR2</b>                   | <b>RECEPTOR DO FATOR DE NECROSE TUMORAL 2</b>                                                        |
| <b>VEF1</b>                    | <b>VOLUME EXPIRATÓRIO FORÇADO NO 1º SEGUNDO</b>                                                      |
| <b>VEF1/CVF</b>                | <b>RELAÇÃO ENTRE O VOLUME EXPIRATÓRIO FORÇADO<br/>NO PRIMEIRO SEGUNDO E CAPACIDADE VITAL FORÇADA</b> |

## SUMÁRIO

|                                                                                       |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                                             | <b>15</b> |
| <b>2 REFERÊNCIAL TEÓRICO.....</b>                                                     | <b>18</b> |
| 2.1 A DPOC como doença inflamatória sistêmica .....                                   | 18        |
| 2.2 Epidemiologia, diagnóstico e classificação da DPOC.....                           | 18        |
| 2.3 Disfunção muscular na DPOC.....                                                   | 19        |
| 2.4 Reabilitação Pulmonar.....                                                        | 20        |
| 2.5 Qualidade de vida na DPOC ( <i>Saint George Respiratory Questionnaire- SGRQ</i> ) | 21        |
| 2.6 Citocinas.....                                                                    | 22        |
| 2.7 Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ).....                               | 23        |
| 2.8 Receptores solúveis do TNF- $\alpha$ (sTNFR1, sTNFR2) .....                       | 23        |
| 2.9 Interleucina 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ) .....                                      | 24        |
| 2.10 Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF).....                               | 25        |
| 2.11 JUSTIFICATIVA.....                                                               | 26        |
| 2.12 OBJETIVOS.....                                                                   | 26        |
| 2.12.1 Objetivo Geral.....                                                            | 26        |
| 2.12.2 Objetivos específicos.....                                                     | 27        |
| 2.13 HIPÓTESE.....                                                                    | 27        |
| <b>3 MÉTODOS.....</b>                                                                 | <b>29</b> |
| 3.1 Delineamento do estudo.....                                                       | 29        |
| 3.2 Tipo do estudo.....                                                               | 29        |
| 3.3 Local de realização do estudo.....                                                | 29        |
| 3.4 População do estudo.....                                                          | 29        |
| 3.4.1 Definição do tamanho da amostra.....                                            | 29        |
| 3.4.2 Critérios de Inclusão.....                                                      | 30        |
| 3.4.3 Critérios de Exclusão.....                                                      | 31        |
| 3.5 Categorizações das Variáveis.....                                                 | 31        |
| 3.5.1 Etapas e métodos de coleta de dados.....                                        | 31        |
| 3.6 Análise Estatística.....                                                          | 36        |

|                                                                                                                                                                       |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.7 Limitações do Estudo.....                                                                                                                                         | 36        |
| 3.8 Aspectos Éticos.....                                                                                                                                              | 37        |
| <b>4 RESULTADOS .....</b>                                                                                                                                             | <b>39</b> |
| <b>5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....</b>                                                                                                                               | <b>41</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                                                                                                                               | <b>42</b> |
| <b>APÊNDICES.....</b>                                                                                                                                                 | <b>48</b> |
| <b>APÊNDICE – A: ARTIGO ORIGINAL</b>                                                                                                                                  |           |
| <b>Efeitos de um programa de reabilitação pulmonar de longa duração sobre a capacidade funcional e o perfil inflamatório em idosos com DPOC: série de casos .....</b> | <b>49</b> |
| <b>APÊNDICE – B: Termo de compromisso e confidencialidade.....</b>                                                                                                    | <b>69</b> |
| <b>APÊNDICE – C: Carta de anuência- LIKA.....</b>                                                                                                                     | <b>71</b> |
| <b>APÊNDICE – D: Carta de anuência – Dep. de Fisioterapia.....</b>                                                                                                    | <b>72</b> |
| <b>APÊNDICE – E: Autorização de uso de dados- LIKA.....</b>                                                                                                           | <b>73</b> |
| <b>APÊNDICE – F: Autorização de uso de dados- Dep. de Fisioterapia.....</b>                                                                                           | <b>74</b> |
| <b>ANEXOS.....</b>                                                                                                                                                    | <b>75</b> |
| <b>ANEXO I: Questionário do Hospital <i>Saint George</i> na Doença Respiratória (SGRQ).....</b>                                                                       | <b>76</b> |
| <b>ANEXO II: Miniexame do Estado Mental (MEEM).....</b>                                                                                                               | <b>79</b> |
| <b>ANEXO III: Escala de Percepção do esforço (BORG) .....</b>                                                                                                         | <b>82</b> |
| <b>ANEXO IV- Normas para submissão à revista Portuguesa de Pneumologia.....</b>                                                                                       | <b>83</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) é uma doença de caráter inflamatório prevenível e tratável que se caracteriza pela obstrução e inflamação das vias aéreas e pulmão, em resposta a ação nociva de gases irritantes de forma progressiva, de acordo com a Iniciativa Global para a Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (GOLD). A morbimortalidade tem sido crescente no mundo inteiro, e segundo a projeção da Organização Mundial de Saúde, ela será a terceira causa de morte no mundo em 2020 (GOLD, 2016).

As exacerbações na DPOC têm sido associadas a respostas inflamatórias excessivas, incluindo o aumento no recrutamento de células inflamatórias (BARNES; CELLI, 2009; GOLD, 2016). Além da característica respiratória inflamatória, muitos doentes apresentam manifestações sistêmicas associadas que resultam no agravamento da dispneia, perda de peso, fraqueza dos músculos respiratórios e massa magra evidenciando assim diminuição na qualidade de vida e aumento na mortalidade (BARNES; CELLI, 2009; LAIZO, 2009).

Os linfócitos T, macrófagos e neutrófilos estão envolvidas neste processo inflamatório, e quando ativados, através de estímulo cerebral, desencadeiam a liberação de mediadores como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucinas (IL1, IL6, IL8) e leucotrienos (BARNES; CELLI, 2009; GOLD, 2016). Esses mediadores identificados como citocinas, iniciam a cascata inflamatória de outras condições inflamatórias como artrite reumatoide, doenças intestinais inflamatórias e asma grave (LAIZO, 2009).

De acordo com estudo realizado com idosos frágeis, foi constatado que após um programa de exercício físico, os níveis de TNF- $\alpha$  aumentados contribuíram para a perda de massa muscular relacionada a idade e o exercício de resistência atenuou este processo de perda, suprimindo a expressão desse marcador no músculo esquelético. (GREIWE, 2001).

A exacerbação na DPOC está condicionada à inflamação nas vias aéreas e pacientes nos estágios I e II apresentam um nível elevado de Interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), o que agravaria muito a função pulmonar desses doentes (HACKETT et al, 2008). Ele participa iniciando e dando continuidade ao processo de inflamação pulmonar. Foi observado em modelo animal que a IL-1 $\beta$  induz o enfisema (SICHELSTIEL et al., 2014). E assim como o TNF- $\alpha$ , a IL-1 $\beta$  também leva a processos inflamatórios sistêmicos (DINARELLO, 1997).

O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) é uma proteína da família das neurotrofinas (KRABBE et al., 2007). Comprovou-se que ele também participa no processo da DPOC, porém de forma anti-inflamatória, aparecendo entre um dos mais elevados mediadores, porque tem desempenhado um papel chave na fase aguda das inflamações

crônicas nas vias aéreas (CASTELLANO; LESLEY, 2008). Ainda segundo resultado do estudo de Castellano & Lesley (2008) desenvolvido em pacientes com esclerose múltipla, o treinamento físico influenciou a regulação do BDNF aumentando seus níveis séricos após o exercício e reduzindo posteriormente.

Se o exercício físico pode promover mudanças nos níveis séricos de marcadores inflamatórios em pacientes com outras condições de saúde e considerando a DPOC uma doença de caráter inflamatório crônico, um programa de exercícios direcionado especificamente para essa população de pacientes necessita ser desenvolvido, a fim de se verificar o comportamento desses marcadores da inflamação. O Programa de Reabilitação Pulmonar (PRP) tem o objetivo de melhorar o condicionamento físico, a dispneia, otimizar o estado funcional, a condição psicológica frente a doença e como consequência melhorar a qualidade de vida desses pacientes (GALVEZ et al., 2007).

De acordo com a base de dados pesquisada, não foram encontrados estudos que tivessem desenvolvido um programa de reabilitação pulmonar com o objetivo de avaliar os níveis de marcadores inflamatórios, como  $TNF\alpha$  e seus receptores,  $IL-1\beta$  e BDNF em pacientes com DPOC. Assim, este estudo teve por objetivo avaliar os efeitos de um PRP de seis meses sobre a capacidade funcional, força muscular inspiratória, a qualidade de vida, e o comportamento dos níveis séricos de  $TNF\alpha$  e seus receptores solúveis (sTNFR1 e sTNFR2),  $IL-1\beta$  e BDNF em pacientes com DPOC.

## CAPÍTULO I

---

## 2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

### 2.1 A DPOC como doença inflamatória sistêmica

A Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) é caracterizada por um padrão respiratório obstrutivo progressivo nas vias aéreas e pulmão e que está associada a uma inflamação crônica que ocorre geralmente devido à exposição ao tabagismo e gases tóxicos (GOLD, 2016). As ações desses agentes conduzem a repercussões sistêmicas devido à estimulação do sistema hematopoiético com liberação de leucócitos polimorfonucleares, ativação de fatores de coagulação e efeito direto na função endotelial dos vasos periféricos. Esses efeitos levam *stress* oxidativo dos vasos e a repercussões extrapulmonares (NUSSBAUMER-OCHSNER; RABE, 2011).

Algumas células estão envolvidas neste processo, dentre elas os linfócitos T, macrófagos e neutrófilos. Um grande número de quimiocinas, citocinas e proteinases contribuem para o remodelamento do tecido pulmonar, que leva tanto à limitação do fluxo aéreo, quanto a comorbidades, frequentemente observadas nesses pacientes (GOLD, 2016; RENNARD, 2007).

As citocinas pro-inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), as interleucinas (IL-1 $\alpha$  e IL-6) e a quimiocina (CXCL8) foram identificadas como iniciadoras desta cascata na circulação sanguínea, contribuindo para disfunções nutricionais e musculoesqueléticas em pacientes que apresentam intolerância ao exercício, especialmente nas fases moderada e grave da doença (LAIZO, 2009).

Os efeitos sistêmicos mais comumente observados são a isquemia endotelial, a insuficiência cardíaca congestiva, a caquexia, a perda de massa muscular esquelética, a síndrome metabólica, a ansiedade e a depressão, além de queda da capacidade funcional (CELLI, 2008). Esses mediadores agravariam algumas comorbidades como a insuficiência cardíaca, a doença isquêmica do coração, a osteoporose, a anemia, o câncer de pulmão e o diabetes (VIJAYAN, 2013).

### 2.2. Epidemiologia, diagnóstico e classificação da DPOC

De acordo com o *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease* (GOLD) (GOLD, 2016), a DPOC ocupa atualmente a quinta causa de morbidade e mortalidade por doenças crônicas no mundo e será a terceira causa de morte em 2020 depois da doença arterial coronariana e do acidente vascular cerebral (GOLD, 2016).

A prevalência de DPOC aumenta com a idade, com risco cinco vezes maior entre aqueles com 65 anos ou mais, do que pessoas mais jovens. Com a continuidade da exposição aos fatores de risco e o envelhecimento populacional mundial, mais pessoas serão acometidas pela DPOC, devido a condições crônicas naturais da idade, associadas ao perfil inflamatório da doença (GOLD, 2016; RAHERISON; GIRODETE, 2009).

O diagnóstico clínico da DPOC é dado a partir da presença de dispneia, tosse crônica produtora de escarro associado a eventos de exposições aos fatores de risco (tabagismo, poluição do ar, infecções, produtos químicos, etc.) e confirmado através da prova de função pulmonar, onde a relação entre o volume expiratório forçado no primeiro segundo e a capacidade vital forçada ( $FEV_1$  /CVF) pós-broncodilatador é menor que 70% (GOLD, 2016).

A DPOC é classificada de acordo com a gravidade em leve ( $VEF_1 \geq 80\%$  do previsto), moderada ( $50\% \leq VEF_1 < 80\%$  do previsto), grave ( $30\% \leq VEF_1 < 50\%$  do previsto) ou muito grave ( $VEF_1 < 30\%$  do previsto ou  $VEF_1 < 50\%$  do previsto associado à insuficiência respiratória crônica) (GOLD, 2016).

### 2.3 Disfunção muscular na DPOC

A limitação no sistema ventilatório do paciente com DPOC conduz à intolerância ao exercício físico decorrente da troca gasosa ineficaz, associada ainda a disfunções nutricionais e musculoesqueléticas, principalmente na fase moderada a grave (LAIZO, 2009). A perda de massa muscular leva a alterações na fibra do músculo e no fluxo sanguíneo, além do processo de acidose láctica precoce durante o exercício, que contribuem para a intolerância à atividade física (IKE et al., 2010).

A disfunção da musculatura periférica ocorre devido a alterações estruturais, com redução da massa muscular e da relação capilaridade/mitocôndria e no fluxo sanguíneo, provocando mudanças no tipo e tamanho das fibras musculares, diferentemente entre os membros superiores (MMSS) e inferiores (MMII), onde os últimos apresentam-se mais comprometidos devido ao desuso pela dispneia progressiva desses pacientes (LAIZO, 2009).

O paciente com DPOC tem sua qualidade de vida prejudicada. As atividades de vida diária simples, em pacientes no estágio grave, exigem muito da musculatura de MMSS onde não há tanta tolerância. Há diminuição de força e *endurance* na musculatura do quadríceps. A fadiga muscular aumenta nesses pacientes e pode ser atribuída à redução da função pulmonar, atrofia muscular na composição das fibras musculares e traz consequências levando a efeitos sistêmicos (IKE et al., 2010; LAIZO, 2009; ROCETO et al., 2007).

## 2.4 Reabilitação Pulmonar

O programa de reabilitação pulmonar (PRP) é uma intervenção voltada para o aumento no *status* de saúde, visando a melhora na condição física, psicológica e da qualidade de vida de pacientes com doença pulmonar crônica (SPRUIT, 2014).

O exercício é recomendado para os pacientes com DPOC independente do estágio da doença. Ele aumenta a concentração enzimática de mitocôndrias, os capilares do músculos que estão sendo treinados são reorganizados, o limiar anaeróbico, o consumo máximo de oxigênio e diminui o tempo de recuperação da creatina-fosfato, melhorando a condição da inflamação (DOURADO et al., 2006).

A duração mínima de um PRP efetivo é de 6 a 12 semanas. No entanto, os programas podem variar entre 8 semanas até 18 meses, e programas mais longos podem apresentar melhores resultados sobre a qualidade de vida desses pacientes (SOUZA et al., 2014). As sessões de treinamento variam em frequência (diário a semanal), em duração (de 20 a 45 minutos por sessão) e em intensidade (50% do consumo máximo de oxigênio - $\dot{V}O_2$  máx, até o máximo tolerado) (GOLD, 2016; PUHAN et al., 2011).

Os componentes do PRP variam amplamente, mas os programas abrangentes incluem treinamento físico, cessação do tabagismo, aconselhamento nutricional, apoio psicossocial, psicoterapia individual ou em grupo e educação (GOLD, 2016; SOUZA et al., 2014). O programa de treinamento inclui exercícios de resistência para MMSS e MMII, treino aeróbico e treinamento muscular inspiratório (TMI) (GOLD, 2016; TROOSTERS et al., 2007).

O treinamento físico é a base do PRP (GOLD, 2016). Os exercícios de resistência englobam treino de intensidade moderada a alta sobre a massa muscular, objetivando a melhora na capacidade de realizar o exercício e na função da musculatura. São utilizados exercícios dos MMSS, através de aparelhos de musculação, ou treinamento de resistência com pesos (SPRUIT, 2014).

Os exercícios aeróbicos podem ser realizados em esteira ou bicicleta ergométrica, a depender da capacidade funcional do paciente ao esforço físico. Para a avaliação do esforço e dispnéia é utilizada a escala de Borg modificada (índice de percepção do esforço- IPE), de forma subjetiva o paciente classifica valores aceitáveis e confortáveis para a realização do exercício. Todos os pacientes devem ser monitorizados durante a atividade física, quanto à pressão arterial (PA), frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e saturação de oxigênio ( $SpO_2\%$ ) (SPRUIT, 2014).

Na presença de fraqueza muscular inspiratória, os pacientes podem ser submetidos a um programa de (TMI), cuja carga máxima a ser desenvolvida será de 30% do valor da Pressão inspiratória máxima (Pimáx), que parece proporcionar benefícios adicionais quando incluídos em um PRP abrangente (GOLD, 2016; TROOSTERS et al., 2007).

A educação desenvolvida no PRP é destinada a autoadministração e maior independência dos pacientes com DPOC, objetivando o encorajamento precoce no reconhecimento e tratamento das exacerbações, técnicas de respiração para minimizar a dispneia, bem como técnicas de higiene brônquica (SUH, 2013).

Os aspectos nutricionais dos pacientes com DPOC também são considerados, uma vez que, o baixo índice de massa corporal está agregado a mau prognóstico e a suplementação calórica pode ajudar a manter ou recuperar o peso corporal (SUH, 2013).

O apoio psicossocial pode ajudar a tratar a ansiedade, depressão e outros problemas de saúde mental que são geralmente associados com doença respiratória crônica (SUH, 2013).

## **2.5 Qualidade de vida na DPOC (*Saint George Respiratory Questionnaire - SGRQ*)**

As mudanças fisiopatológicas provocadas pela DPOC levam à progressão da doença o que resulta em limitações, redução nas atividades de vida diária e consequentemente prejuízos qualidade de vida dos doentes (PAULIN et al., 2003). O conceito de qualidade de vida (QV) é amplo e é utilizado em diversos seguimentos na área da saúde.

Com relação à área respiratória, Paul Jones em 1991, definiu qualidade de vida como “a maneira de quantificar o impacto da doença nas atividades de vida diária e no bem estar do paciente”. Este impacto deve ser levado em consideração e é algo que precisa fazer parte do tratamento (COSTA et al., 2000)

Existem alguns instrumentos utilizados para mensuração da QV em pacientes com DPOC, eles refletem de forma mais específica os efeitos da doença. Sugere-se questionários de QV adequados e que possuam capacidade de mensuração em literatura específica e a possibilidade de detectar mudanças frente a intervenções (CAMELIER, 2006).

Dentre os mais utilizados destaca-se o *Saint George Respiratory Questionary* (SGRQ), seus domínios (atividades, impacto e sintomas), retratam como o paciente se encontra refletindo a qualidade de vida alterada àquele domínio (COSTA et al., 2000; HAUGHNEY; GRUFFYDD-JONES, 2004). Os domínios, atividades e impacto apresentaram significância estatística na pesquisa. Os domínios apresentam uma pontuação máxima, alterações iguais ou

maiores a 4% após intervenção revelam melhora relevante na qualidade de vida (COSTA et al., 2000).

## 2.6 Citocinas

As citocinas são glicoproteínas ou polipeptídeos hidrossolúveis que são produzidas por variados tipos celulares e por células do sistema imunológico no local da lesão (SOMMER et al., 2010). O genoma humano é capaz de conter 180 genes que codificam proteínas com aspectos estruturais das citocinas, e sua produção começa por nova transcrição genética como resultado da ativação celular (ZHANG, 2007). Sua principal função é de atuação na regulação da resposta imune, servindo como marcadores sistêmicos da inflamação (OPAL, 2000).

A pleiotropia é uma das características das citocinas na qual, tipos distintos celulares secretam a mesma citocina e uma única citocina pode atuar em diversos tipos de células, podendo antagonizar umas às outras ou produzir efeitos aditivos ou sinérgicos (ZHANG, 2007).

As citocinas agem de forma pró ou antiinflamatória conforme o ambiente em que se localizam. As citocinas pro inflamatórias (interleucinas - IL - 1, 2, 6, 7 e o fator de necrose tumoral alfa -  $TNF\alpha$ ) participam da inflamação através do estímulo do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) em resposta a inflamação. Em situações de estresse, o hormônio glicocorticoide é inibido na adrenal, o que inibe o processo inflamatório e consequentemente a produção de citocinas por um dispositivo autolimitado de retro regulação neuroendócrina e imune (DINARELO, 1997; OLIVEIRA et al., 2011).

O envelhecimento fisiológico e sua consequente ação inflamatória, está ligado ao aumento na produção de mediadores como interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral alfa ( $TNF-\alpha$ ), interleucina-6 (IL-6), proteínas da fase aguda, receptores solúveis do  $TNF-\alpha$ , dentre outras (KRABBE, 2004). Essas citocinas desempenham papel em muitos processos patológicos, e em especial na (DPOC), incluindo o processo inflamatório crônico e a resposta imune inata alterada (CARAMORI et al., 2014).

Alguns estudos observaram que essas alterações estão relacionadas ao início ou a exacerbação de condições crônicas de saúde, como aterosclerose, diabetes, osteoporose, doença de Alzheimer, síndrome da fragilidade, todas relativas à idade avançada (GALLUCCI, 2007; KRABBE, 2004; MAGGIO, 2006). A diminuição da capacidade funcional e função muscular estão também ligadas ao desequilíbrio na liberação desses marcadores (TIAINEN, 2010; GONZALO-CALVO, 2012).

## 2.7 Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ )

O factor de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), conhecido como caquetina, é uma citocina composta por 157 aminoácidos, produzida por neutrófilos, linfócitos T e B ativados, células *natural killers*, células endoteliais e musculares. Sua função imunológica se destina ao recrutamento para o local de infecção de monócitos e neutrófilos e ativação seguinte dessas células com o objetivo de erradicar o microorganismo (ABBAS, 2012; BRUUNSGAARD, 2003; LIU, 2003).

O TNF- $\alpha$  se apresenta de forma próinflamatória e dentre suas funções, atua como imunoestimulante e mediador da resposta inflamatória, pois auxilia na resistência do hospedeiro à infecção e ao desenvolvimento de tumores malignos (BRUUNSGAARD, 2003; LIU, 2003; OLIVEIRA, 2011). De forma local, o TNF- $\alpha$  ativa estruturas das células epiteliais para que haja liberação de mediadores inflamatórios das vias aéreas, como os oxidantes. Como consequência, ocorre a estimulação de secreção de mucinas (componente principal do muco), onde uma série de eventos envolvendo a ligação de células epiteliais brônquicas e endoteliais promovem a migração de células inflamatórias nas vias respiratórias inferiores, ativando a remodelação das vias aéreas, aumentando os níveis circulantes no sangue e na expectoração de pacientes com DPOC (CARAMORI et al., 2014; CARAMORI et al., 2009).

Na DPOC, há aumento considerável do TNF- $\alpha$  e seus receptores solúveis (sTNFR1 e sTNFR2). A perda de peso grave presente em alguns pacientes com DPOC avançada pode ser devido a apoptose de células do músculo esquelético, que estão associados ao mecanismo de caquexia, a atrofia do músculo esquelético e fraqueza nesses pacientes mediados por esta citocina (BARNES; CELLI, 2009; CARAMORI et al., 2014).

## 2.8 Receptores solúveis do TNF- $\alpha$ (sTNFR1 e sTNFR2)

O TNF- $\alpha$  atua através de dois receptores distintos, os receptores solúveis do fator de necrose tumoral 1 e 2 (sTNFR1 e sTNFR2), que são expressos separadamente na membrana celular (VICENTE et al., 2002). Esses receptores atuam de forma extracelular e são eliminados em resposta a muitos dos mesmos estímulos inflamatórios que são conhecidos para induzir a produção de TNF- $\alpha$  (VAN et al., 1992).

O sTNFR1 atua como reservatório para exacerbar a expressão do receptor de superfície, sensibilizando assim as células para as ações do TNF- $\alpha$  (BRADLEY, 2008; OLIVEIRA et al., 2011). Esse receptor está ligado a maioria dos efeitos biológicos do TNF-

$\alpha$ , como respostas inflamatórias e apoptose. Enquanto o sTNFR1 é expresso apenas em neurônios, o sTNFR2 manifesta-se principalmente em macrófagos e monócitos no gânglio da raiz dorsal, estimulando a proliferação de linfócitos-T, fibroblastos e células *natural killers* (BRADLEY, 2008; OLIVEIRA et al., 2011).

Devido a afinidade do TNF- $\alpha$  aos seus receptores (sTNFRs), há uma ativação TNF- $\alpha$ , podendo causar efeito indesejável, uma vez que os receptores servem como transportadores ou reservas bioativas de TNF- $\alpha$  na circulação (OLIVEIRA et al., 2011). Os níveis de TNF- $\alpha$  e sTNFR1 encontram-se aumentados no sangue e na expectoração de pacientes com DPOC e o sTNFR2 apresenta-se aumentado no sangue (CARAMORI et al., 2014).

Pacientes com DPOC apresentam aumento da expressão do gene TNF- $\alpha$  nos músculos esqueléticos. A perda de peso em alguns pacientes com DPOC grave pode ser devido a apoptose de células do músculo esquelético (caquexia muscular), como resultado do aumento dos níveis de TNF- $\alpha$  circulantes e de seus receptores (OLIVEIRA et al., 2011).

Sob a ação do exercício regular, níveis de marcadores da inflamação sistêmica, como IL-6 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e PCR, podem ser reduzidos. Levantando a possibilidade de intervenção anti- inflamatória mediada pelo exercício, em especial a pacientes com doença inflamatória própria do tecido muscular (WILKELMAN, 2007).

## **2.9 Interleucina 1 beta (IL -1 $\beta$ )**

A interleucina 1 é uma proteína que contem de forma distinta, a interleucina 1 alfa (IL-1 $\alpha$ ) e a interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ). A IL-1 $\beta$  humana é composta por uma cadeia de 269 aminoácidos, sintetizado por uma proteína precursora (Pró- IL-1 $\beta$ ). Ela faz parte das citocinas e é produzida por macrófagos, monócitos, células não imunológicas como fibroblastos, células endoteliais estimuladas durante a lesão celular, infecção, invasão e inflamação e também por células nervosas da glia e neurônios (OLIVEIRA et al., 2011).

Uma de suas funções dominantes é o início do processo inflamatório por meio de endotoxinas bacterianas ou substâncias inflamatórias não microbianas. Outra função dessa citocina está ligada à ação sistêmica através da ativação da ciclooxygenase-2 no hipotálamo anterior, o que induz a febre, a secreção de insulina, regulação do apetite, fisiologia do hormônio do crescimento e do remodelamento ósseo (CARAMORI et al., 2014; DINARELLO, 1991; OLIVEIRA et al., 2011).

Além da iniciação do processo inflamatório na DPOC, a IL-1 $\beta$  prolonga esse evento. Estudos experimentais têm mostrado que induzidos pelo exercício exaustivo, aumentos

relevantes na concentração de citocinas pró e antiinflamatória (TNF- $\alpha$ , IL-1b, IL-6, IL-10, IL-1ra, IL-8, IL-15), dentre outras e também de moléculas ligadas a fase aguda da inflamação (CK e PCR), aparecem principalmente no sangue e no tecido muscular esquelético (SILVA; MACEDO, 2011).

## **2.10 Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF)**

O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) desempenha função na regulação da sobrevivência, crescimento e manutenção de neurônios (DINIZ; TEIXEIRA, 2010). É um polipeptídeo da família de neurotrofinas (NT), encontrado no sistema nervoso central (SNC). As neurotrofinas realizam suas funções através de receptores tirosina-quinase (Trks) (DAVIS, 2008; DINIZ; TEIXEIRA, 2010). Há três classes desses receptores (TrkA, TrkB e TrkC) e cada uma apresenta identidade mais voltada para determinada neurotrofina. O receptor que liga preferencialmente o BDNF é o receptor TrkB. (DAVIS, 2008).

Devido a sua ação na plasticidade neuronal, o BDNF tem desempenhado influência favorável para o aprendizado e memória. Baixos níveis desta neurotrofina estão relacionados com algumas doenças neurológicas (epilepsia, coreia de Huntington, doença de Parkinson, depressão e doença de Alzheimer) (HU; RUSSEK, 2008). O BDNF também foi identificado como componente da via hipotalâmica que regula o peso corporal e homeostase energética (WISSE; SCHWARTZ, 2003). Recentemente foi descrito que baixos níveis de BDNF alteram o metabolismo da glicose em seres humanos, o que pode ser um fator patogênico no diabetes tipo II (ZOLADZ et al., 2008).

Foi demonstrado que o BDNF apresenta função importante na fase aguda e em condições inflamatórias crônicas das vias aéreas, provocando hiper-reatividade neuronal que leva a resposta exacerbada da via aérea, provocando tosse e aumentando o número e função das células do músculo liso de forma a melhorar a expectoração (STOLL et al., 2012). Nessas mesmas condições inflamatórias crônicas, o BDNF foi encontrado na musculatura esquelética demonstrando afinidade por essa musculatura, sendo sua ligação realizada através da inervação de neurônios motores (MOUSAVI; JASMIN, 2006).

A atividade física promove estímulos capazes de melhorar as funções metabólicas e o funcionamento do corpo humano (GOLD; SCHULZ et al., 2003). Um estudo observou aumento no BDNF em animais e humanos após o exercício, sugerindo que ele pode ter impacto favorável no processo inflamatório e na condição de estresse. (ADLARD; COTMAN, 2004).

O treinamento realizado, desde períodos curtos ou até mais longos, como semanas ou meses, é capaz de aumentar a expressão da neurotrofina, o que leva a melhor desempenho físico frente a doenças que acometem as vias aéreas. Em estudo desenvolvido por Zoladz e colaboradores (2008), treze homens jovens, saudáveis e fisicamente ativos realizaram por 5 semanas treinos de resistência, e foi constatado aumento induzido pela ação do exercício na neurotrofina em todos os participantes da pesquisa (ZOLADZ et al, 2008).

## **2.11 JUSTIFICATIVA**

A DPOC é caracterizada por inflamação e obstrução das vias aéreas, e tem desenvolvimento multifatorial, entre fatores genéticos e ambientais. A doença apresenta características extrapulmonares que se refletem na perda de peso e de massa magra, redução da tolerância ao exercício físico, queda nas atividades da vida diária e na qualidade de vida.

O processo inflamatório sistêmico na DPOC tem sido descrito devido ao aumento na produção de citocinas inflamatórias, como o TNF- $\alpha$  e seus receptores solúveis sTNR1 e sTNR2 e a IL-1 $\beta$ .

Além disso, o BDNF, uma neurotrofina que apresenta ampla participação no ambiente clínico de doenças neurológicas, também tem sido demonstrado participação anti-inflamatória na fase aguda das inflamações crônicas das vias aéreas e na DPOC.

Estudos mostram que a atividade física regular tem melhorado a condição inflamatória de pessoas com DPOC e o PRP tem como objetivo diminuir os sintomas, melhorar o desempenho físico e otimizar a funcionalidade, promovendo a autonomia funcional e social do paciente com limitação respiratória. Embora a reabilitação pulmonar seja considerada padrão ouro no tratamento não farmacológico da DPOC, não se sabe se um PRP de longa duração modificaria o perfil inflamatório desses pacientes.

## **2.12 OBJETIVOS**

### **2.12.1 Geral**

Avaliar os efeitos de um PRP de longa duração sobre a capacidade funcional, força muscular inspiratória (Pimáx), a qualidade de vida (SGRQ) e os níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$ , sTNR1, sTNR2, IL1- $\beta$  e BDNF em pacientes com DPOC.

### **2.12.2 Específicos**

- Avaliar o desempenho no teste de caminhada de 6 minutos (distância percorrida, tempo de duração da caminhada e índice de percepção de esforço), antes e ao final do PRP.
- Mensurar os níveis de pressão inspiratória máxima (Pimáx), no início e final do PRP.
- Analisar os níveis séricos de TNF- $\alpha$ , sTNFR1, sTNFR2, IL1- $\beta$  e do BDNF de pacientes com DPOC antes e ao final.
- Avaliar a qualidade de vida através do SGRQ antes e após do PRP.

### **2.13 HIPÓTESE**

Há melhora da capacidade funcional e força muscular inspiratória, redução de níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$ , sTNFR1, sTNFR2 e IL1- $\beta$  e aumento do BDNF e melhora da qualidade de vida em pacientes com DPOC após a realização do PRP de longa duração.

## CAPÍTULO II

---

### **3.MÉTODOS**

#### **3.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO**

##### **3.2 Tipo do estudo**

Estudo longitudinal de intervenção.

##### **3.3 Local de realização do estudo**

O programa de reabilitação pulmonar foi realizado no laboratório de Fisioterapia Cardiopulmonar do Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) no período de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2014 e a análise dos marcadores de inflamação foram realizadas no Laboratório de Microbiologia Clínica do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) da UFPE e no laboratório de dor e inflamação em Reabilitação e estudos do envelhecimento (LADIRE) da UFMG no período de Julho à Outubro de 2015.

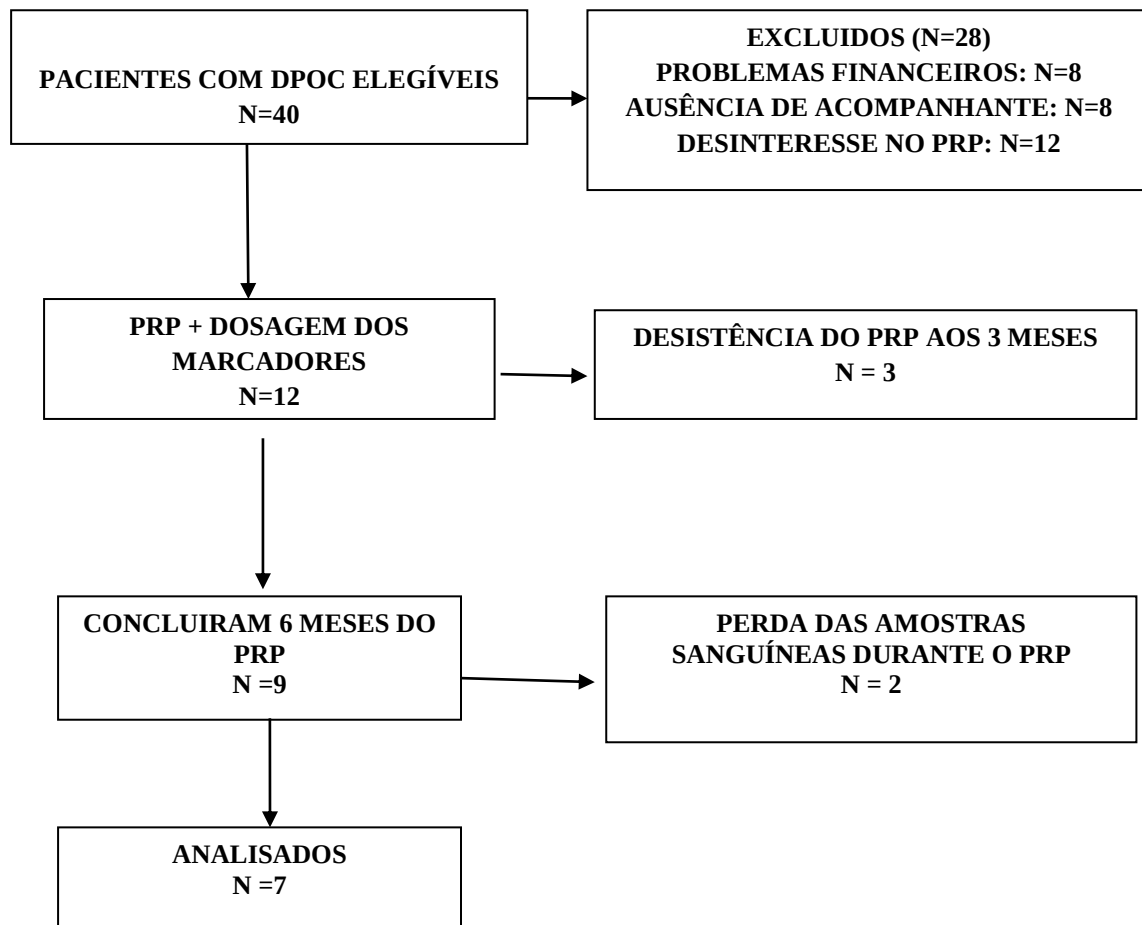
##### **3.4 População do estudo**

A população foi definida através de amostra por conveniência de pacientes com diagnóstico clínico-funcional de DPOC, oriundos de hospitais públicos de referência no tratamento de doenças pulmonares. Quarenta pacientes preencheram os critérios de inclusão para participação no estudo, no entanto, 28 não participaram. Os principais motivos para desistência de participação foram: custo financeiro para deslocar-se até o local de desenvolvimento do programa (n = 8), inexistência de acompanhante para conduzir ao programa (n = 8) e falta de interesse em participar de um programa de exercícios (n = 12).

###### **3.4.1 Definição do tamanho da amostra**

A amostra foi composta inicialmente por 12 pacientes, porém 9 desenvolveram o PRP por seis meses e foram avaliados os seguintes parâmetros durante o período do estudo: as dosagens das citocinas, a avaliação funcional através do TC6min, a força muscular respiratória e a qualidade de vida. Durante esse período, o soro dos participantes foi devidamente armazenado para análise ao final do estudo. Após o término do projeto, foi verificado a perda nas amostras dos pacientes, resultando em uma amostra final para análise das citocinas de sete pacientes.

### Fluxograma de pacientes do estudo



### 3.4.2 Critérios de Inclusão

Foram incluídos no estudo os pacientes com DPOC que apresentaram os seguintes critérios: 1) história de fumo, exposição ambiental ou ocupacional de poluente e/ou sintomas de tosse, hipersecreção ou dispneia; 2)  $VEF_1 < 80\%$  do previsto pós-broncodilatador e relação  $VEF_1/CVF < 70\%$  para confirmar o diagnóstico de obstrução das vias aéreas não completamente reversível a terapia broncodilatadora; 3) 60 anos ou mais de idade; 4) ambos os sexos; 5) ter habilidade para realizar o teste de caminhada de 6 minutos; 6) ausência de comorbidades que não permitam a realização de esforço hipertensão arterial sistêmica (HAS), hipertensão pulmonar grave, infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca congestiva, dispneia intensa); 7) funcionamento cognitivo preservado; 8) clinicamente estáveis durante o período do estudo e 9) não fazer uso de antidepressivos.

### 3.4.3 Critérios de Exclusão

Os critérios de exclusão para participação no estudo foram apresentar deficiência cognitiva, auditiva ou visual que comprometesse a resposta aos questionários utilizados na pesquisa e apresentar alterações do aparelho neuro musculoesquelético que impedissem a realização do TC 6min e a realização dos exercícios propostos no PRP.

## 3.5 CATEGORIZAÇÕES DAS VARIÁVEIS

### 3.5.1 Etapas e métodos de coleta de dados

Após preenchimento dos critérios de elegibilidade e avaliação dos pacientes, o PRP foi desenvolvido no período compreendido entre fevereiro de 2010 a fevereiro de 2014. Os pacientes foram avaliados no início e aos seis meses do PRP. Foram coletados:

Foram coletados dados sobre idade e sexo, assim como as informações acerca do hábito de fumar (anos de fumo e quantidade de cigarro/ano). A quantidade de cigarro/ano que foi calculada a partir da quantidade de cigarros fumados por dia, divididos pelo número de cigarros em um maço (20 cigarros), multiplicado pelo número de anos de fumo.

O peso corporal foi medido em quilogramas em uma balança (Balança Tanita modelo BF-681 - USA) e a altura em metros tomada em um estadiômetro (Welmy® W300, Brasil). No momento da pesagem, os indivíduos retiraram os sapatos e estavam usando roupas leves.

O índice de massa corporal que foi calculado a partir da fórmula  $\text{peso (Kg)}/\text{altura (m)}^2$ . Os valores de referência para o índice de massa corporal (IMC) adotado foram os propostos pela OMS, a saber: (1) baixo peso ( $< 18,5 \text{ kg/m}^2$ ), (2) peso normal ( $18,5 - 24,9 \text{ kg/m}^2$ ) e para as demais categorias (sobrepeso e obeso). O presente estudo considerou sobrepeso e obeso juntos ( $> 25 \text{ kg/m}^2$ ).

O registro das comorbidades e dos medicamentos utilizados, foram coletados a partir de prontuários, relatos pessoais e prescrições médicas, devidamente anotadas.

A avaliação da qualidade de vida foi realizada através do *Saint George Respiratory Questionnaire (SGRQ)*, com o objetivo de poder quantificar o nível de interferência da DPOC na vida dos pacientes, avaliando os sintomas, as restrições nas atividades de vida diária e o impacto da doença sobre o indivíduo. Cada domínio tem uma pontuação máxima possível e valores acima de 10% refletem uma qualidade de vida alterada naquele domínio. Variações

iguais ou maiores a 4% após uma intervenção indicam mudança significativa na qualidade de vida dos pacientes (SOUSA, JARDIM & JONES P, 2000; SCHÜNEMANN HJ et al, 2003) .

Para afastar a possibilidade de déficit cognitivo, foi aplicado o Mini Exame do Estado Mental (MEEM). O MEEM é composto por diversas questões agrupadas em 7 categorias, cada uma delas com o objetivo de avaliar “funções” cognitivas específicas: orientação para tempo (5 pontos), orientação para local (5 pontos), registro de 3 palavras (3 pontos), atenção e cálculo (5 pontos), lembrança das 3 palavras (3 pontos), linguagem (8 pontos), e capacidade construtiva visual (1 ponto). O escore do MEEM pode variar de um mínimo de 0 até um total máximo de 30 pontos. Para o presente estudo a ausência de transtorno cognitivo foi dada pelos seguintes valores de corte: 13 para analfabetos; 18 para indivíduos com 1 a 7 anos de estudo e 26 para 8 ou mais anos de escolaridade e foi utilizado apenas para afastar pacientes com déficit cognitivo. (PLATI, COVRE, LUKASOVA, MACEDO, 2006)

**Avaliação da prova de função pulmonar:** Foi realizada através de um espirômetro (Microloop® MK8, Micro Medical) para obtenção da capacidade vital forçada (CVF), do volume expiratório forçado no primeiro segundo ( $VEF_1$ ) e relação  $VEF_1$ /CVF em valores absolutos e percentuais do previsto, de acordo com o esperado para a população brasileira. O espirômetro foi calibrado com uma seringa de 3 l antes da realização das medidas. Foram realizadas 3 medidas e os valores aceitos quando duas medidas diferiam em menos de 10%. As maiores medidas de CVF e  $VEF_1$  foram adotadas para a análise. A classificação do nível de obstrução foi assim considerada: leve ( $VEF_1 \geq 80$  % do previsto), moderada ( $50\% \leq VEF_1 < 80$  % do previsto), grave ( $VEF_1 30$  % do previsto e  $< 50$  % do previsto) ou muito grave ( $VEF_1 < 30$  % do previsto) (GOLD, 2016).

**Teste de caminhada de 6 minutos (TC 6min):** Os testes de caminhada foram realizados sempre no mesmo horário e pelo mesmo examinador. Antes da realização do mesmo, os pacientes foram orientados a caminharem o mais rápido que pudessem em um corredor aberto de 34m de comprimento devidamente sinalizado. Os testes foram realizados de acordo com as normas da *American Thoracic Society (ATS)*. Para cálculo da distância prevista, foram utilizadas as equações de referência oriundas do estudo de Enright e Sherril (1998) para homens e mulheres. Ao final do teste foram registrados a distância percorrida em metros, o tempo de duração de caminhada em segundos e a percepção de esforço através da escala visual de Borg. A escala de Borg consistiu de uma escala para apreensão de esforços

considerados desde ‘muito, muito leve’ a ‘muito, muito difícil’, sendo atribuídos escores de 6 a 20, onde os maiores valores corresponderam a maior percepção do esforço (BORG, 1982)

Durante o teste de caminhada os pacientes tiveram a saturação periférica de oxigênio e a frequência cardíaca monitorizadas através de um oxímetro transcutâneo de pulso (Onyx, Nonim, EUA, modelo 9500). Os testes foram interrompidos se houvesse sintomas de dispneia intensa e/ou dores musculares, presença de fâcies de sofrimento e queda na Saturação Periférica de Oxigênio ( $\text{SpO}_2$ )  $\leq 88\%$ .

### **Teste de repetição máxima (1 RM)**

O teste de Repetição Máxima (RM) representa a maior quantidade que o músculo pode mover de carga através do arco de movimento em um número preciso de vezes, tendo sido realizado em estação de musculação próprio. O valor mais elevado de RM obtido pelo paciente para cada grupamento muscular foi utilizado como referência inicial ao tratamento e a carga prescrita para a realização do exercício partir de 60% do valor obtido no teste (PEREIRA e GOMES, 2003). Os reajustes da carga foram realizados mensalmente com novos testes de 1RM e o percentual utilizado para calcular a carga para o treinamento na máquina de musculação progrediu até atingir 80% do valor obtido no teste ao longo do PRP.

### **Teste incremental em esteira**

Para determinação da velocidade de treinamento na esteira ergométrica, foi realizado um teste incremental adaptado do estudo de Bendstrup et al, 1997, partindo inicialmente da velocidade do passo do paciente. A velocidade era mantida por 2 minutos e reajustada em 0,5km/h a cada intervalo desse tempo, onde eram aferidos a pressão arterial (PA), Frequência cardíaca (FC),  $\text{SpO}_2$  e o índice percepção do esforço (IPE) para controle durante o teste. O teste foi interrompido quando a  $\text{PAS} > 140\text{mmHg}$  e/ou  $\text{PAD} > 100\text{mmHg}$  ou  $\text{SpO}_2 \leq 88\%$ , ou  $\text{IPE} > 14$  ou na ocorrência de evidente sofrimento respiratório (dispneia intensa, fâcies de sofrimento, palidez, sudorese excessiva, dor em panturrilha). A prescrição da velocidade para o treinamento em esteira foi calculada a partir de 75% da velocidade obtida no teste incremental. O teste foi repetido mensalmente e a carga reajustada em 75% a partir do novo valor da velocidade obtida no teste.

### **Avaliação da força muscular inspiratória (Pressão inspiratória máxima - Pimáx)**

A força muscular inspiratória foi verificada entre os músculos inspiratórios sendo realizadas três manobras, desde que entre elas fosse observado uma variação de até 10% entre as 3 manobras. Os pacientes permaneceram sentados, foram orientados a respirar através de

uma boquilha acoplada ao manovacômetro (Manovacômetro digital MVD300, Globalmed, Brasil) e utilizaram um clipe nasal. Foi utilizada uma boquilha contendo orifício de 2mm de diâmetro e 5 cm de comprimento acoplada diretamente ao manovacômetro para permitir diminuir a utilização dos músculos da face durante as manobras de aferição.

A força muscular inspiratória (Pimáx) foi mensurada a partir da capacidade residual funcional (CRF). O esforço inspiratório gerado foi mantido até a estabilização do registro da Pimáx e a manobra foi repetida após um intervalo de aproximadamente 1 minuto, ou tempo suficiente para permitir repouso entre as manobras.

#### **Dosagens do TNF- $\alpha$ , sTNFR 1, sTNFR 2, IL-1 $\beta$ e BDNF:**

Para avaliação dos níveis de TNF- $\alpha$ , sTNFR 1, sTNFR 2 e IL-1 $\beta$  e BDNF o sangue foi coletado para análise no período da manhã entre 8:00 - 9:30h, na avaliação inicial, aos três meses e aos seis meses do programa de treinamento, o sangue foi centrifugado sendo separado o soro e congelado a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise no laboratório de Microbiologia Clínica do LIKA- UFPE, para posteriormente serem analisadas de acordo com as instruções do fabricante dos kits.

Para análise do TNF- $\alpha$ , sTNFR2 e IL-1 $\beta$  foram utilizados os Kits ELISA da Invitrogen; para o sTNFR1 o kit ELISA da EASIA e para o BDNF, foi utilizado o kit Duo Set da R&D Systems. As concentrações do TNF- $\alpha$ , sTNFR 1, sTNFR 2 e IL-1 $\beta$  foram dosadas no Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) da UFPE e as do BDNF foram analisadas no laboratório de Dor e Inflamação em Reabilitação e Estudos do Envelhecimento (LADIRE), do Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG.

#### **Programa de reabilitação pulmonar (PRP):**

O PRP teve duração de 6 meses, com 3 sessões semanais em dias alternados, cuja duração foi em média uma hora e trinta minutos. O PRP foi programado individualmente e adequado às necessidades de cada paciente e limitado pelos sintomas, sendo composto dos seguintes itens:

- Exercícios de fortalecimento para membros superiores e inferiores: foram realizados em aparelho de musculação, onde foram treinados grupos musculares dos membros superiores e inferiores e do tronco. Os exercícios prescritos individualmente a partir de uma avaliação prévia. A intensidade foi mensalmente ajustada a partir de reavaliações mensais e ajustadas de maneira progressiva ao longo do programa. Foram realizados 3 séries de 8 repetições para

cada grupo muscular: flexão e extensão de cotovelo, adutores de ombro, costas, flexão e extensão de joelhos em máquina de musculação. Entre cada série de exercícios era permitido repouso de alguns minutos e ao final de cada série, eram aferidos a PA, FC, SpO<sub>2</sub> e índice de percepção de esforço (IPE).

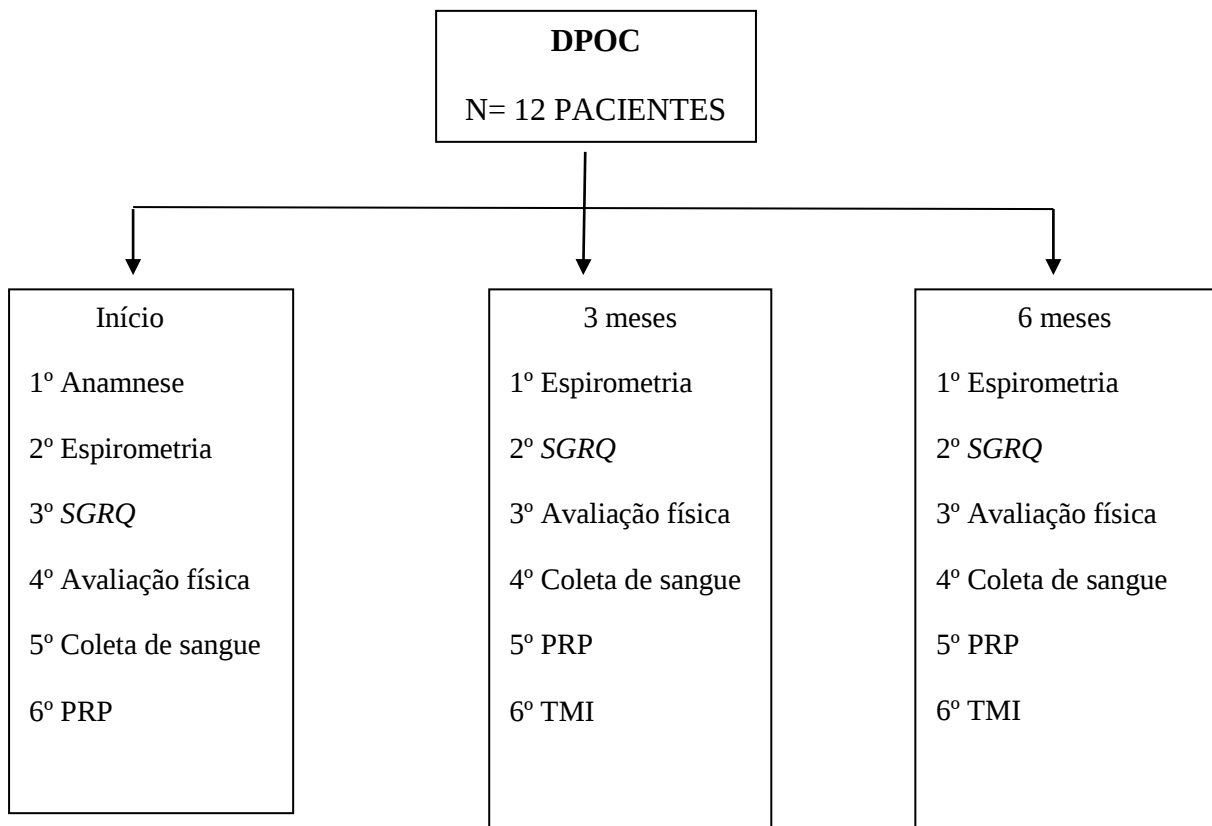
- Exercício aeróbico: foi desenvolvido em esteira, sem inclinação, com velocidades iniciais compatíveis com a capacidade de esforço do paciente previamente avaliada. A caminhada em esteira teve duração mínima de 20 minutos e máxima de 30 minutos. Dependendo da capacidade funcional do paciente ao esforço físico, foi permitido intervalo de repouso para recuperação da SpO<sub>2</sub> e da escala de Borg sempre que necessário, a fim de garantir que o tempo mínimo de 20 minutos fosse alcançado até conseguir atingir os 30 minutos máximos previstos para o programa. Todos os pacientes foram monitorizados durante o exercício a cada 5 minutos (PA, FC, FR e SpO<sub>2</sub>% e escala de Borg).

- Treinamento muscular inspiratório (TMI): foi introduzido a partir do 3º mês do PRP e na presença de fraqueza muscular inspiratória. A carga prescrita para o treino foi de 30% do valor da P<sub>imáx</sub> obtida nas avaliações ao longo do PRP. Esses exercícios foram realizados sob orientação e tiveram duração de 20 minutos durante o programa, e durante a sua execução os pacientes foram monitorados a cada 5 min (FC, FR, SpO<sub>2</sub> e IPE).

- Aulas Educativas sobre temas relacionados a doença, tratamento medicamentoso, técnicas de conservação de energia, nutrição e reabilitação pulmonar; foram realizadas ao final da sessão e a cada 15 dias com cerca de 30 minutos de duração. Foram convidados profissionais da nutrição para exposição sobre orientações nutricionais na doença.

- Exercícios respiratórios e de controle da respiração (reeducação diafragmática) foram incorporados durante as atividades e ao longo do programa.

## Fluxograma



PRP: Programa de reabilitação pulmonar

TMI: Treinamento muscular inspiratório

SGRQ: Saint George Respiratory Questionnaire

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A distribuição de normalidade foi realizada através do teste de Shapiro-Wilk e as variáveis numéricas expressas através das medidas de tendência central e dispersão. A comparação inicial e final entre as principais variáveis (DP, TC, IPE, Pimáx e os domínios do SGRQ) foi realizada através do teste t de Student para amostras dependentes. A análise foi realizada no programa SPSS versão 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) e todos os testes foram aplicados com 95% de confiança e adotado p valor < 0,05.

### 3.7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Devido a longa duração do programa instituído, houve participação de pequeno número de pacientes, a qual foi justificada por dificuldades financeira para o deslocamento até o local de desenvolvimento do programa e desinteresse de alguns deles em participar de um programa de exercícios. A perda de algumas amostras ao longo do processo de coleta e

armazenamento reduziu o número de amostras analisadas entre os participantes do estudo, fazendo reduzir ainda mais os dados disponíveis para essa análise.

### **3.8 ASPECTOS ÉTICOS**

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do Centro de Ciências da Saúde. Registro CEP/CCS sob parecer nº 999.795 e CAAE 40365014.0.000.5208, obedecendo à Resolução 466/12 que normatiza a pesquisa envolvendo seres humanos. As informações obtidas tiveram caráter sigiloso, bem como foi respeitada a privacidade de seus participantes.

### **CAPÍTULO III**

---

#### **4 RESULTADOS**

Os resultados da pesquisa encontram-se apresentados em forma de artigo, os quais estão dispostos no Apêndice A. O artigo foi submetido ao periódico: Revista Portuguesa de Pneumologia Qualis (área Medicina I): B1

## **CAPÍTULO IV**

---

## 5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O programa de reabilitação pulmonar de longa duração nesse estudo, melhorou a capacidade funcional, a força muscular inspiratória e a qualidade de vida da maior parte dos pacientes envolvidos, com repercussões sobre os níveis plasmáticos do BDNF e do sTNFR2, refletindo resposta favorável ao programa de exercício instituído. No entanto, as demais citocinas pro-inflamatórias mantiveram-se elevadas.

Os pacientes que participaram do estudo variaram entre os estágios leve a severo da DPOC, responderam diferentemente ao programa e se beneficiaram diferentemente também, embora esperássemos resposta mais favorável por se tratar de um programa de longa duração e de ajuste de carga progressivo. Também foi observado que a duração longa de um PRP não estimula a participação de maior número de pacientes, impossibilitando uma análise mais detalhada e a generalização desses resultados.

Ao mesmo tempo, um programa longo de exercícios não se mostrou mais tão eficaz em relação as variáveis analisadas, nem pareceu suficiente para provocar mudanças mais perceptíveis em relação ao perfil inflamatório da doença, quando comparado a programas mais curtos, embora o número reduzido de pacientes de nosso estudo não possibilite comparações.

De uma maneira geral, ao final do programa, todos os pacientes relataram melhora funcional, especialmente entre os mais graves e limitados, mesmo quando essa percepção não tenha sido acompanhada de sua correspondente significância estatística. Esses pacientes aderiram bem ao PRP, tiveram respeitados as limitações funcionais e participaram de um programa de exercício individualizado, sem intercorrências.

Por se tratar de um estudo piloto, sugerimos que maior número de pacientes com DPOC e em diferentes estágios da doença continuem sendo submetidos a um PRP de longa duração a fim de se verificar os efeitos funcionais do exercício sobre esses pacientes, assim como também, sobre seu perfil inflamatório, para então definir na prática clínica a viabilidade de programas de reabilitação pulmonar de longa duração.

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI S. *Imunologia celular e molecular*. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
- ADLARD, P.A; COTMAN, C.W. Voluntary exercise protects against stress- induced decreases in brain-derived neurotrophic factor protein expression. **Neuroscience**, Oxford, v.124, n. 4, p. 985–992, 2004.
- ATS/ERS Statement on Respiratory Muscle Testing. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, New York, v. 166, n. 4, p. 518–624, 2002.
- BARNES, P.J.; CELLI, B.R. Systemic manifestations and comorbidities of COPD. **European Respiratory Journal**, Copenhagen, v. 33, n. 5, p. 1165 – 1185, 2009.
- BENDSTRUP, K.E. et al. Out-patient rehabilitation improves activities of daily living, quality of life and exercise tolerance in chronic obstructive pulmonar disease. **European Respiratory Journal**, Copenhagen, v.10, n. 12, p. 2801-2806, 1997.
- BORG, G. Ratings of perceived exertion and heart rates during short-term cycle exercise and their use in a new cycling strenth test. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v. 3, n. 3, p. 153-158, 1982.
- BRADLEY, J.R. TNF-mediated inflammatory Disease. **Journal of Pathology**, Edinburgh, v. 214, n. 2, p. 149–160, 2008.
- BRUUNSGAARD, H.; PEDERSEN, B.K. Age-related inflammatory cytokines and disease. **Immunology and Allergy Clinics of North America**, Philadelphia, v. 23, n. 1, p. 15-39, 2003.
- CAMELIER, A. et al. Avaliação da qualidade de vida pelo Questionário do Hospital Saint George na Doença Respiratória em portadores de doença pulmonar obstrutiva crônica: validação de uma nova versão para o Brasil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Brasília, v. 32, n.2, p.114-122, 2006.
- CARAMORI, G. et al. Cytokine inhibition in the treatment of COPD. **International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease**, Auckland, v. 9, n. 1, p. 397–412, 2014.
- CARAMORI, G. et al. MUC5AC expression is increased in bronchial submucosal glands of stable COPD patients. **Histopathology**, Oxford, v.55, n. 3, p. 321–331, 2009.

- CASTELLANO, V.; WHITE L.J. Serum brain-derived neurotrophic factor response to aerobic exercise in multiple sclerosis. **Journal of the Neurological Sciences**, Amsterdam, v. 269, n. 1-2, p. 85–91, 2008.
- CELLI, B.R. Update on the management of COPD. **Chest**, Park Ridge, v.133, n. 6, p. 1451-1462, 2008.
- DAVIS, M. Ethanol-BDNF interactions: Still more questions than answers. **Pharmacology and Therapeutics**, Oxford, v. 118, n. 1, p. 36-57, 2008.
- DINARELLO, C.A. Role of prol and anti-inflammatory cytokines during inflammation: experimental and clinical findings. **Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents**, Milano, v. 11, n. 3, p. 91-103, 1997.
- DINARELLO, C.A. Inflammatory cytokines: Interleukin 1 and tumor necrosis factor as effector molecules in autoimmune diseases. **Current Opinion in Immunology**, Philadelphia, v. 3, n. 6, p. 941-948, 1991.
- DINARELLO, C.A. Role of prol and anti-inflammatory cytokines during inflammation: experimental and clinical findings. **Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents**, Milano, v. 11, n. 3, p. 91-103, 1997.
- DINIZ, B.S. et al. Serum brain-derived neurotrophic factor level is reduced in antidepressant-free patients with late-life depression. **The World Journal of Biological Psychiatry**, Basingstoke, v. 11, n. 3, p. 550–555, 2010.
- DOURADO V.Z. et al. Manifestações sistêmicas na doença pulmonar obstrutiva crônica. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Brasília, v. 32, n. 2, p.161-71, 2006.
- ENRIGHT P.L.; SHERRILL, D.L. Reference equations for the six-minute walk in healthy adults. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, New York, v. 158, p. 1384-1387, 1998.
- GALLUCCI, M. et al. Associations of the plasma interleukin-6 (IL-6) levels with disability and mortality in the elderly in the Treviso Longeva (TRELONG) Study. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, Amsterdam, v. 44, p. 193-198, 2007.
- GALVEZ, D.S. et al. Avaliação do aprendizado de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica em um programa de reabilitação pulmonar. **Brazilian Journal of Physical Therapy**, São Carlos, v. 11, n. 4, p. 311-317, 2007.
- GLOBAL STRATEGY FOR THE DIAGNOSIS, MANAGEMENT AND PREVENTION OF COPD, Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2016.

- GOLD, S.M. et al. Basal serum levels and reactivity of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor to standardized acute exercise in multiple sclerosis and controls. **Journal of Neuroimmunology**, Amsterdam, v.138, n. 1-2, p. 99-105, 2003.
- GONZALO-CALVO, D. et al. Interleukin 6, soluble tumor necrosis factor receptor I and red blood cell distribution width as biological markers of functional dependence in an elderly population: A translational approach. **Cytokine**, San Diego, v. 58, n. 2, p. 93-198, 2012.
- GREIWE, J.S. et al. Resistance exercise decreases skeletal muscle tumor necrosis factor alpha in frail elderly humans. **FASEB Journal**, Bethesda, v. 15, n. 2, p. 475-482, 2001.
- HACKETT, T.L. et al. Dynamics of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine release during acute inflammation in chronic obstructive pulmonary disease: an ex vivo study. **Respiratory Research**, London, v. 9, n. 1, p. 47, 2008.
- HAUGHNEYA, J.; GRUFFYDD-JONESB, K. Patient-centred outcomes in primary care management of COPD — what do recent clinical trial data tell us? **Primary Care Respiratory Journal**, Oxford, v. 13, n. 4, p. 185-197, 2004.
- HU, Y.; RUSSEK, S.J. BDNF and the diseased nervous system: a delicate balance between adaptive and pathological processes of gene regulation. **Journal of Neurochemistry**, Oxford, v. 105, n. 1, p. 1-17, 2008.
- IKE, D. et al. Efeitos do exercício resistido de membros superiores na força muscular periférica e na capacidade funcional do paciente com DPOC. **Fisioterapia em Movimento**, Curitiba, v. 23, n. 3, p. 429-437, 2010.
- JONES, P.W.; QUIRK, F.H.; BAVEYSTOCK, C.M. The St George's Respiratory Questionnaire. **Respiratory Medicine**, London, v. 85, n. 2, p. 25-31, 1991.
- KRABBE, K.S. et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and type 2 diabetes. **Diabetologia**, Berlin, v. 50, n. 2, p. 431-438, 2007.
- KRABBE, K.S. et al. Inflammatory mediators in the elderly. **Experimental Gerontology**, Oxford, v. 39, n. 5, p. 687-699, 2004.
- LAIZO, A. Doença pulmonar obstrutiva crônica: Uma revisão. **Revista Portuguesa de Pneumologia**, Lisboa, v. 15, n. 6, p. 1157-1166, 2009.
- LIU, Z.G. Molecular mechanism of TNF signaling and beyond. **Cell Research**, Beijing, v. 15, n. 1, p. 24-27, 2005.
- MAGGIO, M. et al. Interleukin-6 in aging and chronic disease: a magnificent pathway. **Journal of Gerontology Medical Sciences**, Washington, v. 61, n. 6, p. 575-584, 2006.

- MOUSAVI, K.; JASMIN, B.J. BDNF Is Expressed in Skeletal Muscle Satellite Cells and Inhibits Myogenic Differentiation. **The Journal of Neuroscience**, Baltimore, v. 26, n. 21, p. 5739–5749, 2006.
- NUSSBAUMER-OCHSNER, Y.; RABE, K.F. Systemic manifestations of COPD. **Chest**, Park Ridge, v. 139, n. 1, p. 165-173, 2011.
- OLIVEIRA C.M. et al. Citocinas e Dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, Rio de Janeiro, v. 61, n. 2, p. 255-265, 2011.
- OPAL, S.M.; DEPALO, D.A. Anti-inflammatory cytokines. **Chest**, Park Ridge, v. 117, n. 4, p. 162-172, 2000.
- PAULIN, E.; BRUNETTO, A.F.; CARVALHO, C.R.F. Efeitos de programa de exercícios físicos direcionado ao aumento da mobilidade torácica em pacientes portadores de doença pulmonar obstrutiva crônica. **Jornal de Pneumologia**, Brasília, vol. 29, n. 5, p. 287-294, 2003.
- PEREIRA, M.I.R.; GOMES, P.S.C. Muscular strength and endurance tests: reliability and prediction of one repetition maximum - review and new evidences. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v. 9, n. 5, p. 336-346, 2003.
- PLATI, M.C. et al. Depressive symptoms and cognitive performance of the elderly: relationship between institutionalization and activity programs. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, São Paulo, v.28 n. 2, p. 118-121, 2006.
- PUHAN, M.A. et al. Pulmonary rehabilitation following exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, Oxford, n. 10, CD005305, 2011.
- RAHERISON, C.; GIRODETE, P.O. Epidemiology of COPD. **European Respiratory Review**, Cambridge, v. 18, n. 114, p. 213-221, 2009.
- RENNARD, S.I. Inflammation in COPD: a link to systemic comorbidities. **European Respiratory Review**, Cambridge v.16, n. 105, p. 91-97, 2007.
- ROCETO, L.S. et al. Eficácia da reabilitação pulmonar uma vez na semana em portadores de doença pulmonar obstrutiva. **Brazilian Journal of Physical Therapy**, São Carlos, v. 11, n. 6, p. 475-480, 2007.

- SCHÜNNEMANN HJ.; GRIFFITH L.; JAESCHKE R.; GOLDSTEIN R.; STUBBING D.; GUYATT GH. Evaluation of the minimal important difference for the feeling thermometer and the St. George's Respiratory Questionnaire in patients with chronic airflow obstruction. **Journal Clinical Epidemiology**, New York, v. 56 n.12, p. 1170- 1176, 2003.
- SICHELSTIEL, A. et al. Targeting IL-1 $\beta$  and IL-17A Driven Inflammation during Influenza-Induced Exacerbations of Chronic Lung Inflammation. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 9, n. 6, e98440, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4053370/pdf/pone.0098440.pdf>>. Acesso em: 26 Maio. 2016.
- SILVA, F.O.C.; MACEDO, D.V. Exercício físico, processo inflamatório e adaptação: uma visão geral. **Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano**, Florianópolis, v. 1, n. 4, p. 320–328, 2011.
- SOUSA, J.B.F.; RUAS, G; VOLPE, M.S. Efeitos de um programa de reabilitação pulmonar padrão após um período mínimo de tratamento. **Revista Brasileira de Ciência & Movimento**, São Paulo, v. 22, n. 3, p. 126-132, 2014.
- SOUZA, T.C.; JARDIM, J.R.B.; JONES, P. Validação do Questionário do Hospital Saint George na Doença Respiratória (SGRQ) em pacientes portadores de doença pulmonar obstrutiva crônica no Brasil. **Jornal de Pneumologia**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 119-128, 2000.
- SPRUIT, M.A. Pulmonary rehabilitation. **European Respiratory Review**, Cambridge, v. 23, n. 131, p. 55-63, 2014.
- STOLL, P. et al. Stage-dependent association of BDNF and TGF- $\beta$ 1 with lung function in stable COPD. **Respiratory Research**, London, v. 13, n. 1, p. 116-126, 2012.
- SUH, E.S.; MANDAL, S.; HART N. Admission prevention in COPD: non-pharmacological management. **BMC Medicine**, Londres, v. 11, n. 1, p. 247-255, 2013.
- TIAINEN, K. et al. Inflammatory markers and physical performance among nonagenarians. **Journal of Gerontology**, Washington, v. 65, n. 6, p. 658-663, 2010.
- TROOSTERS, T. et al. Pulmonary Rehabilitation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. **Respiratory Medicine: COPD update**, Oxford, v. 3, n. 2, p. 57-64, 2007.
- VAN ZEE, K.J. et al. Tumor necrosis factor soluble receptors circulate during experimental and clinical inflammation and can protect against excessive tumor necrosis factor  $\alpha$  in vitro and in vivo. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 89, n. 11, p. 4845-4849, 1992.

VINCENT, J.L.; SUN, Q.; DUBOIS, M.J. Clinical trials of immunomodulatory therapies in severe sepsis and septic shock. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 34, n. 8, p. 1084-1093, 2002.

VIJAYAN, V.K. Chronic obstructive pulmonary disease. **Indian Journal of Medical Research**, New Delhi, v. 137, n. 2, p. 251-269, 2013.

WINKELMAN, C. Inactivity and inflammation in the critically ill patient. **Critical Care Clinics**, Philadelphia, v. 23, n. 1, p. 1-34, 2007.

WISSE, B.E.; SCHWARTZ, M.W. The skinny on neurotrophins. **Nature Neuroscience**, New York, v. 6, n. 7, p. 655 – 656, 2003.

ZHANG, J.M.; AN, J. Cytokines, inflammation, and pain. **International Anesthesiology Clinics**, Boston, v. 45, n. 2, p. 27-37, 2007.

ZOLADZ, J.A. et al. Endurance training increases plasma brain-derived neurotrophic factor concentration in young healthy men. **Journal of Physiology and Pharmacology**, Krakow, v. 59, n.7, 119–132, 2008.

## APÊNCIDES

---

## Apêndice- A

### ARTIGO ORIGINAL

#### **Efeitos de um programa de reabilitação pulmonar de longa duração sobre a capacidade funcional e o perfil inflamatório em idosos com DPOC: série de casos.**

Fabíola C. O. S. Vieira <sup>a</sup>, Daniele S. Pereira <sup>b</sup>, Thacianna B. Costa <sup>c</sup>, Rilda C. A. Souza <sup>a</sup>,  
Célia M. M. B. Castro <sup>c</sup>, Arméle Dornelas de Andrade <sup>d</sup>, Patrícia E. M. Marinho <sup>a, d, \*</sup>.

<sup>a</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.  
Recife - Pernambuco, Brazil.

<sup>b</sup> Escola de Enfermagem – Curso de Fisioterapia da Universidade Federal de Alfenas- Minas Gerais, Brazil.

<sup>c</sup> Laboratório de Imunopatologia Keizo Assami, Universidade Federal de Pernambuco, Recife - Pernambuco, Brasil.

<sup>d</sup> Laboratório de Fisioterapia Cardiopulmonar, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife - Pernambuco, Brasil.

#### Corresponding author:

Patrícia Érika de Melo Marinho

Department of Physical Therapy, Cardiopulmonary Physical Therapy Laboratory,  
Universidade Federal de Pernambuco

Av. Jornalista Aníbal Fernandes, s/n - Cidade Universitária

Recife – PE, Brazil, CEP: 50740-560.

*E-mail:* patricia.marinho@ufpe.br / patmarinho@yahoo.com.br

Phone number: +55 81 21268496

Fax number: +55 81 21268491

## 1.1 Resumo

**Objetivo:** Avaliar os efeitos de um programa de reabilitação pulmonar (PRP) de longa duração sobre a capacidade funcional, força muscular inspiratória (Pimáx), a qualidade de vida (SGRQ) e os níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$ , sTNFR1, sTNFR2, IL-1 $\beta$  e BDNF em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC).

**Método:** Pacientes com DPOC que realizaram PRP de 6 meses, três sessões semanais de 80 minutos de duração, tiveram avaliados a distância percorrida (DP) através do teste de caminhada de seis minutos, a Pimáx, SGRQ e os níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$ , sTNFR1, sTNFR2, IL-1 $\beta$  e BDNF ao início e ao final do programa.

**Resultados:** Dos 7 pacientes que concluíram o PRP e tiveram avaliados os marcadores, observou-se melhora na DP (ganho 26 a 331m) e na Pimáx para a maior parte dos pacientes. Houve melhora dos domínios impacto e total para todos e dos sintomas e atividade para a maior parte deles ao final do PRP. Os níveis de BDNF reduziram enquanto o TNF- $\alpha$ , sTNFR1, sTNFR2 e IL-1 $\beta$  aumentaram em alguns pacientes ao final do PRP.

**Conclusão:** O PRP de seis meses de duração melhorou a capacidade funcional, a Pimáx e a qualidade de vida para a maior parte dos pacientes se mostrando eficaz. Os marcadores da inflamação mostraram comportamento variado ao final do estudo, apresentando melhora sobre os níveis de sTNFR2 e BDNF após o PRP.

.

**Keywords:** citocinas, inflamação, obstrução crônica ao fluxo aéreo, qualidade de vida, treinamento muscular respiratório.

Short title

**PRP e inflamação na DPOC**

## 1.2 Introdução

Mediadores inflamatórios como fator de necrose tumoral alpha (TNF- $\alpha$ ) e seus receptores solúveis (sTNFR1 e sTNFR2), interleucina (IL)-1 $\beta$ , IL-6, e proteínas da fase aguda, como fibrinogênio e proteína C reativa, estão relacionadas a patogênese da doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC)<sup>1</sup>. O processo de inflamação crônica encontra-se relacionado à redução da massa e da força muscular, devido à ação catabólica das citocinas, especialmente o TNF- $\alpha$  <sup>2,3</sup>.

Estudos têm demonstrado que o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), uma neurotrofina envolvida em alterações sistêmicas em diferentes condições crônicas de saúde, como depressão<sup>4</sup> e doença de Alzheimer<sup>5</sup>, desempenha papel na fase aguda e em condições inflamatórias crônicas das vias aéreas <sup>6,7</sup>, como a DPOC<sup>6</sup>.

Evidências demonstraram que o exercício físico regular pode atenuar o processo inflamatório crônico ao induzir aumento sistêmico de citocinas com propriedades anti-inflamatórias <sup>8</sup>, como observado em indivíduos adultos e idosos, que aumentaram os níveis de IL-6 durante a contração muscular e esta foi acompanhado pela liberação das citocinas IL-1 $\alpha$ , IL-10, sTNFR1 e sTNFR2, conferindo ao exercício efeito anti-inflamatório <sup>8,9</sup>.

Considerando que a atividade física pode ter relação imunoreguladora no processo inflamatório crônico quando realizada de forma regular e moderada <sup>10,11</sup>, a participação em um programa de reabilitação pulmonar (PRP) individualizado pode proporcionar redução de sintomas e consequente melhora na qualidade de vida de pacientes com DPOC. Contudo, não foram encontrados estudos que investigassem os efeitos de um PRP sobre o perfil inflamatório desses pacientes. Assim, o presente estudo teve por objetivo avaliar a capacidade funcional e o comportamento dos níveis de TNF $\alpha$ , sTNFR1, sTNFR2, IL1 $\beta$  e BDNF em pacientes com DPOC em resposta a um programa de reabilitação pulmonar de longa duração.

### 1.3 Método

Estudo de intervenção do tipo antes e depois, piloto, desenvolvido no Laboratório de Fisioterapia Cardiopulmonar da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) entre 2010 e 2014. Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética institucional e todas as informações se encontram de acordo com a Declaração de Helsinki.

Foram incluídos no estudo nove indivíduos com diagnóstico de DPOC a partir da história clínica, exame físico e confirmação de obstrução através da relação do volume expiratório forçado no primeiro segundo e capacidade vital forçada ( $VEF_1/CVF$ )  $< 70\%$  do previsto, de acordo com o Global Initiative for Chronic Lung Disease (GOLD)<sup>12</sup>. Os critérios de exclusão para participação foram apresentar deficiência cognitiva, auditiva ou visual e alterações do aparelho neuro-musculoesquelético que impedissem a realização do programa.

*Teste de caminhada de 6 minutos (TC6min):* Realizados de acordo com as normas da American Thoracic Society (ATS)<sup>13</sup>. Ao final foram registradas a distância percorrida (DP) em metros, o tempo de duração de caminhada (TC) em segundos e o índice de percepção de esforço (IPE) através da escala de Borg<sup>14</sup>. Para cálculo da distância percorrida prevista, foram utilizadas as equações de referência oriundas do estudo de Enright e Sherril<sup>15</sup>.

*Força muscular inspiratória (Pimáx):* Mensurada a partir da capacidade residual funcional (Manovacuômetro digital MVD300, Globalmed, Brasil), de acordo com as normas da American Thoracic Society (ATS Respiratory Muscle testing)<sup>16</sup>.

*Dosagens do TNF- $\alpha$ , sTNFR1, sTNFR2, IL-1 $\beta$  e BDNF:* O sangue foi coletado para análise no período da manhã entre 8:00h - 9:30h, na avaliação inicial e aos seis meses do programa de treinamento, sendo armazenado em freezer (-2 °C e -8 °C) e analisado ao final do estudo. Foram utilizados os kits ELISA (TNF- $\alpha$ , sTNFR2 e IL  $\beta$ ) da Invitrogen, kit ELISA da EASIA (sTNFR1) e kit Duo Set da R&D Systems para o BDNF, e os valores expressos em picogramas por mililitros (pg/mL), conforme orientação dos fabricantes.

*Saint George Respiratory Questionnaire (SGRQ)*: Traduzido e validado para o Brasil para pacientes com DPOC<sup>17</sup>, esse questionário aborda os domínios sintomas, atividade, impacto e total. Alterações iguais ou maiores a 4% após uma intervenção indicam mudança significativa na qualidade de vida dos pacientes<sup>18</sup>.

*Teste de repetição máxima (1 RM)*: Desenvolvido em estação de musculação próprio, de acordo com Pereira e Gomes<sup>19</sup>. A prescrição da carga foi realizada entre 60% e 80% da RM para cada grupamento muscular ao longo do PRP e reajustada mensalmente.

*Teste incremental em esteira*: Realizado em esteira ergométrica a partir da adaptação do protocolo de Bendstrup<sup>20</sup>. Sobre a máxima velocidade obtida, foi acrescentado 75% desse valor para prescrição do treinamento, reajustada mensalmente.

*Programa de reabilitação pulmonar (PRP)*: Realizado 3 sessões semanais em dias alternados, com 80 minutos de duração por 6 meses, e programado individualmente, adequado às necessidades do paciente e limitado pelos sintomas, sendo composto dos seguintes itens:

- Exercícios de fortalecimento para membros superiores e inferiores: Realizado em aparelho de musculação, onde foram treinados grupos musculares dos membros superiores e inferiores e do tronco (flexão e extensão de cotovelo, adutores de ombro, costas, flexão e extensão de joelhos). Foram realizados 3 séries de 8 repetições para cada grupo muscular, com reajuste de carga mensal.
- Exercício aeróbico: Desenvolvido em esteira, sem inclinação, com velocidade inicial compatível com o prescrito a partir do teste incremental, com duração de 30 minutos.
- Treinamento muscular inspiratório (TMI): Introduzido a partir do 3º mês do PRP, e na presença de fraqueza muscular inspiratória. A carga prescrita para o treino foi de 30% do valor da Pimáx obtida e reajustada mensalmente. Os exercícios foram realizados diariamente e tiveram duração de 20 minutos

#### 1.4 Análise Estatística

A distribuição de normalidade foi realizada através do teste de Shapiro-Wilk e as variáveis numéricas expressas através das medidas de tendência central e dispersão. A comparação inicial e final entre as principais variáveis (DP, TC, IPE, Pimáx e os domínios do SGRQ) foi realizada através do teste t de Student para amostras independentes. A análise foi realizada no programa SPSS versão 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) e todos os testes foram aplicados com 95% de confiança, sendo adotado p valor  $< 0,05$ .

#### 1.5 Resultados

Dos nove pacientes que finalizaram o PRP não foram verificadas mudanças na DP e no TC, apenas a percepção do esforço apresentou melhora (antes:  $12,67 \pm 2,39$ , depois:  $10,00 \pm 1,41$ ,  $p = 0,015$ ). A Pimáx apresentou mudanças ao final do PRP (antes:  $72,33 \pm 25,92$  cmH<sub>2</sub>O, depois:  $100,56 \pm 25,54$  cmH<sub>2</sub>O,  $p = 0,007$ ).

Quanto ao SGRQ desses pacientes, os domínios atividade (antes:  $42,14 \pm 21,53$ , depois:  $27,74 \pm 21,41$ ,  $p = 0,024$ ), impacto (antes:  $26,06 \pm 16,28$ , depois:  $13,47 \pm 11,62$ ,  $p = 0,009$ ) e total (antes:  $31,29 \pm 15,74$ , depois:  $19,15 \pm 13,98$ ,  $p = 0,002$ ) apresentaram melhora ao final do programa.

O TNF- $\alpha$ , seus receptores, IL-1 $\beta$  e o BDNF foram analisados em sete dos nove pacientes que finalizaram o PRP, por perdas das amostras durante o programa. As características individuais dos sete pacientes se encontram descritas na tabela 2 e serão detalhadas abaixo. (Tabela 1)

##### *TC6min*

Cinco pacientes (3, 5, 7, 8 e 10) aumentaram a DP, seis apresentaram redução do IPE (3, 5, 7, 8, 10 e 11) e apenas um paciente (10) aumentou o TC no TC6min ao final do PRP. O ganho da DP variou entre 26m (paciente 3) a 331m (paciente 10) ao final do programa. Apenas um paciente apresentou queda da DP (paciente 9). (Tabela 2)

### *Força muscular inspiratória*

Em relação à Pimáx, houve melhora na maioria dos pacientes, onde apenas um deles (paciente 11) não conseguiu elevar esses valores ao final do PRP. (Tabela 2)

### *Marcadores da inflamação*

A maior parte dos pacientes apresentou aumento nos níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$  (3, 7, 8, 9, 10 e 11), sTNFR2 (3, 5, 7, e 11) e IL-1 $\beta$  (3, 5, 8, 9, 10 e 11) ao final do PRP. Apenas dois pacientes apresentaram níveis de sTNFR1 elevados (3 e 11) e todos os pacientes apresentaram diminuição dos níveis de BDNF. (Tabela 3)

### *SGRQ*

O PRP apresentou redução dos domínios impacto e total em todos os pacientes que finalizaram o programa. Para o domínio sintomas, quatro pacientes (5, 7, 9 e 10) apresentaram redução. Quanto ao domínio atividade, apenas um paciente (9) apresentou aumento, os demais apresentaram redução. (Tabela 4)

## **1.6 Discussão**

No presente estudo, seis meses de PRP promoveu melhora da capacidade funcional, força muscular inspiratória e qualidade de vida da maior parte dos pacientes com DPOC e reduziu os níveis plasmáticos de BDNF. Os demais marcadores biológicos analisados apresentaram comportamento variável entre os pacientes, com elevação dos níveis plasmáticos do TNF- $\alpha$ , sTNFR2 e IL-1 $\beta$  para a maior parte deles e do sTNFR1 apenas para alguns.

O TC6min reflete a capacidade funcional do paciente com DPOC e tem sido utilizado na avaliação desses pacientes após o PRP <sup>20,21,22</sup>, no entanto, evidências apontam que alguns pacientes não aumentam a DP <sup>21</sup>.

Os pacientes que finalizaram o PRP apresentaram melhora da DP em sua maioria, as quais foram acompanhadas de redução do IPE e manutenção, aumento ou diminuição do TC.

Para aqueles pacientes que diminuíram o TC, observa-se redução do IPE para aumentos da DP, o que reflete melhora do desempenho funcional e heterogeneidade na resposta a um programa de exercício, mesmo em pacientes clinicamente estáveis <sup>23</sup>.

Elevações nos níveis de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , como os apresentados pelos pacientes de nosso estudo podem causar anorexia e proteólise <sup>24</sup>, resultando em perda de massa muscular<sup>25</sup> e essa, pode ter sido significativa para o paciente que apresentou maior queda na DP após o PRP. Embora esse paciente apresentasse maior nível de obstrução das vias aéreas, menor IMC, maior uso de medicamentos, reduzido TC e aumento do IPE após o programa, os níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$  não estiveram entre os mais elevados em relação aos outros pacientes, o que nos faz pensar em outros fatores associados como a gravidade da obstrução, a depleção muscular, a reduzida tolerância ao esforço e possivelmente ao tipo de exercício, intensidade e duração do programa desenvolvido <sup>26</sup>.

Em se tratando do protocolo do presente estudo, o treino de força de moderada intensidade desenvolvido pode ter sido suficiente para manter elevados os níveis de TNF- $\alpha$ , considerando-se o descondicionamento físico apresentado pelos pacientes envolvidos no programa. Segundo Rabinovich et al, níveis elevados de TNF- $\alpha$  foram encontrados em pacientes com DPOC após programa de exercícios de *endurance* de moderada intensidade em comparação a indivíduos saudáveis, estando a resposta anormal ao exercício relacionada a intensidade e duração do exercício assim como, a intensidade induzindo dano muscular <sup>26</sup>.

Em relação aos receptores do TNF- $\alpha$ , esses se apresentaram elevados ao final do programa. Segundo evidências, a elevação desses receptores poderia representar a efetividade do programa de exercício desenvolvido para a regulação do processo inflamatório subjacente, uma vez que esses receptores possuem ação anti-inflamatória e teriam efeito protetor contra a perda de proteínas e consequentemente, bloqueio do TNF- $\alpha$  <sup>23</sup>. No entanto, a extrapolação desses resultados deve ser realizada com cautela, uma vez que a nossa amostra é

relativamente reduzida e existem poucas informações sobre a ação de programas de exercício em pacientes com DPOC que tenham avaliado a ação desses mediadores <sup>23</sup>.

Quanto ao BDNF, não existe consenso quanto aos efeitos de programas de exercício sobre os níveis plasmáticos desta neurotrofina <sup>27,28</sup>. Na asma e na DPOC, o BDNF é apontado como mediador chave no aumento da reatividade neuronal, com hiper-responsividade das vias aéreas <sup>29</sup> e aumento da proliferação das células do músculo liso dessas vias, contribuindo para alterações na estrutura e função das vias aéreas, assim como para o processo inflamatório da DPOC<sup>30</sup>. A redução dos níveis plasmáticos obtidos nesse estudo pode refletir os efeitos positivos do programa de exercício sobre a inflamação nesses pacientes.

Em idosos, devido ao processo de alto nível de inflamação <sup>31</sup>, o BDNF apresenta efeito protetor e está relacionado à neuroplasticidade e a redução de seus níveis pode estar conduzindo a depressão, a doenças neurodegenerativas e a fragilidade, esta última, requerendo estratégias de exercícios <sup>28</sup>. A resposta do BDNF a programas de exercício entre idosos são controversas, uma vez que esses níveis parecem depender da condição clínica do idoso, do tipo e intensidade do exercício assim como da resposta aguda ou crônica ao programa de exercício e dessa forma, a resposta entre os estudos podem variar entre aumento ou manutenção desses níveis <sup>27,28,32-36</sup>.

O uso prolongado de corticosteroides também pode ter contribuído para o desempenho do TC6min, uma vez que evidências demonstram a existência da miopatia pelo uso prolongado, como ocorre com a maior parte dos pacientes do presente estudo <sup>24,37,38</sup>.

Em relação ao treinamento muscular inspiratório (TMI) desenvolvido em nosso programa, observamos aumento da força muscular inspiratória ao final do treino. De acordo com os estudos de Vassilakopoulos *et al* <sup>39,40</sup>, o TMI foi suficiente para aumentar os níveis de citocinas quando prescrito a 75% da Pimáx em indivíduos saudáveis, diferentemente do comportamento dessas mesmas citocinas quando o treinamento foi realizado a 35% da Pimáx

nessa mesma população. Possivelmente, os 30% da Pimáx utilizados para o treinamento em nosso estudo tenha sido suficiente para manter elevados os níveis de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ao final do estudo.

No que diz respeito à qualidade de vida, foi observado melhora nos domínios impacto e total e considerável ganho no domínio atividades do SGRQ ao final do programa, a semelhança do estudo de Zanchet *et al* <sup>41</sup>, que também encontraram melhora nesses mesmos domínios. Embora os protocolos de reabilitação pulmonar apresentem variações em sua constituição e a duração, programas de seis <sup>41</sup>, doze <sup>42</sup> ou 24 semanas <sup>42</sup> apresentaram mudanças favoráveis ao final do tratamento.

Diante das limitações impostas pela doença, os pacientes com DPOC que se submetem a PRP apresentam melhoras em seu desempenho físico, os quais repercutem favoravelmente nos diversos domínios da qualidade de vida. No entanto, em nosso estudo, o domínio sintomas do SGRQ não apresentou mudanças ao final do programa.

Considerando a dispneia como o principal sintoma exibido por esses pacientes, talvez a intensidade dos exercícios desenvolvidos no PRP não tenha sido suficiente para promover mudanças na percepção deste sintoma ao final do programa. Os pacientes de nosso estudo apresentaram-se limitados pela dispneia durante o treino aeróbico e só puderam incrementar a intensidade do exercício a medida que se adaptaram ao longo dos meses.

Dentre as limitações apresentadas, o reduzido número de pacientes com DPOC que participaram do programa e a perda de algumas amostras plasmáticas durante o desenvolvimento do PRP, comprometeu a análise dos resultados por ter limitado o número de amostras a serem analisadas.

## **1.7 Conclusões**

Para finalizar, constatamos que o PRP de longa duração trouxe benefícios para a capacidade funcional, força muscular inspiratória e qualidade de vida, mas não foi suficiente

para reduzir os marcadores inflamatórios avaliados, embora tenha apresentado efeitos favoráveis sobre o sTNFR2 e o BDNF. Por se tratar de um estudo piloto, maior número de pacientes é necessário para se verificar o comportamento desses resultados assim como definir sobre a duração do PRP.

Direito de privacidade e consentimento informado: os autores obtiveram o consentimento informado de todos os indivíduos do estudo, os quais se encontram armazenados no LACAP, sob a responsabilidade dos pesquisadores.

#### **Conflito de interesses:**

As autoras declaram não existir conflito de interesses.

### **1.8 REFERÊNCIAS**

1. Stockley RA. Biomarkers in chronic obstructive pulmonary disease: confusing or useful? *Int J COPD*.2014; **9**:163–77.
2. Pennix, BWJH, Kritchevsky SB, Newman AB, Nicklas BJ, Simonsick EM, Rubin S, Nevitt M, Visser M, Harris T, Pahor M. Inflammatory markers and incident mobility limitation in the elderly. *J Am Geriatr Soc*. 2004; **52**(7):1105-1113.
3. Roubenoff R. Physical activity, inflammation, and muscle loss. *Nutrition Rev*. 2007; **65**: S208-S212.
4. Diniz, B S. Teixeira AL, Talib L L, Mendonca A, Gattaz W F, Forlenza O V. Serum brain-derived neurotrophic factor level is reduced in antidepressant-free patients with late-life depression. *The world journal of biological psychiatry*.2010;**11**: 550-555.
5. Diniz B S, Teixeira A L. Brain-derived neurotrophic factor and Alzheimer's disease: physiopathology and beyond. *Neuromolecular medicine*. 2011; **13**: 217-222.

6. Loza MJ, Watt R, Baribaud F, Barnathan ES, Rennard SI. Systemic inflammatory profile and response to anti-tumor necrosis factor therapy in chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory Research*. 2012; **13**:12.
7. Lommatzsch M, Schloetcke K, Klotz J, Schuhbaeck K, Zingler D, Zingler C, et al. Brain-derived neurotrophic factor in platelets and airflow limitation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; **171**:115–20.
8. Pedersen B K, Steensberg A, Schjerling P. Muscle-derived interleukin-6: possible biological effects. *Journal of Physiology*. 2001; **536**: 329-337.
9. Pedersen B K, Steensberg A, Keller P, Keller C, Fischer C, Hiscock N et al. Muscle-derived interleukin-6: lipolytic, anti-inflammatory and immune regulatory effects. *Pflügers Archiv*, 2003; **446**: 9-16
10. Pedersen BK. The diseasome of physical inactivity-and the role of myokines in muscle-fat cross talk. *J. physiol*. 2009; **587**:559-68.
11. Gleeson M. Immune function in sport and exercise. *J. Appl. Physiol*. 2007; **103**:693-699.
12. GLOBAL STRATEGY FOR THE DIAGNOSIS, MANAGEMENT, AND PREVENTION OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE (Updated 2016). 2016 Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, Inc.
13. ATS Statement: Guidelines for the Six-Minute Walk Test. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2002; **166**: 111-117.
14. Borg G. Ratings of perceived exertion and heart rates during short-term cycle exercise and their use in a new cycling strength test. *Intern. J. Sports Med*. 1982; **3**: 153-158.
15. Enright PL, Sherrill DL. Reference equations for the six-minute walk in healthy adults. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 1998; **158**:1384-1387.
16. ATS/ERS Statement on Respiratory Muscle Testing. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002; **166**: 518–624.

17. Souza T C, Jardim J R B., Jones P. Validação do Questionário do Hospital Saint George na Doença Respiratória em pacientes portadores de DPOC no Brasil. *Jornal de Pneumologia*. 2000; **16**: 119-125.
18. Schünemann HJ, Griffith L, Jaeschke R, Goldstein R, Stubbings D, Guyatt GH. Evaluation of the minimal important difference for the feeling thermometer and the St. George's Respiratory Questionnaire in patients with chronic airflow obstruction. *J. Clin. Epidemiol.* 2003; **56**:1170-6.
19. Pereira M I R, Gomes P S C. Muscular strength and endurance tests: reliability and prediction of one repetition maximum review and new evidences. *Rev Bras Med Esporte*. 2003; **9**: 336-346.
20. Bendstrup KE, Ingemann JJ, Holm S, Bengtsson B. Out-patient rehabilitation improves activities of daily living, quality of life and exercise tolerance in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* .1997; **10**: 2801-2806.
21. Ngaage D.L., Kirsteen H, Cowen M.E. The functional impact of an individualized, graded, outpatient pulmonary rehabilitation in end-stage chronic obstructive pulmonary disease. *Heart Lung*. 2004; **33**:381-89.
22. Vogiatzis I, Terzis G, Stratakos G, Cherouveim E, Athanasopoulos D, Spetsioti S. Effect of Pulmonary Rehabilitation on Peripheral Muscle Fiber Remodeling in Patients with COPD in GOLD Stages II to IV. *Chest*. 2011; **140**:744–752.
23. Spruit MA, Gosselink R, Troosters T, Kasran A, Vliet MV, Decramer M. Low-grade systemic inflammation and the response to exercise training in patients with advanced COPD. *Chest*.2005; **128**:3183-3190.
24. Dourado VZ, Tanni SE, Vale AS, Faganello MM, Sanchez F.F. Godoy I. Systemic manifestations in chronic obstructive pulmonary disease. *J. Bras. Pneumol*. 2006; **32**: 161-171.

25. Cielen N, Maes K., Gayan-Ramirez G. Musculoskeletal Disorders in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *BioMed Research International*. 2014; Article ID 965764, 17.
26. Rabinovich RA, Figueras M, Ardite E, Carbo N, Troosters T, Filella X, et al. Increased tumour necrosis factor-alpha plasma levels during moderate-intensity exercise in COPD patients. *Eur Respir J*. 2003; **21**: 789–794.
27. Zoladz JA, Pilc A. The effect of physical activity on the brain derived neurotrophic factor: from animal to human studies. *J Physiol Pharmacol*. 2010; **61**:533-541.
28. Forti LN, Njemini R, Beyer I, Eelbode E, Meeusen R, Mets T, et al. Strength training reduces circulating interleukin-6 but not brain derived neurotrophic factor in community-dwelling elderly individuals. *Age (Dordr)*. 2014;**36**(5):9704.
29. Lommatzsch M, Niewerth A, Klotz J, Schulte-Herbrüggen O, Zingler C, Schuff-Werner P, et al. Platelet and plasma BDNF in lower respiratory tract infections of the adult. *Respiratory Medicine*. 2007; **101**: 1493–1499.
30. Aravamudan B, Thompson M, Pabelick C, Prakash YS. Brain-derived neurotrophic factor induces proliferation of human airway smooth muscle cells. *J. Cell. Mol. Med*. 2012; **16**: 812-823.
31. Krabbe KS, Pedersen M, Bruunsgaard H. Inflammatory mediators in the elderly. *Experimental Gerontology*. 2004; **39**:687–699.
32. Seifert T, Brassard P, Wissenberg M, Rasmussen P, Nordby P, Stallknecht B, et al. Endurance training enhances BDNF release from the human brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010; **298**:372-7.
33. Coelho FM, Pereira DS, Lustosa LP, Silva JP, Dias JM, Dias RC, et al. Physical therapy intervention (PTI) increases plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in non-frail and pre-frail elderly women. *Arch Gerontol Geriatr*. 2012;**54**:415-20.

34. Pereira DS, Queiroz BZ, Miranda AS, Rocha NP, Felício DC, Mateo EC et al. Effects of physical exercise on plasma levels of brain-derived neurotrophic factor and depressive symptoms in elderly women--a randomized clinical trial. *Arch Phys Med Rehabil.* 2013; **94**:1443-50.
35. Yarrow JF, Branca LJ, McCoy SC, Borst SE. Training augments resistance exercise induced elevation of circulating brain derived neurotrophic factor BDNF. *Letters.* 2010; **479**: 161-165.
36. Rasmussen P, Brassard P, Adser H, Pedersen MV, Leick L, Hart E, et al. Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise. *Exp. Physiol.* 2009; **94**:1062–1069.
37. Gosselink R, Troosters T, Decramer M. Peripheral muscle weakness contributes to exercise limitation in COPD. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996; **15**:976-80.
38. Decramer M, Gosselink R, Troosters T, Verschueren M, Evers G. Muscle weakness is related to utilization of health care resources in COPD patients. *Eur. Respir. J.* 1997; **10**: 417-423.
39. Vassilakopoulos T, Zakynthinos S, Roussos C. Strenuous resistive breathing induces proinflammatory cytokines and stimulates the HPA axis in humans. *Am. J. Physiol.* 1999; **277**:R1013-R1019.
40. Vassilakopoulos T, Katsaounou P, Karatza MH, Kollintza A, Zakynthinos S, Roussos C. Strenuous resistive breathing induces plasma cytokines: role of antioxidants and monocytes. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; **166**: 1572-8.

41. Zanchet RC, Viegas CAA, Lima, T. Efficacy of pulmonary rehabilitation: exercise capacity, respiratory muscle strength and quality of life in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J. Bras. Pneumol.* 2005; **31**: 118-124
42. Lan CC, Yang MC, Lee CH, Huang YC, Huang CY, Huang KL, et al . Pulmonary rehabilitation improves exercise capacity and quality of life in underweight patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respirology.* 2011; **16**: 276-283.
43. Gosselink R, Troosters T, Decramer M. Short- and long-term effects of outpatient rehabilitation in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a randomized trial. *Am. J. Med.* 2000; **9**:207-212.

Tabela 1. Características clínicas, antropométricas, medicamentos e carga tabágica dos pacientes com DPOC que participaram do estudo.

| Pct | Idade | Sexo | Carga    |      |       |       |                    |                       |        |     |      |       | BD+Cort | BD+antiC |
|-----|-------|------|----------|------|-------|-------|--------------------|-----------------------|--------|-----|------|-------|---------|----------|
|     |       |      | tabágica | GOLD | IMC   | CVF%  | VEF <sub>1</sub> % | VEF <sub>1</sub> /CVF | Comorb | BD  | Cort | AntiC |         |          |
| 3   | 79    |      | 0        | 1    | 21,7  | 119   | 84                 | 68,7                  | 2 +    |     |      |       | sim     |          |
| 5   | 63    |      | 16       | 3    | 26,15 | 52    | 33                 | 51                    | 2 +    | sim |      |       | sim     |          |
| 7   | 65    | M    | 50       | 3    | 31,06 | 58,78 | 47,45              | 63                    | 0 a 1  | sim |      | sim   | sim     |          |
| 8   | 65    | M    | 48       | 3    | 22,68 | 62    | 40                 | 50                    | 0 a 1  |     |      | sim   |         |          |
| 9   | 61    | M    | 86       | 4    | 20,43 | 38    | 18                 | 38                    | 2 +    |     |      | sim   | sim     | sim      |
| 10  | 65    | M    | 28       | 4    | 21,8  | 45    | 21                 | 38                    | 0 a 1  |     | sim  |       | sim     |          |
| 11  | 60    | M    | 96       | 4    | 22,19 | 46,2  | 25,1               | 41,4                  | 2 +    |     |      | sim   | sim     |          |

Pct: paciente; Idade: anos; Sexo: M: masculino, F: feminino; carga tabágica: maços-ano; GOLD: Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease; IMC: índice de massa corporal (Kg/m<sup>2</sup>); CVF%: capacidade vital forçada percentual do previsto; VEF<sub>1</sub>%: volume expiratório forçado no primeiro segundo percentual do previsto; VEF<sub>1</sub>/CVF: relação VEF<sub>1</sub>/CVF; Comorb: número de comorbidades; BD: broncodilatador; Cort.: corticosteroide ; AntiC: anticolinérgico; BD+Cort: broncodilatador mais corticosteroide; BD+AntiC: broncodilatador mais anticolinérgico.

Tabela 2. Características iniciais e finais do TC6min e da força muscular respiratória dos sete pacientes com DPOC que realizaram o PRP.

| Pct | DP<br>(m) | Inicial | DP<br>(m) | Final | % DP  | TC<br>(s) | Inicial | TC<br>(s) | Final | IPE Inicial | IPE Final | Pimáx<br>(cmH <sub>2</sub> O) | Inicial | Pimáx<br>(cmH <sub>2</sub> O) | Final |
|-----|-----------|---------|-----------|-------|-------|-----------|---------|-----------|-------|-------------|-----------|-------------------------------|---------|-------------------------------|-------|
| 3   | 510       |         | 536       |       | 133,4 | 360       |         | 360       |       | 9           | 8         | - 68                          |         | - 101                         |       |
| 5   | 432       |         | 503       |       | 86,7  | 360       |         | 360       |       | 15          | 10        | - 97                          |         | - 111                         |       |
| 7   | 238       |         | 306       |       | 53,2  | 198       |         | 185       |       | 15          | 10        | - 60                          |         | - 85                          |       |
| 8   | 415       |         | 511       |       | 73,9  | 360       |         | 360       |       | 13          | 9         | - 43                          |         | - 65                          |       |
| 9   | 609       |         | 473       |       | 112,3 | 360       |         | 250       |       | 12          | 13        | - 68                          |         | - 101                         |       |
| 10  | 218       |         | 549       |       | 40,9  | 195       |         | 360       |       | 15          | 9         | - 103                         |         | - 139                         |       |
| 11  | 469       |         | 431       |       | 89,9  | 360       |         | 360       |       | 14          | 11        | - 110                         |         | - 105                         |       |

Pct: paciente; DP: distância percorrida (em metros); %DP: percentual previsto da distancia percorrida; TC: tempo de duração do TC6min (em segundos); IPE: índice de percepção de esforço; Pimáx: força muscular inspiratória (em centímetros de água).

Tabela 3. Características iniciais e finais do TNF- $\alpha$ , sTNFR1, sTNFR2, Il-1  $\beta$  e BDNF dos sete pacientes com DPOC que realizaram o PRP.

| Pct | TNF $\alpha$ Inicial<br>(pg/mL) | TNF $\alpha$ Final<br>(pg/mL) | R1 Inicial<br>(pg/mL) | R1 Final<br>(pg/mL) | R2 Inicial<br>(pg/mL) | R2 Final<br>(pg/mL) | Il-1 $\beta$ Inicial<br>(pg/mL) | Il-1 $\beta$ Final<br>(pg/mL) | BDNF Inicial<br>(pg/mL) | BDNF Final<br>(pg/mL) |
|-----|---------------------------------|-------------------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|---------------------------------|-------------------------------|-------------------------|-----------------------|
| 3   | 62,25                           | 135,00                        | 87,65                 | 87,80               | 25,15                 | 26,27               | 18,73                           | 75,68                         | 11,790                  | 8,972                 |
| 5   | 77,50                           | 47,50                         | 87,60                 | 87,49               | 31,88                 | 50,71               | 29,64                           | 45,79                         | 13,380                  | 11,000                |
| 7   | 72,50                           | 122,25                        | 87,56                 | 87,56               | 29,86                 | 56,54               | 51,85                           | 44,58                         | 12,030                  | 11,440                |
| 8   | 113,75                          | 116,25                        | 87,63                 | 87,58               | 80,08                 | 31,43               | 9,85                            | 30,04                         | 11,810                  | 10,770                |
| 9   | 53,75                           | 55,00                         | 87,61                 | 87,56               | 130,98                | 52,51               | 29,24                           | 48,22                         | 13,350                  | 13,010                |
| 10  | 56,25                           | 118,75                        | 87,60                 | 87,62               | 44,88                 | 38,83               | 11,47                           | 27,62                         | 12,530                  | 10,530                |
| 11  | 47,50                           | 107,50                        | 87,68                 | 87,75               | 36,36                 | 44,43               | 41,76                           | 55,49                         | 13,130                  | 10,410                |

TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral alfa; sTNFR1: receptor 1 do fator de necrose tumoral alfa; sTNFR2: receptor 2 do fator de necrose tumoral alfa; Il-1 $\beta$ : interleucina 1 beta; BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro.

Tabela 4. Características iniciais e finais dos domínios do *Saint George Respiratory Questionnaire* (SGRQ) dos sete pacientes com DPOC que realizaram o PRP.

|            | <b>Sintomas</b> |              | <b>Impacto</b> |              | <b>Atividade</b> |              | <b>Total</b>   | <b>Total</b> |
|------------|-----------------|--------------|----------------|--------------|------------------|--------------|----------------|--------------|
| <b>Pct</b> | <b>Inicial</b>  | <b>Final</b> | <b>Inicial</b> | <b>Final</b> | <b>Inicial</b>   | <b>Final</b> | <b>Inicial</b> | <b>Final</b> |
| 3          | 6,32            | 6,30         | 10,80          | 6,58         | 17,00            | 5,96         | 11,94          | 6,58         |
| 5          | 37,49           | 24,92        | 12,99          | 9,99         | 54,26            | 23,24        | 29,57          | 11,49        |
| 7          | 28,77           | 23,60        | 42,88          | 31,44        | 69,77            | 66,09        | 48,60          | 40,64        |
| 8          | 6,32            | 12,90        | 24,34          | 6,99         | 41,48            | 23,17        | 26,54          | 13,02        |
| 9          | 62,63           | 50,04        | 47,82          | 15,93        | 41,71            | 47,56        | 47,80          | 30,68        |
| 10         | 33,14           | 6,32         | 28,57          | 14,86        | 66,15            | 29,23        | 40,72          | 17,80        |
| 11         | 41,42           | 44,58        | 42,54          | 32,43        | 53,49            | 43,28        | 45,67          | 37,74        |

Pct: paciente.

## **Apêndice-B**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Av. Prof. Moraes Rêgo, s/n- Cidade Universitária- Recife/PE

CEP: 50670-420 – Tel.: (81) 2126.3984 – Fax: 3453.3675

### **TERMO DE COMPROMISSO E CONFIDENCIALIDADE**

**Título do projeto: EFEITOS DA REABILITAÇÃO PULMONAR SOBRE OS NÍVEIS DE TNF- $\alpha$ , TNFR1, TNFR2, IL1 $\beta$  E BDNF EM PACIENTES COM DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA.**

**Pesquisador responsável:** Fabíola Cássia de Oliveira Silva Vieira.

**Instituição/Departamento de origem do pesquisador:** Centro de Ciências da Saúde-UFPE. Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da UFPE.

**Telefone para contato:** (81) 9242-2384

**E-mail:** fabiolacassia@yahoo.com.br

A pesquisadora do projeto acima identificada assume o compromisso de:

- Preservar o sigilo e a privacidade dos voluntários cujos dados (informações de prontuários e materiais biológicos) serão estudados;
- Assegurar que as informações e materiais biológicos serão utilizados, única e exclusivamente, para a execução do projeto em questão;
- Assegurar que os resultados da pesquisa somente serão divulgados de forma anônima, não sendo usadas iniciais ou quaisquer outras indicações que possam identificar o voluntário da pesquisa. A pesquisadora declara que os dados coletados nesta pesquisa, ficarão armazenados em computador pessoal, sob a responsabilidade da pesquisadora, no endereço acima informado, pelo período de mínimo 5 anos. A Pesquisadora declara, ainda, que a pesquisa só será iniciada após a avaliação e aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa

Envolvendo Seres Humanos, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Pernambuco – CEP/CCS/UFPE.

Recife, 17 de novembro de 2014.



**Assinatura Pesquisador Responsável**

## Apêndice- C



### CARTA DE ANUÊNCIA

Declaramos para os devidos fins, que aceitaremos a pesquisadora Fabíola Cássia de Oliveira Silva Vieira, a desenvolver o seu projeto de pesquisa “Efeitos da reabilitação pulmonar sobre os níveis de TNF- $\alpha$ , TNFR1, TNFR2, IL1 $\beta$  e BDNF em pacientes com Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica”, que está sob orientação e coordenação da Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Patrícia Érika de Melo Marinho e Co-Orientação da Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Daniele Sirineu Pereira cujo objetivo é avaliar os efeitos de um programa de reabilitação pulmonar sobre os níveis séricos de TNF- $\alpha$ , TNFR1, TNFR2, IL1- $\beta$  e BDNF em pacientes com DPOC, no Laboratório de Microbiologia Clínica do LIKA da Universidade Federal de Pernambuco.

A aceitação está condicionada ao cumprimento da pesquisadora aos requisitos da Resolução 466/12 e suas complementares, comprometendo-se a utilizar os dados e materiais coletados, exclusivamente para os fins da pesquisa.

Recife, em 17 / novembro / 2014.

A handwritten signature in blue ink, reading "Célia Maria Machado B. de Castro".

---

Dr<sup>a</sup> Célia Maria Machado Barbosa de Castro.  
Chefe do Laboratório de Microbiologia Clínica.

## Apêndice-D



### CARTA DE ANUÊNCIA

Declaramos para os devidos fins, que aceitaremos a pesquisadora Fabíola Cássia de Oliveira Silva Vieira, a desenvolver o seu projeto de pesquisa “Efeitos da reabilitação pulmonar sobre os níveis de TNF- $\alpha$ , TNFR1, TNFR2, IL1 $\beta$  e BDNF em pacientes com Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica”, que está sob orientação e coordenação da Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Patrícia Érika de Melo Marinho e Co-Orientação da Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Daniele Sirineu Pereira cujo objetivo é avaliar os efeitos de um programa de reabilitação pulmonar sobre os níveis séricos de TNF- $\alpha$ , TNFR1, TNFR2, IL1- $\beta$  e BDNF em pacientes com DPOC, no Laboratório de Fisioterapia Cardiopulmonar da Universidade Federal de Pernambuco.

A aceitação está condicionada ao cumprimento da pesquisadora aos requisitos da Resolução 466/12 e suas complementares, comprometendo-se a utilizar os dados e materiais coletados, exclusivamente para os fins da pesquisa.

Recife, em 24/ 11 / 2014.

---

Dr<sup>a</sup> Arméle Dornelas de Andrade  
Chefe do laboratório de Fisioterapia Cardiopulmonar

## Apêndice- E



### AUTORIZAÇÃO DE USO DE DADOS

Declaramos para os devidos fins, que cederemos à pesquisadora Fabíola Cássia de Oliveira Silva Vieira, o acesso aos dados e materiais biológicos para serem utilizados na pesquisa: Efeitos da reabilitação pulmonar sobre os níveis de TNF- $\alpha$ , TNFR1, TNFR2, IL1 $\beta$  e BDNF em pacientes com Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, que está sob a orientação da Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Patrícia Érika de Melo Marinho e Co-Orientação da Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Daniele Sirineu Pereira.

Esta autorização está condicionada ao cumprimento da pesquisadora aos requisitos da Resolução 466/12 e suas complementares, comprometendo-se a mesma a utilizar os dados pessoais dos sujeitos da pesquisa, exclusivamente para os fins científicos, mantendo o sigilo e garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou das comunidades.

---

Dr.<sup>a</sup> Célia Maria Machado Barbosa de Castro.  
Chefe do Laboratório de Microbiologia Clínica.

## Apêndice - F



### AUTORIZAÇÃO DE USO DE DADOS

Declaramos para os devidos fins, que cederemos à pesquisadora Fabíola Cássia de Oliveira Silva Vieira, o acesso às bases de dados de pesquisa e prontuários para serem utilizados na pesquisa: Efeitos da reabilitação pulmonar sobre os níveis de TNF- $\alpha$ , TNFR1, TNFR2, IL1 $\beta$  e BDNF em pacientes com Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, que está sob a Orientação da Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Patrícia Érika de Melo Marinho e Co-Orientação da Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Daniele Sirineu Pereira.

Esta autorização está condicionada ao cumprimento da pesquisadora aos requisitos da Resolução 466/12 e suas complementares, comprometendo-se a mesma a utilizar os dados pessoais dos sujeitos da pesquisa, exclusivamente para os fins científicos, mantendo o sigilo e garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou das comunidades.

---

Dr<sup>a</sup> Arméle Dornelas de Andrade  
Chefe do laboratório de Fisioterapia Cardiopulmonar

## ANEXOS

---

# ANEXO I – QUESTIONÁRIO DO HOSPITAL SAINT GEORGE NA DOENÇA RESPIRATÓRIA(SGRQ).

Sousa TC, Jardim JR, Jones P

## Questionário do Hospital Saint George na Doença Respiratória (SGRQ)\*

\* Esse questionário foi traduzido e validado no Brasil por Thais Costa de Sousa, José Roberto Jardim e Paul Jones

Este questionário nos ajuda a compreender até que ponto a sua dificuldade respiratória o perturba e afeta a sua vida. Nós o utilizamos para descobrir quais os aspectos da sua doença que causam mais problemas. Estamos interessados em saber o que você sente e não o que os médicos, enfermeiras e fisioterapeutas acham que você sente. Leia atentamente as instruções. Esclareça as dúvidas que tiver. Não perca muito tempo nas suas respostas.

### Parte 1

- ♦ Nas perguntas abaixo, assinale aquela que melhor identifica seus problemas respiratórios nos últimos 3 meses.
- ♦ *Obs.: Assinale um só quadrado para as questões de 01 a 08:*

|                                                                                                                                           | Maioria dos dias da semana (5-7 dias) | Vários dias na semana (2-4 dias) | Alguns dias no mês       | Só com infecções respiratórias | Nunca                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|--------------------------|--------------------------------|--------------------------|
| 1) durante os últimos 3 meses tosse                                                                                                       | <input type="checkbox"/>              | <input type="checkbox"/>         | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/>       | <input type="checkbox"/> |
| 2) durante os últimos 3 meses tive catarro                                                                                                | <input type="checkbox"/>              | <input type="checkbox"/>         | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/>       | <input type="checkbox"/> |
| 3) durante os últimos 3 meses tive falta de ar                                                                                            | <input type="checkbox"/>              | <input type="checkbox"/>         | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/>       | <input type="checkbox"/> |
| 4) durante os últimos 3 meses tive "chiado no peito"                                                                                      | <input type="checkbox"/>              | <input type="checkbox"/>         | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/>       | <input type="checkbox"/> |
| 5) Durante os últimos 3 meses, quantas vezes você teve crises graves de problemas respiratórios:                                          |                                       |                                  |                          |                                |                          |
| mais de 3                                                                                                                                 | 3                                     | 2                                | 1                        | nenhuma                        |                          |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                  | <input type="checkbox"/>              | <input type="checkbox"/>         | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/>       |                          |
| 6) Quanto tempo durou a pior dessas crises?<br>(passe para a pergunta 7 se não teve crises graves)                                        |                                       |                                  |                          |                                |                          |
| 1 semana ou mais                                                                                                                          | 3 ou mais dias                        | 1 ou 2 dias                      | menos de 1 dia           |                                |                          |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                  | <input type="checkbox"/>              | <input type="checkbox"/>         | <input type="checkbox"/> |                                |                          |
| 7) Durante os últimos 3 meses, em uma semana considerada como habitual, quantos dias bons (com poucos problemas respiratórios) você teve: |                                       |                                  |                          |                                |                          |
| nenhum dia                                                                                                                                | 1 ou 2 dias                           | 3 ou 4 dias                      | quase todos os dias      | todos os dias                  |                          |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                  | <input type="checkbox"/>              | <input type="checkbox"/>         | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/>       |                          |
| 8) Se você tem "chiado no peito", ele é pior de manhã?                                                                                    |                                       |                                  |                          |                                |                          |
| Não                                                                                                                                       | Sim                                   |                                  |                          |                                |                          |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                  | <input type="checkbox"/>              |                                  |                          |                                |                          |

### • Parte 2

#### ♦ Seção 1

A) Assinale um só quadrado para descrever a sua doença respiratória:

| É o meu maior problema   | Me causa muitos problemas | Me causa alguns problemas | Não me causa nenhum problema |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/>  | <input type="checkbox"/>  | <input type="checkbox"/>     |

B) Se você já teve um trabalho pago, assinale um dos quadrados:

|                                                                                                                      |  |                          |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--------------------------|
| - minha doença respiratória me obrigou a parar de trabalhar                                                          |  | <input type="checkbox"/> |
| - minha doença respiratória interfere (ou interferiu) com o meu trabalho normal ou já me obrigou a mudar de trabalho |  | <input type="checkbox"/> |
| - minha doença respiratória não afeta (ou não afetou) o meu trabalho                                                 |  | <input type="checkbox"/> |

ã

ã ♦ Seção 2

As perguntas abaixo referem-se às atividades que normalmente têm provocado falta de ar em você nos últimos dias. Assinale com um "x" no quadrado de cada pergunta abaixo, indicando a resposta *Sim* ou *Não*, de acordo com o seu caso:

|                                                             | Sim                      | Não                      |
|-------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| - sentado/a ou deitado/a                                    | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - tomando banho ou vestindo                                 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - caminhando dentro de casa                                 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - caminhando em terreno plano                               | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - subindo um lance de escada                                | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - subindo ladeiras                                          | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - praticando esportes ou jogos que impliquem esforço físico | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

♦ Seção 3

Mais algumas perguntas sobre a sua tosse e a sua falta de ar nos últimos dias. Assinale com um "x" no quadrado de cada pergunta abaixo, indicando a resposta *Sim* ou *Não*, de acordo com o seu caso:

|                                                      | Sim                      | Não                      |
|------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| - minha tosse me causa dor                           | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - minha tosse me cansa                               | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - tenho falta de ar quando falo                      | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - tenho falta de ar quando dobro o corpo para frente | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - minha tosse ou falta de ar perturba meu sono       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - fico exausto/a com facilidade                      | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

♦ Seção 4

Perguntas sobre outros efeitos causados pela sua doença respiratória nos últimos dias. Assinale com um "x" no quadrado de cada pergunta abaixo, indicando a resposta *Sim* ou *Não*, de acordo com o seu caso:

|                                                                                          | Sim                      | Não                      |
|------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| - minha tosse ou falta de ar me deixam envergonhado/a em público                         | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - minha doença respiratória é inconveniente para a minha família, amigos ou vizinhos     | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - tenho medo ou mesmo pânico quando não consigo respirar                                 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - sinto que minha doença respiratória escapa ao meu controle                             | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - eu não espero nenhuma melhora da minha doença respiratória                             | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - minha doença me debilitou fisicamente, o que faz com que eu precise da ajuda de alguém | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - fazer exercício é arriscado para mim                                                   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - tudo o que faço parece ser um esforço muito grande                                     | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

♦ Seção 5

A) Perguntas sobre a sua medicação. Assinale com um "x" no quadrado de cada pergunta abaixo, indicando a resposta *Sim* ou *Não*, de acordo com o seu caso:

*[Início para a Seção 6 se não toma medicamentos]*

|                                                               | Sim                      | Não                      |
|---------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| - minha medicação não está me ajudando muito                  | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - fico envergonhado/a ao tomar medicamentos em público        | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - minha medicação me provoca efeitos colaterais desagradáveis | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - minha medicação interfere muito com o meu dia-a-dia         | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Sousa TC, Jardim JR, Jones P

ã ♦ Seção 6

As perguntas seguintes se referem às atividades que podem ser afetadas pela sua doença respiratória. Assinale com um "x" no quadrado de cada pergunta abaixo, indicando a resposta *Sim* se pelo menos uma parte da frase corresponde ao seu caso; se não, assinale *Não*.

|                                                                                                                                                                            | Sim                      | Não                      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| – levo muito tempo para me lavar ou me vestir                                                                                                                              | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| – demoro muito tempo ou não consigo tomar banho de chuveiro ou na banheira                                                                                                 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| – ando mais devagar que as outras pessoas, ou tenho que parar para descansar                                                                                               | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| – demoro muito tempo para realizar as tarefas como o trabalho da casa, ou tenho que parar para descansar                                                                   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| – quando subo um lance de escada, vou muito devagar, ou tenho que parar para descansar                                                                                     | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| – se estou apressado/a ou caminho mais depressa, tenho que parar para descansar ou ir mais devagar                                                                         | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| – por causa da minha doença respiratória, tenho dificuldade para fazer atividades como: subir ladeiras, carregar objetos subindo escadas, dançar                           | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| – por causa da minha doença respiratória, tenho dificuldades para fazer atividades como: carregar grandes pesos, fazer "cooper", andar muito rápido ou nadar               | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| – por causa da minha doença respiratória, tenho dificuldade para fazer atividades como: trabalho manual pesado, correr, nadar rápido ou praticar esportes muito cansativos | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

♦ Seção 7

A) Assinale com um "x" no quadrado de cada pergunta abaixo, indicando a resposta *Sim* ou *Não*, para indicar outras atividades que geralmente podem ser afetadas pela sua doença respiratória no seu dia-a-dia: (não se esqueça que *Sim* só se aplica ao seu caso quando você não puder fazer essa atividade devido à sua doença respiratória).

|                                                           | Sim                      | Não                      |
|-----------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| – praticar esportes ou jogos que impliquem esforço físico | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| – sair de casa para me divertir                           | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| – sair de casa para fazer compras                         | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| – fazer o trabalho da casa                                | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| – sair da cama ou da cadeira                              | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

B) A lista seguinte descreve uma série de outras atividades que o seu problema respiratório pode impedir você de realizar (você não tem que assinalar nenhuma das atividades, pretendemos apenas lembrá-lo das atividades que podem ser afetadas pela sua falta de ar).

|                                                                    |
|--------------------------------------------------------------------|
| – Passear a pé ou passear com o seu cachorro                       |
| – fazer o trabalho doméstico ou jardinagem                         |
| – ter relações sexuais                                             |
| – ir à igreja, bar ou a locais de diversão                         |
| – sair com mau tempo ou permanecer em locais com fumaça de cigarro |
| – visitar a família e os amigos ou brincar com as crianças         |

Por favor, escreva qualquer outra atividade importante que sua doença respiratória pode impedir você de fazer:

---



---



---

C) Assinale com um "x" somente a resposta que melhor define a forma como você é afetado/a pela sua doença respiratória:

|                                                                      |                          |
|----------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| – não me impede de fazer nenhuma das coisas que eu gostaria de fazer | <input type="checkbox"/> |
| – me impede de fazer uma ou duas coisas que eu gostaria de fazer     | <input type="checkbox"/> |
| – me impede de fazer a maioria das coisas que eu gostaria de fazer   | <input type="checkbox"/> |
| – me impede de fazer tudo o que eu gostaria de fazer                 | <input type="checkbox"/> |

Obrigado por responder ao questionário. Antes de terminar, verifique se você respondeu a todas as perguntas.

## ANEXO II - MINIEXAME DO ESTADO MENTAL

Nome:

Idade:

Data da avaliação:

MINI-MENTAL.....(        )

### Orientação Temporal

Que dia é hoje? (    ) 1  
ponto

Em que mês estamos? (    ) 1  
ponto

Em que ano estamos? (    ) 1  
ponto

Em que dia da semana estamos? (    ) 1  
ponto

Qual a hora aproximada ?(considere a variação de mais ou menos uma hora) (    ) 1  
ponto

### Orientação Espacial

Em que local nós estamos? (consultório, dormitório, sala - apontando para o chão)  
(    ) 1 ponto

Que local é este aqui? (apontando ao redor num sentido mais amplo: hospital, abrigo)  
(    ) 1 ponto

Em que bairro/ Rua próxima nós estamos?  
(    ) 1 ponto

Em que cidade nós estamos?  
(    ) 1 ponto

Em que Estado nós estamos? (    ) 1 ponto

Memória imediata: *Eu vou dizer 3 palavras e você irá repeti-las a seguir:* CARRO (1), VASO (1), TIJOLO (1) ou GELO (1), LEÃO (1) e PLANTA (1)

( ) 3 pontos

Cálculo (5):  $100 - 7 = 93 - 7 = 86 - 7 = 79 - 7 = 72 - 7 = 65$  (*considerar 1 ponto para cada resultado*)

( ) ou MUNDO=ODNUM ( )

( ) Evocação (3): -Quais os três objetos perguntados anteriormente?(1 ponto para cada resposta) ( )

( ) Nomear dois objetos: relógio e caneta (1 ponto para cada) ( )

( ) Repetir (0 a 1):*Preste atenção: vou lhe dizer uma frase e quero que você a repita:* “NEM AQUI, NEM ALI, NEM LÁ” (*considerar apenas se a repetição for perfeita- 1 ponto*) ( )

Comando: “Apanhe esta folha de papel com a mão direita (1 ponto), dobre-a ao meio (1 ponto) e coloque-a no chão (1 ponto)”. Não pode dar dicas ( )

Ler e executar (1 ponto)

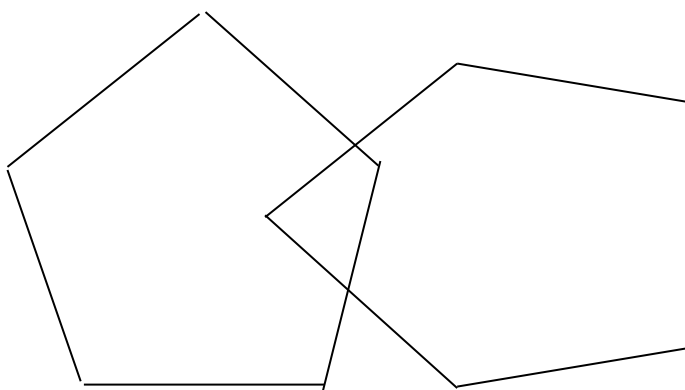
FECHE SEUS OLHOS

*Peça para escrever uma frase completa* (alguma frase que tenha começo, meio e fim) (1 ponto)

FRASE:

Copiar diagrama em anexo (1 ponto)

( )



**ANEXO- III ESCALA DE PERCEPÇÃO DO ESFORÇO (BORG)**

## ANEXO IV- NORMAS PARA SUBMISSÃO À REVISTA PORTUGUESA DE PNEUMOLOGIA



REVISTA PORTUGUESA DE PNEUMOLOGIA  
(ENGLISH EDITION)

### AUTHOR INFORMATION PACK

#### TABLE OF CONTENTS

|                            |     |
|----------------------------|-----|
| • Description              | p.1 |
| • Abstracting and Indexing | p.1 |
| • Editorial Board          | p.1 |
| • Guide for Authors        | p.4 |



ISSN: 2173-5115

#### DESCRIPTION

*Revista Portuguesa de Pneumologia* is the official journal of the Portuguese Society of Pulmonology (Sociedade Portuguesa de Pneumologia/SPP). The journal publishes 6 issues per year, mainly about respiratory system diseases in adults and clinical research. This work can range from peer-reviewed original articles to review articles, editorials, and opinion articles. The journal is printed in Portuguese, and is freely available both in Portuguese and in English in its web page as well as in Medline and other databases.

#### ABSTRACTING AND INDEXING

Research4Life (Hinari)

#### EDITORIAL BOARD

**Editor in Chief**  
António Morais

**Associate Editors**  
Venceslau Hespanhol  
José Melo Cristino  
Fátima Rodrigues  
Jessica Jones

#### Editorial Board

Cristina Bárbara  
A Bugalho de Almeida  
Raquel Duarte  
Marta Drummond  
Maria João Marques Gomes  
J Agostinho Marques  
Bárbara Parente  
Paula Pinto  
A Bensabat Rendas  
Carlos Robalo Cordeiro

Enrique Queiroga  
João Carlos Winck

*International Editorial Board*

Antoni Torres (Barcelona)  
Athol Wells (London)  
Fabio Pitta (Londrina)  
Geraldo Lorenzi-Filho (São Paulo)  
Giovanni Battista Migliori (Varese)  
ário Nunes (Paris)  
Jean Bousquet (Montpellier)  
Nicolino Ambrosino (Pisa)  
Ricardo Amorim Correia (Belo Horizonte)  
Ulrich Costabel (Essen)

*Section editors*

*Oncology*

Fernando Barata  
Agostinho Costa  
Renato Sotto-Mayor

*Sleep*

J Moutinho dos Santos  
Maria João Matos

*Interstitial Lung Disorders*

Sofia Furtado  
Sofia Neves  
Ana Cristina Mendes

*Rehabilitation*

Natália Taveira  
João Munhá  
Inês Faria

*Lung Function*

João Cardoso  
J Reis Ferreira  
João Almeida

*Infection*

Filipe Froes  
António Dinis

*Imaging*

Luísa Teixeira  
José Miguel Pereira

*Endoscopy*

António Bugaho  
J Duro da Costa  
Salvato Feijó

*Pathology*

Lina Carvalho  
Conceição Souto Moura

*Pediatrics*

Inês Azevedo

**Celeste Barreto**

*Tuberculosis*  
**António Domingos**

*Asthma*  
**Aurora Carvalho**  
**Ana Maria Arrobas**  
**Jorge Ferreira**

*Intensive Care*  
**Luís Telo**  
**João Pedro Baptista**

*Tobacco*  
**José Alves**  
**Lurdes Barradas**

*Respiratory Physiotherapy*  
**Miguel Gonçalves**  
**Fábio Pitta**

*Thoracic Surgery*  
**João Bernardo**  
**Fernando Martelo**

*Advisors*  
**Luis Filipe Azevedo**  
**Helena Donato**  
**J Duro da Costa**

## GUIDE FOR AUTHORS

---

The *Portuguese Journal of Pulmonology* will consider for publication papers, (original articles or revisions, case reports, letters to the editor, commentaries etc) that are related directly or indirectly with the Respiratory System. The opinions expressed are exclusively the responsibility of the authors. Only manuscripts containing original material which has not yet been published, wholly or partially (including tables and figures), and which have not been submitted to be published elsewhere, will be considered for publication. Before submitting manuscripts, authors must obtain all necessary authorizations for the publication of the submitted material.

Texts should be written in English.

**Articles on original research:** The text must not exceed 2500 words, excluding references and tables, and be organized into introduction, methods, results, discussion and conclusions, with a maximum of 4 tables and/or figures. In the materials and methods there must be a complete and appropriate reference to the statistical methods used and the results should be quite sufficiently explicit.

**Review articles:** The *Portuguese Journal of Pulmonology* publishes primarily review articles which have been requested by the editors. However, unsolicited articles submitted will be considered, particularly systematic reviews (meta-analysis). The text must not exceed 5000 words, excluding references and tables, with a maximum of 5 tables and/or figures in total. The reviews must be organized systematically in introduction, methods, results and discussion.

**Short publications:** Preliminary results or new findings could lead to short publications. The text should not exceed 1000 words, excluding references and tables, and be organized into introduction, methods, results and discussion, with a maximum of 2 tables and/or figures in total and up to 10 references. The short publications should be submitted with formal abstracts in English, of not more than 250 words.

**Commentaries:** Commentaries, essays, critical analyses or declarations of a position in relation to topics of interest in the area of health, particular the politics of health and medical education will be considered. The text must not exceed 900 words, excluding references and tables, and include a maximum of one table or figure. Commentaries do not require abstracts; they will normally be at the request of the editors.

**Special articles:** Where appropriate the editorial board may invite one or various authors to write an article on a subject of particular formative interest in achieving the priorities of the journal and where the subject matter is not being addressed by other areas of study (for example postgraduate study).

**Clinical case studies (case reports):** The text should not exceed 1200 words, excluding references and tables, with a maximum of 2 tables and/or figures in total. Clinical case studies should be submitted with formal abstracts in English, of not more than 120 words. Depending on their interest and originality the clinical case studies may include a commentary/ discussion by one of the editors or by an invited reviewer (**Clinical case study with discussion**). **Letters to the editor:** Two types of letter to the editor are considered, clinical notes a correspondence.

Clinical notes stand for a very objective reporting of results of clinical observation or original research for which a detailed development is not appropriate. The text should not exceed 800 words, excluding references and tables, and can include a maximum of two tables or figures and up to 7 references. Correspondence refers to a succinct commentaries on articles published in the *Portuguese Journal of Pulmonology*, preferably within the previous 6 months. In this case, the text should not exceed 500 words, excluding references and tables, and can include a maximum of one table or figure and up to 5 references.

Letters to the editor should not include abstracts.

In manuscripts signed by more than 6 authors (3 authors in the case of letters to the editor), there has to be an explicit explanation for such an extensive authorship.

Manuscripts submitted to the *Portuguese Journal of Pulmonology* must conform to the recommendations indicated here and must be accompanied by a covering letter. The Editorial Board will acknowledge receipt of manuscripts, supplying information as to the orientation category given to the relevant article. Whenever there are editorial recommendations to changes to the manuscripts sent, the authors should

supply a new version with an explanation of changes made. Correspondence between the authors and the journal should be conducted electronically, by the Elsevier Editorial System (<http://ees.elsevier.com/rpp>).

## BEFORE YOU BEGIN

### *Ethics in publishing*

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

### *Human and animal rights*

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans, <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>; Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals, <http://www.icmje.org>. Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed. **All animal studies need to ensure they comply with the ARRIVE guidelines.** More information can be found at <http://www.nc3rs.org.uk/page.asp?id=1357>.

### *Conflict of interest*

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. If there are no conflicts of interest then please state this: 'Conflicts of interest: none'. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>. Further information and an example of a Conflict of Interest form can be found at: [http://service.elsevier.com/app/answers/detail/a\\_id/286/supporthub/publishing](http://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/286/supporthub/publishing).

### *Submission declaration and verification*

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/sharingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service CrossCheck <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

### *Authorship*

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted. It is necessary in the covering letter to specify the contribution made by each author to the work. Example: *António Costa conceived this study and supervised all aspects of its implementation. José Costa collaborated in the inception of the study and carried out the analysis of the data. Manuel Costa collected the data and collaborated in the analysis. All the authors contributed to the interpretation of the results and the proof reading of the manuscript.*

### *Changes to authorship*

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the

following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

### **Clinical trial results**

In line with the position of the International Committee of Medical Journal Editors, the journal will not consider results posted in the same clinical trials registry in which primary registration resides to be prior publication if the results posted are presented in the form of a brief structured (less than 500 words) abstract or table. However, divulging results in other circumstances (e.g., investors' meetings) is discouraged and may jeopardise consideration of the manuscript. Authors should fully disclose all posting in registries of results of the same or closely related work.

### **Reporting clinical trials**

Randomized controlled trials should be presented according to the CONSORT guidelines. At manuscript submission, authors must provide the CONSORT checklist accompanied by a flow diagram that illustrates the progress of patients through the trial, including recruitment, enrollment, randomization, withdrawal and completion, and a detailed description of the randomization procedure. The CONSORT checklist and template flow diagram can be found on <http://www.consort-statement.org>.

### **Registration of clinical trials**

Registration in a public trials registry is a condition for publication of clinical trials in this journal in accordance with International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE, <http://www.icmje.org>) recommendations. Trials must register at or before the onset of patient enrolment. The clinical trial registration number should be included at the end of the abstract of the article. A clinical trial is defined as any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects of health outcomes. Healthrelated interventions include any intervention used to modify a biomedical or health-related outcome (for example drugs, surgical procedures, devices, behavioural treatments, dietary interventions, and process-of-care changes). Health outcomes include any biomedical or health-related measures obtained in patients or participants, including pharmacokinetic measures and adverse events. Purely observational studies (those in which the assignment of the medical intervention is not at the discretion of the investigator) will not require registration.

### **Copyright**

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright, see <http://www.elsevier.com/copyright>). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

### **Author rights**

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. For more information on author rights please see <http://www.elsevier.com/copyright>.

### **Role of the funding source**

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

### **Funding body agreements and policies**

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some authors may also be reimbursed for associated publication fees. To learn more about existing agreements please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

This is an open access journal: all articles will be immediately and permanently free for everyone to read and download. Permitted third party (re)use is defined by the following Creative Commons user licenses (see <http://www.elsevier.com/openaccesslicenses>):

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

### **Language (usage and editing services)**

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/languageediting/>) or visit our customer support site (<http://support.elsevier.com>) for more information.

### **Informed consent and patient details**

Studies on patients or volunteers require ethics committee approval and informed consent, which should be documented in the paper. Appropriate consents, permissions and releases must be obtained where an author wishes to include case details or other personal information or images of patients and any other individuals in an Elsevier publication. Written consents must be retained by the author and copies of the consents or evidence that such consents have been obtained must be provided to Elsevier on request. For more information, please review the *Elsevier Policy on the Use of Images or Personal Information of Patients or other Individuals*, <http://www.elsevier.com/patient-consent-policy>. Unless you have written permission from the patient (or, where applicable, the next of kin), the personal details of any patient included in any part of the article and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

### **Submission**

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

### **Submit your article**

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/rpp>.

All manuscripts are evaluated by members of the editorial board of the journal and acceptance for publication of articles or original research, clinical reports or series of case studies which are accepted, are subject to a technical assessment by the editorial board. In this evaluation process articles may be:

- a) Accepted without alteration
- b) Accepted after suggested modifications have been agreed by the authors
- c) Refused

Modifications and revisions – In the case of articles being accepted subject to modifications, changes must be made by the author within fifteen days (for “minor” modifications) or 2 months (for “major” modifications). The proof reading will be the responsibility of the Editorial Board unless the authors indicate otherwise. In the latter case the changes must be made within the time limit set by the Editorial Board, to comply with.

## **PREPARATION**

### **Double-blind review**

This journal uses double-blind review, which means that both the reviewer and author name(s) are not allowed to be revealed to one another for a manuscript under review. The identities of the authors are concealed from the reviewers, and vice versa. For more information please refer to <http://www.elsevier.com/reviewers/peer-review>. To facilitate this, please include the following separately:

*Title page (with author details):* This should include the title, authors' names and affiliations, and a complete address for the corresponding author including an e-mail address. *Blinded manuscript (no author details):* The main body of the paper (including the references, figures, tables and any

Acknowledgements) should not include any identifying information, such as the authors' names or affiliations.

### **Use of word processing software**

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

### **Embedded math equations**

If you are submitting an article prepared with Microsoft Word containing embedded math equations then please read this related support information ([http://support.elsevier.com/app/answers/detail/a\\_id/302/](http://support.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/302/)).

### **Article structure**

#### **Subdivision**

Divide your article into clearly defined sections. Each subsection is given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line. Subsections should be used as much as possible when crossreferencing text: refer to the subsection by heading as opposed to simply 'the text'. The text, in the case of original articles, will generally be: Introduction, Material and Methods, Results, Discussion and Conclusions.

#### **Introduction**

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

#### **Material and methods**

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

#### **Results**

Results should be clear and concise.

#### **Discussion**

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

#### **Conclusions**

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

#### **Appendices**

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

### **Essential Title Page Information**

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the

country name and, if available, the e-mail address of each author. When the number of authors exceeds six, this must be justified.

• **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.**

• **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

### Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself. It should not exceed 120 words for case reports.

### Structured abstract

A structured abstract, by means of appropriate headings, should provide the context or background for the research and should state its purpose, basic procedures (selection of study subjects or laboratory animals, observational and analytical methods), main findings (giving specific effect sizes and their statistical significance, if possible), and principal conclusions. It should emphasize new and important aspects of the study or observations. It should not exceed 250 words for original works.

### Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, according to the terminology of the Medical Index "Medical Subject Headings". These keywords will be used for indexing purposes.

### Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

### Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

### Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

### Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

### Artwork

#### Image manipulation

Whilst it is accepted that authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, this journal is applying the following policy: no specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

### *Electronic artwork*

#### *General points*

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

**You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.**

#### *Formats*

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format. Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

#### **Please do not:**

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

#### *Non-electronic artwork*

Provide all illustrations as high-quality printouts, suitable for reproduction (which may include reduction) without retouching. Number illustrations consecutively in the order in which they are referred to in the text. They should accompany the manuscript, but should not be included within the text. Clearly mark all illustrations on the back (or - in case of line drawings - on the lower front side) with the figure number and the author's name and, in cases of ambiguity, the correct orientation. Mark the appropriate position of a figure in the article.

#### *Color Artwork*

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

#### **Illustration services**

Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/illustrationservices>) offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

#### *Figure captions*

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

### Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules.

### References

#### *Citation in text*

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

#### *Reference links*

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

#### *Web references*

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

#### *References in a special issue*

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

#### *Reference style*

*Text:* Indicate references by superscript numbers in the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

*List:* Number the references in the list in the order in which they appear in the text.

#### *Examples:*

Reference to a journal publication:

1. Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *J Sci Commun*. 2010;**163**:51–9.

Reference to a book:

2. Strunk Jr W, White EB. *The elements of style*. 4th ed. New York: Longman; 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

3. Mettam GR, Adams LB. How to prepare an electronic version of your article. In: Jones BS, Smith RZ, editors. *Introduction to the electronic age*. New York: E-Publishing Inc; 2009, p. 281–304. Note shortened form for last page number. e.g., 51–9, and that for more than 6 authors the first 6 should be listed followed by 'et al.' In manuscripts signed by more than 6 authors (3 authors in the case of letters to the editor), there has to be an explicit explanation for such an extensive authorship. For further details you are referred to 'Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals' (J Am Med Assoc 1997;**277**:927–34) (see also [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)).

#### *Journal abbreviations source*

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations: <http://www.issn.org/services/online-services/access-to-the-ltwa/>.

### Video data

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

### Supplementary material

Supplementary material can support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Please note that such items are published online exactly as they are submitted; there is no typesetting involved (supplementary data supplied as an Excel file or as a PowerPoint slide will appear as such online). Please submit the material together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. If you wish to make any changes to supplementary data during any stage of the process, then please make sure to provide an updated file, and do not annotate any corrections on a previous version. Please also make sure to switch off the 'Track Changes' option in any Microsoft Office files as these will appear in the published supplementary file(s). For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

### Submission Checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

#### Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address
- Phone numbers

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web).
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

### AFTER ACCEPTANCE

#### Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. Example of a correctly given DOI (in URL format; here an article in the journal *Physics Letters B*):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059>

When you use a DOI to create links to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

### Proofs

One set of page proofs (as PDF files) will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post) or, a link will be provided in the e-mail so that authors can download the files themselves. Elsevier now provides authors with PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 9 (or higher) available free from <http://get.adobe.com/reader>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs (also given online). The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/reader/tech-specs.html>.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return them to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

### Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a personalized link providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](http://www.sciencedirect.com). This link can also be used for sharing via email and social networks. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints>). Authors requiring printed copies of multiple articles may use Elsevier WebShop's 'Create Your Own Book' service to collate multiple articles within a single cover (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/booklets>).

### AUTHOR INQUIRIES

You can track your submitted article at <http://www.elsevier.com/track-submission>. You can track your accepted article at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You are also welcome to contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.