



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

Carla Cristina Souza Gomez

Segurança, tolerabilidade e efeitos em variáveis clínicas e marcadores
laboratoriais da inalação de bicarbonato de sódio em pacientes com fibrose cística

CAMPINAS
2018

Carla Cristina Souza Gomez

Segurança, tolerabilidade e efeitos em variáveis clínicas e marcadores
laboratoriais da inalação de bicarbonato de sódio em pacientes com fibrose cística

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos
exigidos para a obtenção do título de Doutora em Ciências, na área
de concentração em Saúde da Criança e do Adolescente.

ORIENTADOR: José Dirceu Ribeiro

COORIENTADORES: Fernando Augusto de Lima Marson

Paul Marquis Quinton

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO

FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA

ALUNA CARLA CRISTINA SOUZA GOMEZ, E ORIENTADO PELO

PROF. DR. JOSÉ DIRCEU RIBEIRO.

CAMPINAS

2018

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

So89s Souza Gomez, Carla Cristina, 1985-
Segurança, tolerabilidade e efeitos em variáveis clínicas e marcadores laboratoriais da inalação de bicarbonato de sódio em pacientes com fibrose cística / Carla Cristina Souza Gomez. – Campinas, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: José Dirceu Ribeiro.
Coorientadores: Paul Marquis Quinton e Fernando Augusto de Lima Marson.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Bicarbonato de sódio. 2. Fibrose cística. 3. Administração por inalação. 4. Muco. 5. pH. I. Ribeiro, José Dirceu, 1952-. II. Quinton, Paul Marquis. III. Marson, Fernando Augusto de Lima, 1985-. IV. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. V. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Safety, tolerability and effects on clinical variables and laboratory markers of sodium bicarbonate inhalation in cystic fibrosis' patients

Palavras-chave em inglês:

Sodium bicarbonate

Cystic fibrosis

Administration, Inhalation

pH

Sputum

Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente

Titulação: Doutora em Ciências

Banca examinadora:

José Dirceu Ribeiro [Orientador]

Clemax do Couro Sant'Ana

Ilma Aparecida Paschoal

Paulo Maróstica Cauduro

Celize Cruz Bresciani Almeida

Data de defesa: 22-08-2018

Programa de Pós-Graduação: Saúde da Criança e do Adolescente

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

CARLA CRISTINA SOUZA GOMEZ

Orientador (a) PROF(A) DR(A) JOSÉ DIRCEU RIBEIRO

Coorientador (a) PROF(A). DR(A) FERNANDO AUGUSTO DE LIMA MARSON

Coorientador (a) PROF(A). DR(A) PAUL MARQUIS QUINTON

MEMBROS:

- 1. PROF(A). DR(A). JOSÉ DIRCEU RIBEIRO**
- 2. PROF(A). DR(A). CELIZE CRUZ BRESCIANI ALMEIDA**
- 3. PROF(A). DR(A). ILMA APARECIDA PASCHOAL**
- 4. PROF(A).DR(A). PAULO JOSÉ CAUDURO MAROSTICA**
- 5. PROF(A).DR(A). CLEMAX COUTO SANTANNA**

Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca examinadora encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

Data: 22 de agosto de 2018

DEDICATÓRIA

Aos pacientes que participaram deste trabalho.

Ao meu orientador Professor Dr José Dirceu Ribeiro.

Ao Professor Dr Paul M. Quinton.

Aos meus pais Suzi e Marcos e a minha irmã Daniela.

Ao meu noivo Marcelo Ota.

AGRADECIMENTOS

Primeiro de tudo, quero agradecer aos pacientes a confiança, dedicação e comprometimento com o estudo, mesmo que eles não leiam nem mesmo saibam que estou escrevendo para eles. Agradeço aos seus familiares e amigos o incentivo, apoio engajamento durante todas as fases das coletas o que possibilitou esse trabalho ser realizado.

Ao meu orientador, Professor Dr. José Dirceu Ribeiro, por quem sinto elevado apreço e gratidão, pela sua disponibilidade e orientação, mesmo aos finais de semana e períodos de férias. Quero que saiba, professor, que por você sinto grande apreço e muita gratidão. Sou muito grata pela oportunidade que me deu, por tudo que com ele aprendi e por dedicar-se a esse trabalho com tanto entusiasmo. Excelente profissional, além de pessoa admirável e inspiradora, é um privilégio trabalhar sob sua liderança.

To Professor Dr. Paul M. Quinton, for believing we could do the project. I am very grateful for the opportunity, your enthusiasm and the confidence in our ability. I admire him very much and I am immensely happy to be part of this project developed by you.

Ao Professor Dr. Fernando Marson, a co-orientação deste projeto, apoio, dedicação e sugestões no desenvolvimento deste trabalho, mostrando-se sempre disponível aos alunos e por sua imprescindível e imensa ajuda na estatística com esse trabalho.

Ao Prof. Dr. Francisco Benedito Pessine, pelo acolhimento, competência, generosidade, colaboração e seu grande desprendimento em ajudar-nos com esse trabalho.

À Professora Dra. Maria Ângela Ribeiro, por todo carinho, amor, dedicação e conselhos. A sua participação foi fundamental para a realização deste trabalho. Quero registrar também a grande contribuição que dedicou para o meu crescimento, como pesquisadora e como pessoa, desde os tempos do mestrado; ela se preocupa sempre não apenas em relação ao andamento das pesquisas, mas também pela saúde e vida

peçoal dos alunos, tornando nosso local de trabalho um ambiente acolhedor e familiar.

À Professora Dra. Maria de Fátima Servidoni, saiba que você é uma pessoa que admiro muito. É linda a forma carinhosa e generosa com que você trata os pacientes. Agradeço muito por todos os seus ensinamentos e conselhos.

À Enfermeira responsável pelo CIPED, Silvana Dalge Severino, a amizade, o carinho, a oportunidade que tive de trabalhar com você, nos projetos do laboratório, e por todos esses anos de convivência e aprendizado.

À Paloma Parazzi, todo empenho e atenção que dedicou a este projeto, sempre se mostrando solícita, prestativa e companheira. Pelo sacrifício e atenção que teve com este projeto, sem você não teria conseguido. Que continuemos assim, sempre trocando gesto de amizade e consideração.

Às professoras do aprimoramento em Fisioterapia Pediátrica, Rosângela Grande, Celize Almeida, Therezinha de Oliveira e Milena Antonelli, que me ajudaram e incentivaram desde o início do mestrado, a oportunidade de auxiliar na orientação das alunas do aprimoramento no período do meu doutorado.

Ao químico Karl Jun Clinkspoor, a colaboração e desenvolvimento dos parâmetros para análise da reologia, sempre disposto em contribuir com este projeto, além da amizade, paciência e disponibilidade em responder as minhas numerosas dúvidas.

Ao Professor Dr. Edvaldo Sabadini, por disponibilizar o laboratório de reologia do Instituto de Química e tornar possível a realização deste projeto.

À equipe multidisciplinar da Fibrose Cística da Unicamp, especialmente à Dra Andressa Peixoto e ao Dr. Antônio Mário Tassinari, pela amizade e ajuda durante o processo de triagem dos pacientes, feita de maneira competente e carinhosa.

Aos amigos que fiz no CIPED que compartilharam esses momentos de aprendizado, especialmente, Paloma Parazzi, Renan Mauch e Denise Marquezi, que me ajudaram e contribuíram imensamente para o progresso deste projeto. Sem eles

nada disso seria possível. À Talita Aiello, Mauro Pedromonico Arrym, Carlos Eduardo Cavalcante Barros, Carolina Reis, Aline Cristina Gonçalves, Adriana Mendes e Maíra Assumpção pela amizade, além dos dias de trabalho e por todos os momentos de descontração que passamos juntos.

A todos meus amigos de Franca-SP, em especial: Daiane Malta, Cleiton Malta, Mirela Jacinto, Mônica Queiroz, Camila Adão, Priscila Penna, Almir Resende e Karol de Brito que sempre vibraram com as minhas conquistas e vitórias e sabem como me amparar quando eu preciso. Vocês são todos importantes para mim, pois embelezam meus dias com todo o carinho que demonstram.

Aos Professores Clemax do Couto Sant'Anna, Paulo Cauduro Marótica, Ilma Pascoal, Rodrigo Catharino, Sônia Chiba, Celize Cruz Besciani Almeida e Milena Baptistela Grotta pela gentileza em disponibilizar tempo e conhecimento para este trabalho.

Ao meu noivo, Marcelo Ota, por me apoiar, por eu poder compartilhar meu dia-a-dia, por entender e ter paciência quando precisei estar ausente e por estar sempre mostrando importância do meu trabalho e demonstrando felicidade com minhas conquistas.

Aos meus familiares, minha mãe Suzi, meu pai Marcos e minha irmã Daniela, não há palavras no mundo para expressar o amor que sinto por vocês. Agradeço por todo amor, carinho, dedicação, ensinamentos, exemplo de vida e por todo esforço que fizeram para me dar a melhor educação. Vocês fizeram de mim a pessoa que hoje sou, e eu só tenho motivos para agradecer.

Aos meus avôs Nídia e Ademar, tios, tias, primos e primas, pela presença constante, carinho, incentivo, conselhos e entusiasmo. Em especial ao meu primo Fábio Oliveira, que sempre vibra comigo e torce para meu sucesso.

A Márcia de Britto, secretária da PGSCA, pelo carinho que demonstra com os alunos, pelo seu trabalho e pela colaboração.

Ao setor de audiovisual da FCM, pelas confecções dos pôsteres para os congressos;

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

A todos os funcionários do CIPED, da FCM e do HC da Unicamp, especialmente, Rosa Maria Genésio, Milton César de Souza e Antônio Salvador Pedretti Neto, agradeço o apoio e incentivos prestados.

Agradecimento especial:



Professor Dr. Paul M. Quinton

Professor Paul M. Quinton is a specialist in fluid and electrode transport physiology, professor of pediatrics at the University of California and professor of biomedical sciences at the University of California Riverside, where he works to the advances in understanding of the chronic disease, the cystic fibrosis (CF).

Dr. Quinton is known worldwide for his work and by his collaboration in the medical science. His research strengthened the knowledge of how CF sweating is hypertonic and helped us to understand the physiopathology of cystic fibrosis pulmonary disease.

Professor Quinton's findings and studies have contributed to advances in the understanding of the basic defects of CF and have being essential to others researches used to correct the genetic defect by therapeutic progress.

I want to thank the opportunity that Professor Quinton gave us, to study his original wich was project offered and that we were able to develop with his supervision. During these years of our contact, I would also like to thank you immensely for the competence, enthusiasm, confidence, kindness, availability and generosity shown by toward me, my supervisor and our reference center in Cystic Fibrosis at University of Campinas - Unicamp, State of São Paulo, Brazil.

Doctor Quinton raised our admiration in a unique way and became a scientific and humane inspiration for everybody in our team.

With our admiration, esteem and gratitude.

RESUMO

Introdução: Disfunção qualitativa e/ou quantitativa da proteína CFTR causa diminuição da secreção de bicarbonato de sódio nas vias aéreas dos indivíduos com Fibrose Cística (FC). Apesar da eficácia do bicarbonato de sódio, sobre a reologia do muco, função pulmonar e seu poder bactericida ter sido muito estudado em animais, poucos estudos foram realizados em humanos. **Objetivo:** Avaliar a segurança, a tolerabilidade e os efeitos colaterais de bicarbonato de sódio por via inalatória, no escarro, em variáveis clínicas e laboratoriais de pacientes com FC. **Método:** Realizou-se um estudo piloto, clínico experimental, prospectivo, aberto, (“*open-label*”) com escalonamento de doses de solução de NaHCO_3 em pacientes com FC. Após 2-4 semanas de rastreamento cada paciente recebeu, por via inalatória, bicarbonato de sódio a 4,2% por 30 dias, sendo: 1x/dia por 15 dias e 2xs/dia nos 15 dias seguintes. A seguir a dose de NaHCO_3 foi aumentada para 8,4% (2xs/dia) por 15 dias e 15 dias sem inalações. Antes, durante e após os períodos de inalações com NaHCO_3 todos os pacientes foram submetidos a: i) Coleta de escarro para análise de reologia, pH do escarro e presença de bactérias;; ii) Espirometria; iii) Teste do degrau (*Harvard Step Test*); iv) Questionário sobre qualidade de vida, v) Questionário de dispnéia. Hemograma completo e gasometria venosa foram coletados antes e após o final do estudo. **Resultados:** Finalizaram o estudo 12/19 pacientes com FC e colonização crônica por *Pseudomonas aeruginosa* e bronquiectasias, com idades $22,895 \pm 6,749$ anos; 9/19 (47,37%) eram femininos. A reologia do escarro mostrou os valores de $8,34 \pm 3,49$ Pa e de $2,21 \pm 0,8$ Pa, na visita pré e os valores de $5,39 \pm 1,42$ Pa e de $1,64 \pm 0,4$ Pa, na última visita, respectivamente, para os valores de elasticidade (G') e de viscosidade (G''), ($p=0,3$) e ($p=0,36$). Na visita 1, houve diminuição da elasticidade na primeira coleta após inalação com NaHCO_3 à 4,2% de concentração e que com o tempo a elasticidade aumentou ($p=0,02$). Houve diminuição da elasticidade do escarro em todas as visitas na amostra coletada após as inalações, ($p=0,04$). Os valores de viscosidade não apresentaram diferenças estatísticas com o uso de NaHCO_3 entre as visitas. Não houve diferença nos valores da viscoelasticidade (G^*) do escarro considerando o aumento progressivo da dosagem, período de intervenção e coleta sucessiva em uma mesma visita ($p>0,05$). Os valores do pH aumentaram com o uso do bicarbonato nas secreções respiratórias, significativamente, na primeira coleta de secreção (logo após a inalação com NaHCO_3) para terceira e quartas visitas, quando a solução de NaHCO_3 foi de 8,4%.

Após a primeira e a última coleta, de cada visita, os valores de pH retornavam próximos dos valores da consulta de triagem (sem bicarbonato). Verificamos que, no período de 120 minutos para coleta do escarro, houve maior valor do pH na primeira visita, em relação a segunda ($p=0,003$). Na quarta e quinta visita, a primeira coleta apresentou um maior valor de pH em relação aos demais tempos de coleta. Na avaliação semi-quantitativa das bactérias observamos que 5/12 pacientes apresentaram redução, 5/12 mantiveram os valores durante o estudo e 2 apresentaram aumento nos valores após as inalações com NaHCO_3 . O Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo (VEF_1) foi avaliado em todas as visitas e não houve diferença estatística significativa nos valores, o que indica que não houve mudanças na função pulmonar com o uso das inalações ($p>0,05$). Porém, observamos queda do VEF_1 no grupo de indivíduos na situação grave e um aumento na situação moderada. Em relação as medidas do pico de fluxo, os pacientes também não apresentaram alterações significativas. No *Harvard step test* houve associação da intervenção com os biomarcadores VO_2 ($p=0,023$) e gasto energético ($p=0,025$). O VO_2 foi menor antes do período de intervenção, quando comparado ao período pós intervenção ($p = 0,030$). O gasto energético foi menor antes do período de intervenção, quando comparado ao período pós intervenção e maior depois do período de intervenção, quando comparado ao período durante a intervenção ($p = 0,049$). E o período durante a intervenção teve valores intermediários ao antes e depois da intervenção, havendo um valor crescente do gasto energético durante o estudo. No escore de qualidade de vida houve melhora na pontuação dos pacientes entre o período antes da intervenção e a visita 5 ($p=0,017$). No questionário de dispneia, os pacientes apresentaram melhora com escore de 20 para 11, no início e no final do estudo respectivamente, porém os dados não foram significativos. Os pacientes não apresentaram alterações nos parâmetros do hemograma e da gasometria venosa durante o estudo. Nenhum paciente apresentou efeito adverso grave, e nos parâmetros clínicos de FR; FC; SaO_2 e temperatura corporal.

Conclusão: As análises dos desfechos estudados encorajam a possibilidade de usar o NaHCO_3 por via inalatória, como agente terapêutico no manejo da FC. Porém, os achados sugerem que mais estudos devam ser realizados e com tamanho amostral maior para aprofundar o entendimento nas mudanças nas características clínicas e laboratoriais do escarro com o uso da inalação com NaHCO_3 em pacientes com FC, incluindo a reologia do escarro.

Palavras-chave: Bicarbonato de sódio; Fibrose Cística; Inalação; Muco; pH; Reologia.

ABSTRACT

Introduction: Qualitative and / or quantitative deficiency of the CFTR protein causes decreased secretion of sodium bicarbonate in the airways of individuals with cystic fibrosis (CF). Despite of the efficacy of bicarbonate of sodium, about sputum rheology, function pulmonary and its strength bactericida being been very study in animals, lack studies was in human. **Objective:** To assess the safety, tolerability and side effects of inhaled bicarbonate, sputum, clinical and laboratory variables of CF patients. **Method:** An experimental, prospective and open label study with dose escalation of NaHCO_3 solution was performed in CF patients. After 2-4 weeks of screening, each patient received 4.2% sodium bicarbonate for 30 days in the inhalation route, being: 1x /day for 15 days and 2x/day for the next 15 days. The NaHCO_3 dose was then increased to 8.4% (2x/day) for 15 days and 15 days without inhalation. Before, during and after the periods of inhalation with NaHCO_3 all patients were submitted to: i) Sputum collection for rheology analysis, sputum pH and presence of bacteria; ii) Spirometry; iii) Harvard Step Test; iv) Questionnaire on quality of life; v) Dyspnea Questionnaire. Complete blood count and venous blood gases were collected before and after the end of the study. **Results:** Completed the study of the study 12/19 patients with CF and chronic colonization by *Pseudomonas aeruginosa* and bronchiectasis, with 22.895 ± 6.749 years; 9/19 (47.37%) were female. The sputum rheology had values of 8.34 ± 3.49 Pa and 2.21 ± 0.8 Pa, at the pre visit and values of 5.39 ± 1.42 Pa and 1.64 ± 0.4 Pa, at the last visit, for the values of elasticity (G') and viscosity (G''), ($p = 0,3$) and ($p = 0,36$). At visit 1, there was a decrease in elasticity in the first measurement after inhalation at 4.2% NaHCO_3 concentration and with increased elasticity with the increase the time ($p = 0.02$). There was decrease elasticity of sputum at all visits in the sample collected after inhalation, ($p = 0.04$). Viscosity values were not present statistical difference with the use of NaHCO_3 between visits. There was no difference in sputum viscoelasticity (G^*) values considering the progressive increase of the dosage, intervention period and successive collection in the same visit ($p > 0.05$). The pH values increased with the use of bicarbonate in respiratory secretions, significantly at the first collection of secretion (shortly after inhalation with NaHCO_3) for third and fourth visits, when the NaHCO_3 solution was 8.4%. After the first and last collection of each visit, the pH values returned to the values of the screening. We verified that in the period of 120 minutes for sputum collection, there was a higher pH value at the first visit, in relation to the second visit ($p = 0.003$). In

the fourth and fifth visits, the first collection presented a higher pH value in relation to the other collection times. In the semi-quantitative evaluation of bacteria, the values of 5/12 increased, 5/12 maintained values during the study and 2 values increase after the inhalations with NaHCO₃. Forced Expiratory Volume in the first second (FEV1) was evaluated at all visits and there was no statistically significant difference in the values, indicating that there were no changes in pulmonary function with the use of inhalations ($p > 0.05$). However, we observed a decrease in FEV1 in the group of individuals in the severe situation and an increase in the moderate situation. Regarding peak flow measurements, the patients also did not present significant alterations. The Harvard step test there was association of intervention with the biomarkers VO₂ ($p = 0.023$) and work ($p = 0.025$). The VO₂ was lower before the intervention period when compared to the post-intervention period ($p = 0.030$) and the work was lower before the intervention period when compared to the post-intervention period ($p = 0.049$), work was higher after ($p = 0.049$), and the period during the intervention had intermediate values before and after the intervention, with an increasing value of work during the study. In the score of quality of life there was improve in the score between the period before the intervention and the visit 5 ($p = 0.017$). In the aspect of dyspnea, the patient with the score of 20 to 11, at the beginning and at the end of the study. The patients are not present change in the parameters of the hemogram and venous blood gases during the study. No patient presented severe side effects collateral, and the clinical results of heart rate; respiratory frequency; oxygen saturation and body temperature. **Conclusion:** The analysis of endpoints studied encourages the possibility of using NaHCO₃ by the inhalation route, as a therapeutic agent in the management of CF. However, the findings suggest that further studies should be performed with a larger sample size to deepening understanding of changes in sputum clinical and laboratory characteristics with the use of NaHCO₃ inhalation in CF patients, including sputum rheology.

Key-words: Cystic Fibrosis; Inhalation; pH; Sodium Bicarbonate; Sputum; Reology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Gene da fibrose cística localizado no cromossomo 7.	22
Figura 2. Classificação da variação da CFTR de acordo com suas classes.	23
Figura 3. Classificação da variação da CFTR.	24
Figura 4. Efeito da redução da concentração de oxigênio no muco.	26
Figura 5. Cascata de eventos.	27
Figura 6. A função do HCO_3^- no muco normal e no muco da FC.	29
Figura 7. Exocitose e descarga do muco.	29
Figura 8. Grau de disfunção no transporte do HCO_3^-	32
Figura 9. Fármacos estudados.	41
Figura 10. Dispositivos utilizados.	44
Figura 11. Tubo Falcon de 15ml	46
Figura 12. Etapas da reologia.	48
Figura 13. Análise do pH.	50
Figura 14. Espirômetro Koko®	52
Figura 15. peak-flow meter	53
Figura 16. Step kikos®	55
Figura 17. Elasticidade (G') e Viscosidade (G'').	74
Figura 18. Distribuição dos valores de pH.	78
Figura 19. Análise da espirometria.	80
Figura 20. Análise da espirometria antes, durante e após o estudo.	81
Figura 21. Proporção dos pacientes em relação ao VEF_1	82
Figura 22. Qualidade de vida.	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características clínicas e demográficas dos pacientes com fibrose cística incluídos no estudo de intervenção sob o uso de bicarbonato de sódio inalatório ^a	68
Tabela 2. Elasticidade (G') do escarro em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório ^a	70
Tabela 3. Elasticidade (G') do escarro em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório ^a	71
Tabela 4. Viscosidade (G'') do escarro em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório ^a	72
Tabela 5. Viscosidade (G'') do escarro em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório ^a	73
Tabela 6. Viscoelasticidade (G^*) do escarro em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório ^a	75
Tabela 7. pH do escarro induzido em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório ^a	77
Tabela 8. Caracterização microbiológica dos pacientes com fibrose cística antes e pós o período de intervenção*.	79
Tabela 9. VEF ₁ dos pacientes com fibrose cística.	81
Tabela 10. <i>Peak flow</i> em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório ^{a,b}	83
Tabela 11. Harvard step test em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório ^{a,b}	85
Tabela 12. Qualidade de vida em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório ^a	88
Tabela 13. Dispneia em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório ^a	91

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
ATP	Adenosina trifosfato
BALT	<i>Bronchial-associated-lymphoid tissue</i>
Ca ²⁺	Cálcio
CaCC	<i>Calcium Activated Chloride Channels</i>
CERFC	Centro Especializado de Referência em Fibrose Cística
CFTR	<i>Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator</i>
CFTR2/CFTR2	Banco de dados das variantes (http://www.cftr2.org)
CIPED	Centro de Investigação em Pediatria
Cl ⁻	Cloreto
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
ENaC	Canal de sódio
H ⁺	Hidrogênio
HC	Hospital de Clínicas
HCO ₃ ⁻	Bicarbonato
FC	Fibrose Cística
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
FP	Função Pulmonar
Kb	Kilo base
LAFIP	Laboratório de Fisiologia Pulmonar
MUC5AC	Mucinas do epitélio das vias aéreas
MUC5B	Mucinas das glândulas mucosas
Na ⁺	Sódio
NaHCO ₃	Bicarbonato de sódio
NPD	Diferença de potencial nasal
<i>p.Phe508del</i>	Nomenclatura padrão para a mutação
QDSD	Questionário de dispneia de San Diego
QFCR	Questionário de fibrose cística revisado
rhDNase	Recombinant Human DNase
RNA _m	Ribonucleic Acid [Ácido ribonucleico (ARN) mensageiro]
TACLE	Termo de assentimento livre e esclarecido

TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
VAs	Vias aéreas
VEF1	Volume expiratório forçado no primeiro segundo

Sumário

1.	INTRODUÇÃO.....	21
1.1.	Fibrose Cística	21
1.2	Vias aéreas (VAs) saudáveis e doença pulmonar na FC.	25
1.3.	Características do muco nas VAs saudáveis e nas VAs da FC.....	28
1.4.	Bicarbonato (HCO_3^-) nas VAs saudáveis e nas VAs da FC.	31
2.	Justificativa.....	35
3.	OBJETIVOS	37
3.1.	Objetivo geral	37
3.2.	Objetivos Específicos	37
4.	MÉTODOS	38
4.1.	Desenho do estudo	38
4.2.	Tamanho amostral	38
4.3.	Critérios de inclusão	38
4.4.	Critérios de exclusão.....	39
4.5.	Critérios de falha e reavaliação.....	39
4.6.	Variáveis estudadas	40
4.6.1.	Fármaco estudado	41
4.6.2.	Embalagem e rotulagem	42
4.6.3.	Armazenagem e manuseio	42
4.6.4.	Dosagem e administração	43
4.6.5.	Medicações concomitantes permitidas	43
4.6.6.	Dispositivos utilizados.....	44
4.6.7.	Medicamento e condições do dispositivo	45
4.6.8.	Procedimentos do estudo	45
4.6.9.	Local da pesquisa.....	45
4.6.10.	Procedimentos realizados em todas as visitas	46

4.6.11. Roteiro de todas as visitas ao Centro	58
5. Análise Estatística	66
6. RESULTADOS	67
7. DISCUSSÃO	93
8. CONCLUSÃO	99
9. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O DOUTORADO ...	100
10. REFERÊNCIAS	110
11. APÊNDICES	124
12. ANEXOS	133

1. INTRODUÇÃO

1.1. Fibrose Cística

A fibrose cística (FC) é uma doença hereditária, autossômica recessiva, com maior prevalência em indivíduos caucasóides, ocorre em 1:2.500 nascidos vivos e afeta cerca de 70.000 indivíduos da população mundial (Barth, 2005; Riordan, 2008). No Brasil a FC acomete 1:10.000 nascidos vivos (Paschoal & Pereira, 2010).

A FC é causada por variantes no gene *CFTR* do inglês (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*). Até o momento, foram identificadas cerca de 2000 mutações no gene *CFTR* que é composto por aproximadamente 250Kb de DNA com 27 éxons (Knowlton *et al.*, 1985; Wainwright *et al.*, 1985; Riordan *et al.*, 1989; Rommens *et al.*, 1989).

Segundo o banco de dados do CFTR2/CFTR2, dentre as 2000 variantes descritas até o momento 374 foram associadas a disfunção da CFTR e distribuídas da seguinte maneira: (i) 312 causam FC; (ii) 36 variantes causam consequências clínicas variáveis; (III) 13 não causam FC clássica e (IV) 13 variantes de significado desconhecido (<https://www.cftr2.org>).

O gene CFTR tem a propriedade de codificar um RNAm de 6,5Kb, que transcreve uma proteína transmembrana reguladora de transporte iônico, denominada CFTR, e composta por 1480 aminoácidos (Bear *et al.*, 1992; Welsh & Smith, 1993; Farrell *et al.*, 2008) (**Figura 1**).

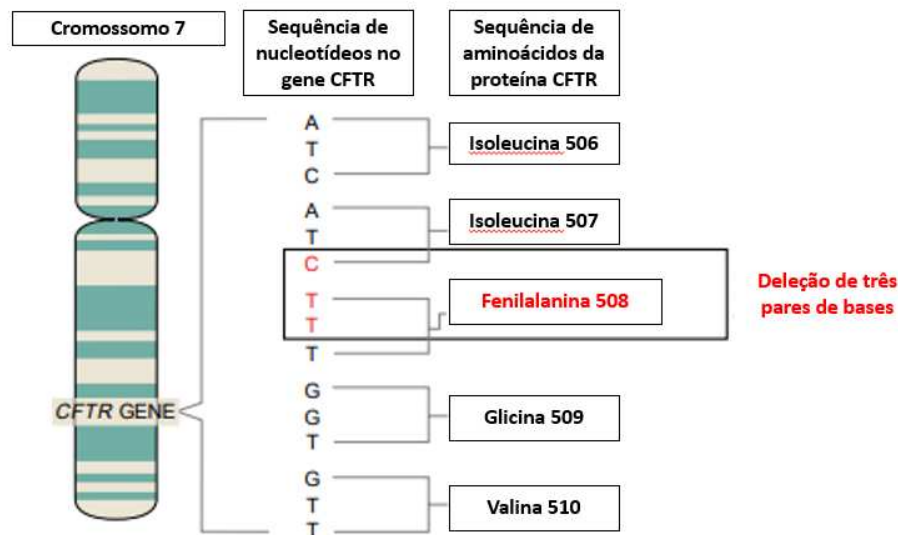


Figura 1. Gene da fibrose cística localizado no cromossomo 7. A mutação F508del, conhecida como a mais frequente, leva a deleção de três pares de base, resultando na perda do aminoácido fenilalanina na posição 508 da proteína CFTR (**Fonte:** adaptado de Welsh & Smith, 1995).

A mutação *p.Phe508del* é a variante mais frequente nos pacientes com FC em todo o mundo. Nela ocorre uma deleção de três pares de bases, causando perda do aminoácido fenilalanina na posição 508 da proteína CFTR (Rowe *et al.*, 2005) (Figura 1).

As mutações são classificadas em sete classes (De Boeck & Amaral, 2016):

- **Classe I:** nessa classe não ocorre a síntese proteica. Variantes desta classe são descritas para os fenótipos mais graves, associados principalmente com mutações *stop-codon*, como exemplo podemos citar a mutações G542X e R1162X.

- **Classe II:** nessa classe há defeito no processamento da proteína CFTR e também não ocorre fixação da CFTR ativa na membrana. A mutação *p.Phe508del* está incluída na classe II.

- **Classe III:** essa classe está associada à regulação alterada da CFTR. A proteína é produzida, trafega até a superfície celular, mas não responde à estimulação pelo AMPc. A consequência é a alteração da regulação do canal iônico e diminuição de sua atividade, como é o caso da mutação G551D. As mutações dessa classe atuam diretamente no domínio regulador da proteína CFTR.

- **Classe IV:** nessa classe as mutações no gene CFTR estão associadas aos domínios transmembrana e possui condução defeituosa. Devido à alteração decorrente da mutação, o fluxo dos eletrólitos pelos canais iônicos é menor. Nessa classe, temos variantes frequentemente associadas a menor gravidade da FC como, por exemplo, as mutações R117H, R334W e P20SS.

- **Classe V:** mutações nessa classe estão associadas à menor síntese da CFTR, no entanto com moléculas com função normal. Podemos encontrar nesta classe, como exemplo, as mutações 3849 + 10Kb C>T e 3272-26A>G.

- **Classe VI:** classe identificada e associada a produção de CFTR normal, mas com *turnover* acelerado da superfície celular. Como exemplo, podemos citar a mutação Q1412X (Drumm *et al.*, 2012; Knowles & Drumm, 2012; Weiler & Drumm, 2013).

- **Classe VII:** essa classe é descrita pela falta de RNAm da CFTR que não pode ser resgatado farmacologicamente devido a grandes deleções ou inserções. (Mall & Galletta, 2015; De Boeck & Amaral, 2016)

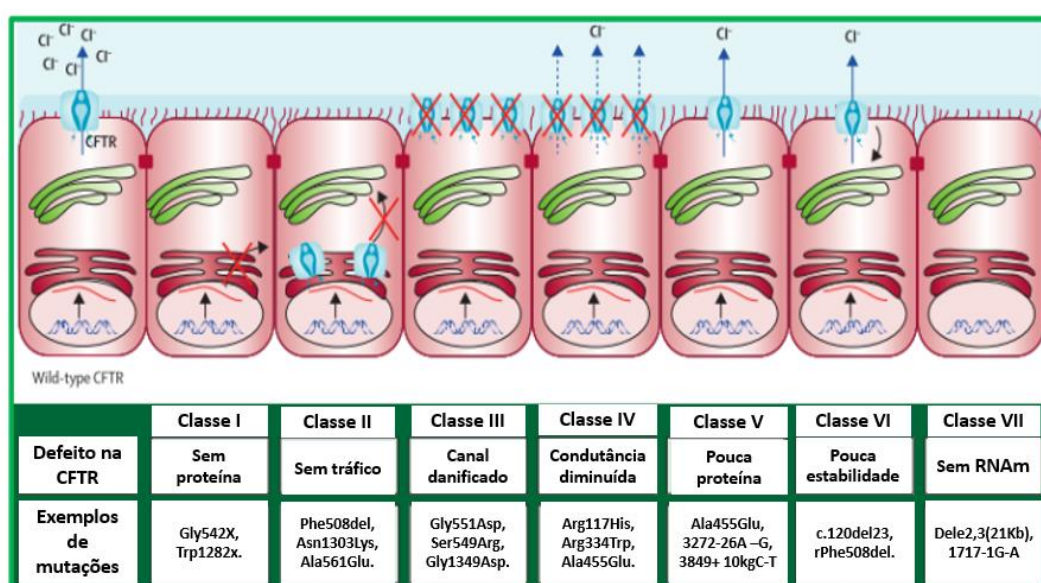


Figura 2. Classificação da variação da CFTR de acordo com suas classes (Fonte: Adaptado de De Boeck & Amaral. Lancet Respiratory Med. 2016).

Subsequentemente, Marson *et al.*, 2017 sugeriu que a classe 7 fosse incorporada na classe I, conforme descrito na **figura 3**.

Traditional classification	Class I		Class II	Class III	Class IV	Class V	Class VI
Proposed classification	Class IA	Class IB	Class II	Class III	Class IV	Class V	Class VI
De Boeck and Amaral's classification	Class VII	Class I	Class II	Class III	Class IV	Class V	Class VI
CFTR defect	No mRNA	No protein	No traffic	Impaired gating	Decreased conductance	Less protein	Less stable
Mutation examples	Dele2,3(21 kb), 1717-1G→A	Gly542X, Trp1282X	Phe508del, Asn1303Lys, Ala561Glu	Gly551Asp, Ser549Arg, Gly1349Asp	Arg117His, Arg334Trp, Ala455Glu	3272-26A→G, 3849+10 kg C→T	c. 120del123, rPhe580del
Corrective therapy	Unrescuable	Rescue synthesis	Rescue traffic	Restore channel activity	Restore channel activity	Correct splicing	Promote stability
Drugs (approved)	Bypass therapies (no)	Read-through compounds (no)	Correctors (yes)	Potentiators (yes)	Potentiators (no)	Antisense oligonucleotides, correctors, potentiators? (no)	Stabilisers (no)
Clinical features (global aspect)	More-severe disease				Less-severe disease		

Figura 3. Classificação da variação da CFTR e estratégias terapêuticas na classificação tradicional de Marson *et al.*, 2016.

Mutações no gene CFTR causam ausência, deficiência qualitativa ou quantitativa na proteína CFTR, i.e, canal de Cloreto (Cl⁻) (Quinton, 2007; Farrell *et al.*, 2008).

Variantes do gene *CFTR* apresentam grande variabilidade de expressão, variando de muito leves a muito graves. A gravidade clínica causada por uma variante no gene CFTR, depende da maneira como a proteína CFTR é afetada. Isso pode ser traduzido pelo transporte de Cl⁻ diminuído ou ausente. Na FC, mutações graves causam falha da síntese proteica ou no bloqueio do processamento até a membrana plasmática, e mutações leves resultam em disfunções na condutância, redução da síntese proteica ou em uma internalização acelerada da proteína na membrana plasmática (Johnson, 1997) (**Figura 2 e 3**).

Alterações na síntese e regulação da proteína CFTR acometem diferentes órgãos epiteliais, principalmente os pulmões, fígado, pâncreas, intestinos e glândulas do suor, o que caracteriza a FC como uma doença multisistêmica (Quinton, 2007; Farrell *et al.*, 2008).

1.2. Vias aéreas (VAs) saudáveis e doença pulmonar na FC.

As VAs íntegras possuem dois mecanismos de proteção anti-infecciosa. O primeiro é conhecido como mecanismo não específico, fica localizado no trato respiratório superior. Este mecanismo inclui a filtração aerodinâmica das partículas; os reflexos de tosse, espirro e broncoconstrição; o transporte mucociliar; o “*clearance*” fagocitário; os agentes antimicrobianos presentes no muco (lisozima, fibronectina, alfa-1-antitripsina) e o sistema complemento. O segundo mecanismo, localizado no trato respiratório inferior, é composto de órgãos linfoides (linfonodos regionais, BALT-bronchial-associated-lymphoid tissue); imunoglobulinas e linfócitos T. (Rozov, 1999)

Os batimentos ciliares, nas VAs, são responsáveis pelo “*clearance*” das secreções pulmonares. Devido aos movimentos ciliares contínuos há deslocamento, no sentido cefálico, do líquido da superfície das VAs. (Ermund *et al.*, 2017; Wine *et al.*, 2018). A diminuição, desidratação e absorção do líquido de superfície das VAs na FC, resultam em muco com altas concentrações de sólidos, viscoso e de difícil deslocamento (Henderson *et al.*, 2014; Boucher, 2007).

Nas VAs, em condições normais, os canais de sódio (ENaC) favorecem o fluxo contínuo de sódio (Na^+) da superfície luminal para o meio intracelular e, em seguida para o interstício através da ação da bomba dependente de ATP (Mall *et al.*, 2004). Ao mesmo tempo ocorre a entrada de Na^+ , íon Cl^- e potássio na célula. O acúmulo de Cl^- ao gradiente eletroquímico intracelular faz com que este íon seja secretado para o lúmen, através do canal de cloreto (CFTR) da membrana apical e o fluxo de água transepitelial é resultado do equilíbrio no transporte desses íons (Frizzell, 1999).

A expressão da proteína CFTR acontece nas vias aéreas e não nos alvéolos (Ziekenski, 2000). Para o funcionamento adequado das VAs é necessário a presença eficaz das células epiteliais capazes de secretar o Cl^- e o HCO_3^- através da proteína CFTR. Estas ações, em VAs saudáveis, resultam em pH alcalino, batimento ciliar normal, ativação dos mecanismos de defesa e produção de mucinas.

Pacientes com FC apresentam comprometimento nas secreções de Cl^- e HCO_3^- (Choi *et al.*, 2001; Kreda *et al.*, 2012), diminuição do pH e dos fluidos das VAs, aumento na produção e viscosidade do muco, com adesão do mesmo na parede brônquica, dificuldade no transporte e depuração mucociliar, obstrução das VAs por inflamação e secreção levando ao comprometimento da defesa das VAs e consequente favorecimento de infecções crônicas e recorrentes (Holma & Hegg, 1989; Pittman, 2015; Zhou-Suckow, 2017).

Estudos utilizando modelo animal, demonstraram que na FC ocorre diminuição do pH da superfície epitelial, devido a falha no transporte de HCO_3^- , que é o principal agente tampão, favorecendo aumento de bactérias, formação de biofilm, e produção de muco espesso interferindo no transporte mucociliar (Davies *et al.*, 2002; Stoltz *et al.*, 2010; Gustafsson *et al.*, 2012; Ermund *et al.*, 2017). Alterações no muco são maximizadas pela liberação de elastase, DNA e radicais de oxigênio derivados do apoptose neutrofílica nas vias aéreas de pacientes com FC (Wine *et al.*, 2018).

Outra anormalidade, na FC, é que o epitélio das VAs absorve altas taxas de líquidos devido ao aumento no transporte de Na^+ , e essa disfunção na secreção dos ânions e dos fluídos resulta no colapso do fluído periciliar (Kunzelmann, 2017). O resultado final deste transporte inadequado de Na^+ e do Cl^- em fluído periciliar anormalmente viscoso e pegajoso prejudica os batimentos das células ciliadas e interfere na depuração mucociliar propiciando um ambiente adequado para o crescimento de bactérias e hipóxia do muco (Matsui *et al.*, 1998; Worlitzsch *et al.*, 2002; Kunzelmann, 2017) (**Figura 4**). Segundo Garland *et al.*, 2013, O aumento do Na^+ é devido a secreção diminuída do HCO_3^- pelas CFTR.

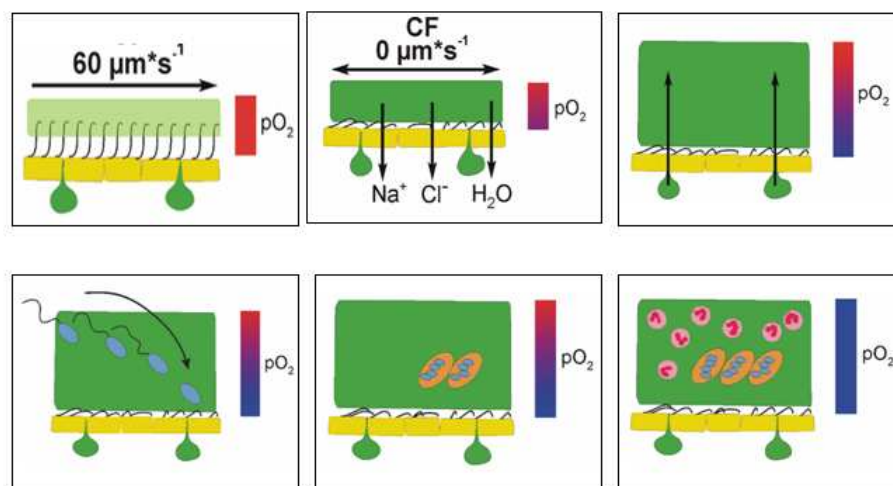


Figura 4. Efeito da redução da concentração de oxigênio no muco. **Fonte:** Worlitzsch *et al.*, 2002.

O defeito genético no gene e na proteína CFTR, causam o binômio inflamação e infecção nas VAs, dos pacientes com FC, induz uma cascata de eventos (**Figura 5**) causando aumento da produção e mudanças nas características físicas do muco, deixando-o mais espesso e mais difícil de ser removido, perda progressiva da função pulmonar e exacerbações pulmonares (Button *et al.*, 2012; Mall *et al.*, 2004; Stoltz *et al.*, 2010).



Figura 5. Cascata de eventos. Fonte: Quan JM *et al.*, 2001.

A deterioração da função pulmonar (FP) na FC, pode ser precocemente identificada por imagens radiográficas de aprisionamento aéreo e bronquiectasias (Wine *et al.*, 2018), além disso, as propriedades modificadas do muco na FC favorecem à repetidas infecções, gerando um “ciclo vicioso” propiciando a infecção crônica (Pittman, 2015; Zhou-Suckow, 2017).

Inflamação, infecção e remodelamento das estruturas pulmonares são três características das VAs em pacientes com FC (Kunzelmann *et al.*, 2017). Esta tríade favorece o surgimento de manutenção de infecção crônica por germes anaeróbios; bronquiectasias e exacerbações pulmonares.

O declínio da função pulmonar consequente da tríade anteriormente citada, é progressiva e resulta em insuficiência respiratória crônica que evolui para óbito (Zuelzer & Newton, 1949; Hamutcu *et al.*, 2002; Tiddens *et al.*, 2010; Kunzelmann *et al.*, 2017). Por isso, entre os objetivos do tratamento da FC constam fluidificação, mobilização e

retirada do muco estagnado nas VAs além de antibioticoterapia de rotina. (CF Foundation, 2011).

1.3. Características do muco nas VAs saudáveis e nas VAs da FC.

As propriedades do muco das VAs respiratórias são determinadas pelos tipos de mucinas que são conhecidas como MUC5B (encontradas nas glândulas mucosas) (Davies *et al.*, 2002; Hays & Fahy, 2006) e MUC5AC (encontradas no epitélio das VAs) (Hays & Fahy, 2006), por suas concentrações e por outros íons e proteínas (Roy *et al.*, 2014).

As mucinas são proteínas fortemente glicosiladas produzidas pelas células caliciformes e pelas glândulas mucosas presentes no tecido epitelial do trato respiratório. A principal característica das mucinas é a sua capacidade em formar géis, no entanto, elas são necessárias para a maioria das secreções semelhantes ao gel, serve como lubrificação e produção de barreira protetora de agentes patogênicos da superfície das células epiteliais (Wine *et al.*, 2018). Além disso, a presença da MUC5AC e MUC5B são importantes na defesa das VAs de infecções.

A proteína MARCKS (*Myristoylated alanine-rich C-kinase substrate*) estimula as mucinas que são secretadas pelas células caliciformes em formato de vesículas nas células epiteliais especializadas (Yang *et al.*, 2013) (**Figura 6**). A fusão das vesículas com a membrana plasmática causa a liberação de mucina, o que troca Ca^{2+} por Na^+ , e a remoção do Ca^{2+} e o tamponamento do H^+ permite expansão das mucinas em até 1000 vezes. O resultado é uma rede em gel viscoelástico de moléculas sobrepostas, combinadas com outras secreções, por exemplo, a partir do epitélio das vias aéreas e nas glândulas submucosas no sistema respiratório, conhecida como muco (Quinton, 2008) (**Figura 7**).

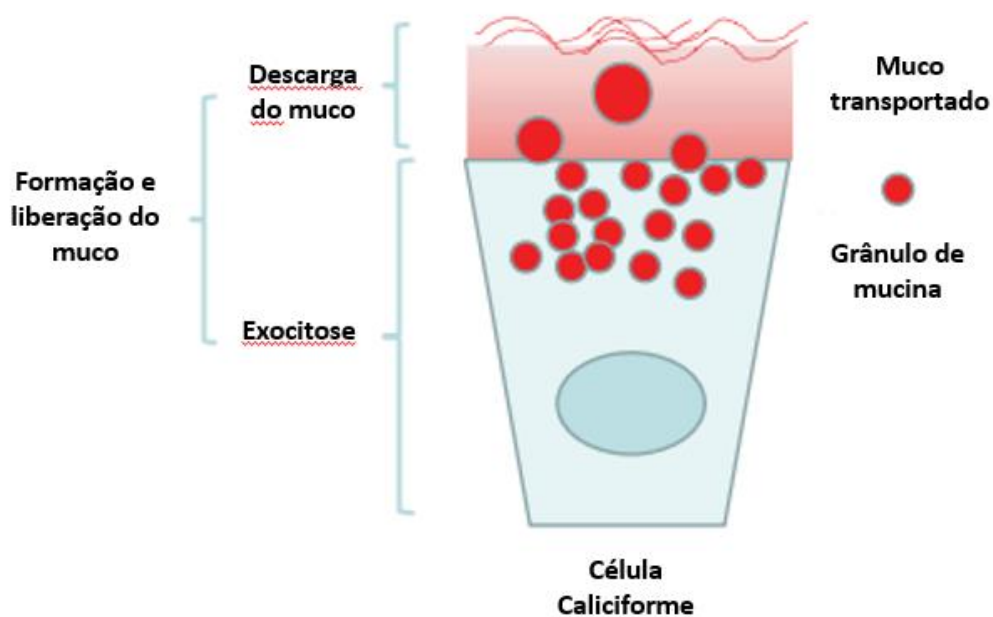


Figura 7. Exocitose e descarga do muco. Fonte: adaptado de Yang et al., 2013.

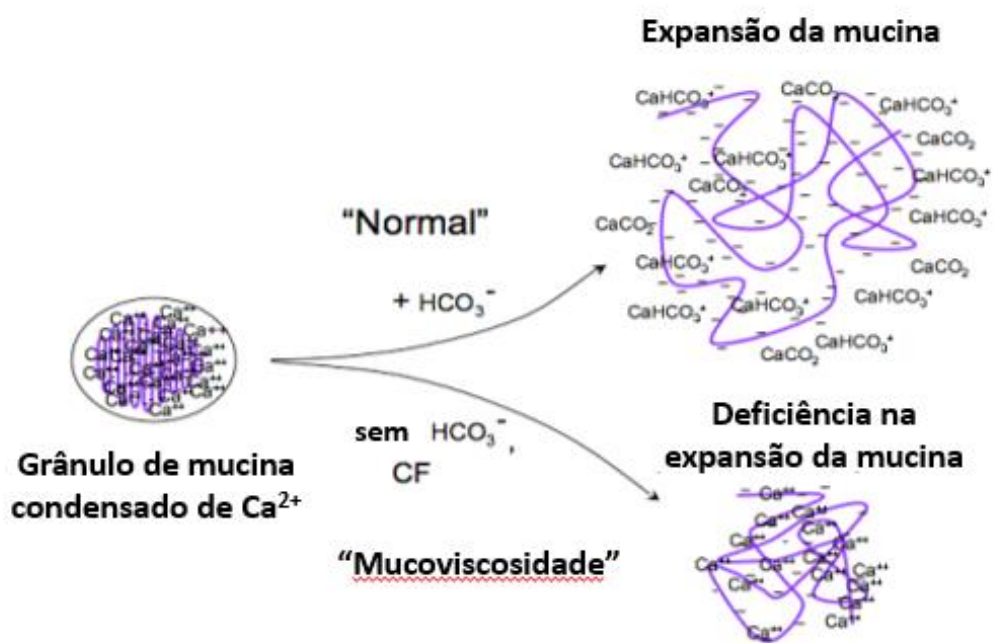


Figura 6. A função do HCO_3^- no muco normal e no muco da FC. Fonte: adaptado de Quinton 2008.

As mucinas são moléculas longas que necessitam de uma vasta gama de cadeias localizadas nos polissacarídeos (Yang *et al.*, 2013). Essas mucinas, juntamente com outras proteínas formam o muco que capturam bactérias e outras partículas, e em VAs saudáveis, ocorre o transporte e remoção desses componentes para fora.

A produção de mucinas varia de acordo com o local das VAs (Wine *et al.*, 2018). NA FC há escassez de informação sobre como os polímeros de mucinas são afetados nas VAs, mas numerosos estudos utilizando modelo animal, demonstraram que possivelmente existe uma relação da diminuição do líquido com a deficiência de secreção do ânion HCO_3^- (Quinton, 2008), e seu transporte nas membranas granulares (LeSimple *et al.*, 2013) das mucinas e a desidratação. (Abdullah *et al.*, 2017)

Alguns pesquisadores relataram que o defeito na CFTR e a deficiência na secreção de HCO_3^- (Chen *et al.*, 2010; Gustafsson, 2012) influenciam nas propriedades físicas das mucinas (Quinton, 2001, 2008; Davis & Dickey, 2008; Garcia *et al.*, 2009).

A mudança de muco normal para patológico, devido à ineficiência da secreção do HCO_3^- favorece a produção anormal das mucinas em gel em todos os órgãos que elas são produzidas. Há muitos anos, o muco espesso de pacientes com FC, é conhecido por ser desidratado devido a hiperabsorção dos fluídos pelo epitélio a medida em que as mucinas são secretadas e não serem hidratadas (Boucher, 2007; Button *et al.*, 2012).

Outra explicação para a desidratação das mucinas é a hiposecreção dos fluídos (Trout *et al.*, 1998; Joo *et al.*, 2006), ou seja, as mucinas secretadas não tem acesso ao fluído. Acredita-se que a ineficiência de fluidos na superfície epitelial esteja relacionada as forças de Donnan.

As forças de Donnan de mucinas polianiónicas secretadas, osmoticamente atraem fluidos para promover a hidratação das mucinas, ou seja, a expansão das mesmas. Em pacientes com FC, as mucinas desidratadas e enrijecidas bloqueiam os ductos e lumens de glândulas de vários órgãos e nas VAs favorecem a formação das bronquiectasias (Oppenheimer & Esterly, 1975).

Recentemente, foi verificado que a causa do muco espesso em pacientes com FC não é apenas devido a desidratação das mucinas, mas também pela falta da secreção de HCO_3^- que fisiologicamente deve ser secretado simultaneamente com a exocitose das mucinas para capturar o Ca^{2+} e tamponar o H^+ e assim promover o equilíbrio eletrostático (Quinton, 2008).

1.4. Bicarbonato (HCO_3^-) nas VAs saudáveis e nas VAs da FC.

O comprometimento da secreção de HCO_3^- foi estudado em vários órgãos na FC, entre eles, o pâncreas (Hardon *et al.*, 1968; Kopelman *et al.*, 1988); o intestino (Hogan *et al.*, 1997; Seidler *et al.*, 1997; Clarke & Harline, 1998), a vesícula biliar (Cuthbert, 2001), o trato reprodutivo (Chan *et al.*, 2006) e as VAs (Smith & Welsh, 1992; Coakley, 2003).

A função da proteína CFTR e a permeabilidade do Cl^- têm sido amplamente documentas em células epiteliais das VAs de pacientes com FC (Johansen, 1968; Anderson, 1984; Kopelman *et al.*, 1988; Frizzell, 1999). Porém, algumas pesquisas, relatam que além do distúrbio no transporte do Cl^- , mutações associada ao gene CFTR também levam ao transporte anormal do ânion HCO_3^- (Illek *et al.*, 1997; Linsdell *et al.*, 1997; Quinton, 1999; Reddy & Quinton, 1999; Quinton 2001; Choi *et al.*, 2001; Garcia *et al.*, 2009; Muchekehlu & Quinton, 2010; Lee *et al.*, 2012).

Quinton, 2008 relata que na FC a secreção de HCO_3^- é ausente ou deficiente e a presença do mesmo na superfície epitelial é essencial para promover a expansão das mucinas (**Figura 7**). Assim, a não expansão das mucinas favorece a produção de muco pegajoso e muito viscoso de difícil mobilização, com consequente comprometimento de vários órgãos de pacientes com FC (Burgel *et al.*, 2007).

Os primeiros estudos sobre o ânion HCO_3^- foram realizados em pâncreas e intestinos. Pacientes com FC apresentam defeito na secreção de HCO_3^- inversamente relacionado com a gravidade da doença caracterizada por suficiência (Kopelman *et al.*, 1985) ou insuficiência pancreática (IP) onde se verificam baixo volume ou ausência do HCO_3^- , respectivamente. (Haddon *et al.*, 1968; Durie *et al.*, 1999)

Dependendo do grau de disfunção no transporte do HCO_3^- existe maior ou menor comprometimento na gravidade da FC (Choi *et al.*, 2001; Reddy & Quinton, 2003) (**Figura 8**).

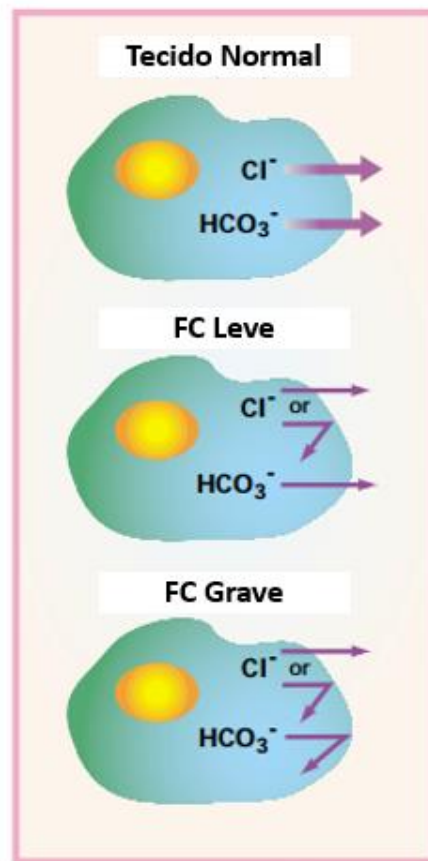


Figura 8. Grau de disfunção no transporte do HCO₃⁻. **Fonte:** Adaptado de Quinton, 2001.

Choi et al., 2001 avaliaram células renais com 17 diferentes variações da CFTR associada a FC e observaram que nestas células com variações associadas com IP apresentaram menor atividade no transporte de HCO₃⁻ do que observados nas células controles. Em contrapartida, naqueles com SP a capacidade em transportar o HCO₃ foi maior. Os autores sugerem que a CFTR não é apenas essencial para o transporte do Cl⁻, mas é também responsável no transporte do HCO₃⁻.

Na superfície epitelial normal, o HCO₃⁻ provavelmente desestabiliza a mucina compactada em grânulos por neutralizar o H⁺ e possibilitar a repulsão eletrostática dos cátions de Ca²⁺, desde modo, promove expansão, dispersão e formação em gel das mucinas (Chen *et al.*, 2010; Ambort, 2012; Yang *et al.*, 2013).

NA FC, alterações na concentração do HCO₃⁻ podem prejudicar os níveis de pH e a expansão das mucinas (Garcia *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2010; Muchekeh & Quinton, 2010; Gustafsson *et al.*, 2012), bem como, impedir a transportabilidade de fluídos de compartimentos luminal ou em superfícies epiteliais, alterar mecanismos de resposta imunológica, nas propriedades viscoelásticas do muco e podem causar deterioração da

FP propiciando maximização do binômio inflamação e infecção das vias aéreas (Holma & Hegg, 1989) incluindo as VAs pequenas (Quinton, 2001). O muco espesso com consequente obstrução de pequenas VAs é a causa primordial da mortalidade em pacientes com FC (Zuelzer & Newton, 1949; Hamutcu *et al.*, 2002; Tiddens *et al.*, 2010).

As VAs pequenas são capazes de secretar fisiologicamente o HCO_3^- . **Primeiro:** a secreção de HCO_3^- é muito diminuída ou ausente em pacientes com FC. (Anderson, 1984, Quinton, 2001, 2010). **Segundo:** sabe-se que a morbidade e mortalidade na FC estão relacionadas a deterioração da FP por comprometimento das pequenas VAs. (Zuelzer & Newton, 1949; Tiddens *et al.*, 2010, Hamutcu *et al.*, 2002). Essas observações abrangem os seguintes fatos:

A proteína CFTR está localizada no epitélio das VAs nas células ciliadas (Muanprasat *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2005,).

Dependendo do tipo de alteração da proteína CFTR no epitélio das vias aéreas na FC (ausência, deficiência qualitativa ou quantitativa), a permeabilidade ao HCO_3^- é muito variável (Poulsen *et al.*, 1994, Reddy & Quinton, 1999, Lindsell *et al.*, 1997).

Em 2013, Yang *et al.*, analisaram em intestinos de ratos, que a formação normal do muco necessita da exocitose de células caliciformes de mucinas pelo Ca^{2+} -mediado e simultaneamente da estimulação da secreção de HCO_3^- pelo AMPc dependente. A secreção fisiológica do HCO_3^- pela CFTR (AMPc)-dependente, estimula a deposição de mucinas exocitosadas no intestino delgado de ratos. Na FC, ocorre deficiências na secreção de HCO_3^- devido a disfunção da CFTR e falha na exocitose pelo Ca^{2+} -mediado, o que favorece na viscosidade patológica do muco (Yang *et al.*, 2013).

Do mesmo modo, no trato respiratório, Shamsuddin & Quinton, 2014 realizaram um estudo experimental de eletrofisiologia em porcos e demonstraram que o epitélio das VAs pequenas secretam HCO_3^- por pelo menos duas vias separadas. Uma via pela CFTR dependente pelo AMPc mediado por receptores via beta adrenérgica e a outra via pelo CaCC (*Calcium Activated Chloride Channels*) dependente, possivelmente pela via Ca^{2+} mediado pelos receptores purinérgico luminal (Shamsuddin & Quinton, 2014). Os autores concluíram que as secreções de HCO_3^- nas pequenas VAs não é apenas para efeito tampão do pH. Entre outras atividades inclui produção e maturação das mucinas e atividade bactericida de peptídeos antimicrobianos (AMPs) na defesa das VAs pequenas (Shamsuddin & Quinton, 2014).

No experimento de Hoegger *et al.*, também em 2014 e o estudo de Pedersen *et al.*, 1999, ambos com porcos mutados, demonstraram a presença de níveis baixos de pH na

superfície das VAs na FC, com morte bacteriana e muco espesso interferindo no transporte mucociliar (Pedersen *et al.*, 1999; Hoegger *et al.*, 2014;). Da mesma forma, Shah *et al.*, 2016, apresentaram fortes evidências sobre a deficiência do HCO_3^- nas VAs de camundongos com FC e, este fato contribuiu para uma sequência patogênica no pulmão, como por exemplo, acidificação da superfície líquida das VAs; defesa imunológica deficiente; inflamação; hipersecreção do muco e viscosidade aumentada do mesmo.

Numerosas estratégias de limpeza das vias aéreas têm sido estudadas e propostas ao longo dos anos, sendo que os antibióticos inalatórios, rhDNase, solução salina hipertônica e técnicas de fisioterapia respiratória são as terapias mais utilizadas. Cada uma destas terapias tem mecanismos de ação diferentes. Em contrapartida, nenhuma dessas terapias está destinada a tamponar a acidez anormal de fluido das vias aéreas ou explorar as propriedades benéficas do bicarbonato para normalizar as alterações do muco nos pacientes com FC.

Atenção deve ser dada na possibilidade de alterações na composição e no volume dos fluidos na superfície das vias aéreas como uma das causas dessas anormalidades.

2. Justificativa

Existem dados que sugerem que os defeitos na secreção de bicarbonato desempenham papel primordial na patogênese da FC (Quinton, 2008; Garcia *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2010; Muchekehr & Quinton, 2010; Quinton 2010; Gustafsson *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2013). Entre estes estudos é verificado que existe defeito na secreção de bicarbonato e acidez anormal nos pulmões de pacientes com FC (Coakley *et al.*, 2000; Coakley and Boucher, 2001; Pezzulo *et al.*, 2012).

Em contrapartida, até o momento pouco se sabe sobre os efeitos da diminuição da secreção do HCO_3^- e como isso leva a anormalidades no transporte mucociliar na CF (Quinton, 2001, 2006, 2008). Porém, dois estudos indicam que a gravidade da doença pulmonar pode estar correlacionada com a preservação da função do transporte de HCO_3^- na CFTR (Choi *et al.*, 2001; Reddy & Quinton, 2003).

Recentemente Stigliani *et al.*, 2015, estudaram a ação do NaHCO_3 diretamente na secreção coletada de pacientes com FC e verificaram que o mesmo foi capaz de alterar as propriedades reológicas da secreção tornando-a mais fluida.

Existem poucos relatos da utilização de soluções de NaHCO_3 até uma concentração de 8,4% como adjuvante no fluido inalatório. (Eschenbacher *et al.*, 1991; Hurlbut *et al.*, 1992; Cheng *et al.*, 1996). Um destes relatos incluiu indivíduos com tosse crônica, recebendo inalação de solução salina com HCO_3^- e mostrou aumento das taxas de “clearance” de isótopos radioativos depositados nas vias aéreas (Haidl *et al.*, 2000). Os pacientes não apresentaram reações adversas com estas aplicações, incluindo o bicarbonato de sódio em pó inalado como partículas sólidas (“dry powder”) (Eschenbacher *et al.*, 1991; Gross *et al.*, 1995;).

De acordo com os estudos de Quinton PM, existem, pelo menos, três razões para o uso terapêutico do bicarbonato em aerossol, na doença pulmonar na FC:

i) o muco é uma rede constituída de grandes moléculas polieletrólíticas, cujas propriedades físicas (especialmente a viscoelasticidade) são altamente dependentes da força iônica, do pH, da composição de eletrólitos e de seu ambiente. O bicarbonato parece ser importante para o processamento extracelular do muco e diminui dramaticamente a viscosidade do mesmo (Quinton, 2008; Garcia *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2010; Muchekehr & Quinton, 2010; Quinton, 2010; Gustafsson *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2013). O

bicarbonato exógeno pode melhorar as propriedades do muco e promover melhor limpeza mucociliar.

ii) as alterações no pH da superfície das VAs podem ser altamente bactericidas e, portanto, benéficas na manutenção da higiene pulmonar (Drake *et al.*, 1997; Dorschner *et al.*, 2006; Pezzulo *et al.*, 2012).

iii) se o fluído das vias aéreas FC requer superfície adicional para solubilizar o muco, soluções osmóticas, na forma de NaHCO_3 , ajudariam o fluído dentro da superfície das VAs e poderiam reforçar a mobilização dos detritos e remoção dos mesmos pela ajuda das células ciliadas e/ou pela tosse (Tarran *et al.*, 2007; Rasgado-Flores *et al.*, 2013).

Devido aos benefícios encontrados, em estudos *in vitro* e *in vivo*, sobre a deficiência de HCO_3^- , em pacientes com FC, nós propomos a adição de NaHCO_3 , nas vias aéreas, mediante inalação de solução hipertônica.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar a segurança e a tolerabilidade da inalação de solução de bicarbonato de sódio e seus efeitos em variáveis clínicas e em marcadores laboratoriais de pacientes com fibrose cística.

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a função pulmonar mediante espirometria, antes e após a inalação com NaHCO_3 ;
- Avaliar as propriedades reológicas e o pH do escarro expectorado antes e após inalação com NaHCO_3 ;
- Avaliar o pico de fluxo expiratório por meio de medidas do dispositivo “*peak flow meter*” antes, durante e após as inalações;
- Avaliar o desempenho físico e volume de oxigênio consumido por meio do teste de degrau (*Harvard Step Test*), nas visitas 1, 2, 3, 4 e 5;
- Avaliar qualidade de vida por meio de dois questionários antes, durante e após o tratamento com as inalações de NaHCO_3 .
- Verificar a presença de bactérias no muco antes e após o uso prolongado do NaHCO_3 .
- Analisar hemograma completo e eletrólitos na gasometria venosa.

4. MÉTODOS

4.1. Desenho do estudo

Estudo clínico experimental, longitudinal e prospectivo, em pacientes com FC. Trata-se de um estudo aberto (“*open-label*”) com escalonamento de doses, com foco na segurança, tolerabilidade e efeitos em variáveis clínicas e marcadores laboratoriais com inalação de soluções de bicarbonato de sódio.

4.2. Tamanho amostral

Participaram do estudo 19 pacientes com FC maiores de 10 anos de idade (amostra de conveniência) que frequentam o Centro de Referência em FC do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp).

4.3. Critérios de inclusão

- 1) Diagnóstico da FC baseado em sintomas clínicos e confirmação laboratorial de duas dosagens de cloreto no suor, acima de 60 mEq/L ou duas variantes do gene *CFTR*.
- 2) Idade > 10 anos.
- 3) Capacidade de concluir todas as avaliações de segurança e eficácia.
- 4) Estabilidade clínica, sem qualquer alteração em terapias crônicas por 28 dias antes da visita 1.
- 5) Pacientes que faziam uso de antibiótico inalado ou oral, deveriam estar em regime contínuo, de modo estável, para serem incluídos no estudo.
- 6) Pacientes com capacidade de expectorar secreção das vias aéreas de modo espontâneo.

4.4. Critérios de exclusão

- 1) Pacientes com incapacidade de entender o consentimento informado ou o assentimento informado, se menor de 18 anos.
- 2) Gravidez ou amamentação.
- 3) Uso concomitante de antibióticos orais, intravenosos, ou recém-prescritos antibióticos inalatórios no prazo de 28 dias de inscrição (Visita 1). Uso profilático crônico de antibióticos, incluindo os inalados, por mais de 28 dias, foi permitida no estudo.
- 4) Condições médicas, psicológicas ou sociais que, na opinião do pesquisador, não permitiriam o paciente de concluir, com segurança, o estudo.
- 5) Incapacidade do participante de aderir às terapias e avaliações diárias, conforme descrito no protocolo.
- 6) Incapacidade do participante para manter seu regime médico durante o período de estudo.
- 7) Participação em outro ensaio clínico terapêutico no prazo de 28 dias da visita de seleção.
- 8) Incapacidade de completar os critérios de segurança e eficácia do estudo.

4.5. Critérios de falha e reavaliação

Participantes que foram excluídos do estudo antes da inscrição na Visita 1 foram considerados como falha de triagem. Os indivíduos foram reavaliados apenas uma vez para a elegibilidade ao estudo. Todas as falhas foram documentadas com o motivo da falha como indicado:

Não conseguiu cumprir todos os critérios de inclusão do estudo ou desconhecimento dos critérios de exclusão antes de inscrição (**Visita 1**).

Retirada do consentimento informado

4.6. Variáveis estudadas

Primeiramente os participantes foram triados e aqueles que preencheram os critérios de inclusão, foram convidados a participar do estudo.

Depois de 2-4 semanas de triagem para assegurar a estabilidade clínica e obter dados fisiológicos e biomarcadores de linha de base, cada participante recebeu, por via inalatória, uma dose de solução de bicarbonato de sódio a 4,2%.

Os participantes foram submetidos à espirometria antes e após esta dose, bem como um exame clínico para avaliar a tolerabilidade. O participante que tolerou a primeira inalação, foi orientado para inalar a solução de bicarbonato de sódio na concentração de 4,2%, uma vez por dia, durante 2 semanas consecutivas.

A visita de acompanhamento (**Visita 2**) ocorreu 14 dias (± 2 dias). Nesta visita foram repetidas a espirometria, coletas de amostras de escarro e outras avaliações. Aquele participante que tolerou a inalação, sem efeitos adversos, inalou a mesma solução de bicarbonato de sódio a 4,2%, duas vezes por dia, por duas semanas consecutivas.

Na Visita 3 ou no dia 28 ± 3 dias, o paciente foi submetido a uma inalação de solução de bicarbonato de sódio 8,4%.

Variáveis fisiológicas e outros marcadores foram utilizados para avaliar a tolerabilidade e segurança. Se tolerado, o paciente passava a inalar esta dose duas vezes por dia, durante duas semanas.

O dia 42 ± 3 dias (**Visita 4**) foi o último do medicamento em estudo e os marcadores de segurança e de eficácia foram verificados.

No dia 56 ± 4 dias (**Visita 5**) ou duas semanas após a última dose do estudo, o paciente teve a última visita.

A decisão de avançar para o próximo nível de concentração mais elevada de NaHCO_3 ao longo do estudo e, particularmente, nas Visitas 2 e 3, foi determinada pelos pesquisadores (pesquisadora responsável e orientador médico pneumologista) junto com o participante, usando o histórico do paciente, os dados físicos e fisiológicos e preferência do participante. O paciente teve a opção de interromper a medicação do estudo ou continuar a inalação com a dose máxima tolerada.

4.6.1. Fármaco estudado

Foram fornecidos aos pacientes NaHCO_3 na concentração de 8,4% e água destilada, da empresa Samtec®, Ribeirão Preto, SP, Brasil (Figura 9).

Os participantes foram orientados a realizar a diluição do bicarbonato à 4,2% (2,5 ml de bicarbonato de sódio à 8,4% mais 2,5 de água destilada) e as inalações eram com 5ml da solução.



Figura 9. Fármacos estudados: (A) Bicarbonato de Sódio e (B) água destilada

4.6.2. Embalagem e rotulagem

Todos os pacientes receberam os flaconetes de bicarbonato de sódio e de água destilada:

Visita 1: inalações à 4,2% (1x/dia) de 5ml, flaconetes de água destilada e bicarbonato de sódio foram entregues ao participante;

Visita 2: inalações à 4,2% (2xs/dia) de 5ml, flaconetes de água destilada e bicarbonato de sódio foram entregues ao participante;

Visita 3: inalações à 8,4% (2xs/dia) de 5ml, apenas flaconetes de bicarbonato de sódio foram entregues ao participante.

Se a inalação inicial da solução a de 4,2% fosse tolerada, todos os participantes receberiam bicarbonato de sódio e água destiladas para diluição na Visita 1. Se a administração diária fosse bem tolerada, os participantes receberiam as mesmas soluções na Visita 2. Na Visita 3, os participantes que toleraram o teste de inalação à 8,4% de bicarbonato, receberam apenas flaconetes de 10ml de bicarbonato de sódio para inalarem 5ml duas vezes ao dia.

4.6.3. Armazenagem e manuseio

Foi orientado ao participante que armazenasse as soluções fornecidas em ambiente seco, limpo e em temperatura ambiente.

A inalação com solução à 4,2%, foi orientada ao participante que realizasse a diluição com água destilada, com agulha e seringa estéreis.

A inalação com solução à 8,4%, foi orientada ao participante que não realizasse diluição.

As inalações de ambas soluções foram de 5ml cada inalação e foram realizadas diariamente.

4.6.4. Dosagem e administração

Três esquemas de dosagem foram previstos durante o curso do estudo. A primeira dose foi de 5 ml de solução de bicarbonato de sódio à 4,2%, inalado através do sistema de nebulização da PRONEB® ou OMRON®, inalador de uso para as medicações que já são feitas de rotina, uma vez ao dia. O segundo esquema de dosagem foi utilizar 5 ml dessa solução, inalado através do sistema de nebulização, duas vezes ao dia. O esquema de dosagem final foi utilizar 5 ml da solução a 8,4% inalada através do sistema de nebulização mencionado, duas vezes, por dia.

Ao paciente foi solicitado registrar a utilização do medicamento do estudo no diário de dados (Apêndice 1) e manter os flaconetes utilizados. Estes foram contados para avaliar a adesão do paciente ao esquema de administração. Todos os participantes deveriam manter adesão ao tratamento maior ou igual a 80%. Os pacientes que não concluíram essas etapas foram descontinuados do estudo.

4.6.5. Medicações concomitantes permitidas

Em presença sintomas respiratórios graves entre as visitas do estudo, o participante foi orientado a retornar ao laboratório de pesquisa para uma visita não programada com o médico responsável pela pesquisa de modo a ser avaliado para tratamento com antibióticos. Além disso, o médico deveria fazer um registro especificando quais foram as alterações nos sintomas respiratórios do participante nos documentos da pesquisa.

Se necessário tratamento com antibióticos, esta visita poderia ser conduzida por telefone. Se o participante fosse descontinuado do estudo, o fim da visita terapêutica deveria ser agendado o mais rapidamente após o contato telefônico.

Se a necessidade do uso de antibióticos fosse identificada durante uma das visitas do estudo, os sintomas respiratórios que necessitam do uso de antibióticos deveriam ser documentados.

4.6.6. Dispositivos utilizados

Os nebulizadores utilizados nas inalações foram da PRONEB® ou OMRON® e as inalações foram realizadas com bocais (Figuras 10. A e B).

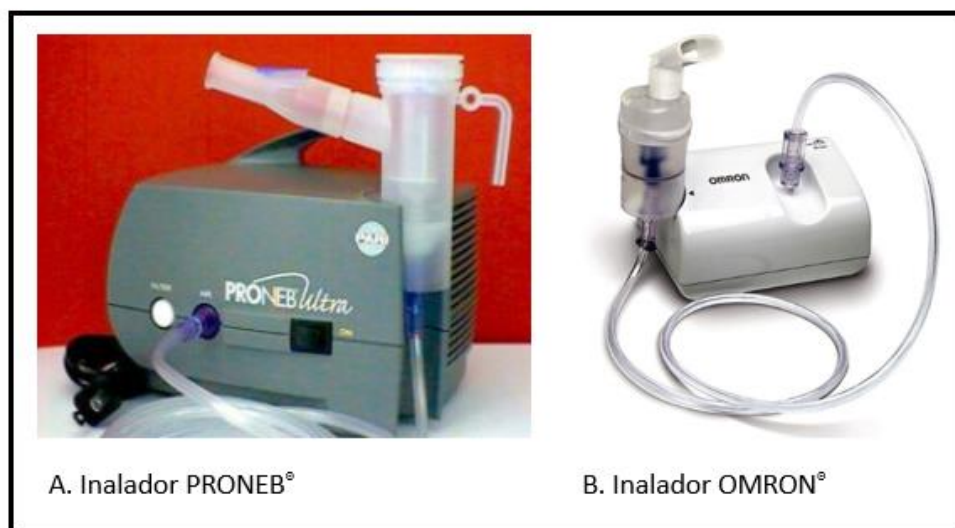


Figura 10. Dispositivos utilizados: (A) Inalador PRONEB® e (B) OMRON®

O participante foi instruído sobre o uso adequado do sistema de nebulização. Na Visita 1, os participantes deveriam:

Ler as instruções de uso do sistema de nebulização.

Receber instruções da equipe do estudo sobre a forma como respirar com o sistema de nebulização.

Demonstrar ao coordenador do estudo que ele/ela estava apto(a) a desmontar, limpar, esterilizar e remontar o sistema de nebulização.

4.6.7. Medicamento e condições do dispositivo

Todos os flaconetes (utilizados e não utilizados) com o medicamento do estudo, foram levados na **Visita 2** e devolvidos ao coordenador ou à responsável pela pesquisa. Além disso foi exigido que:

Os participantes deveriam gravar em cada flaconete a data em que o mesmo foi deslacrado e usado no registro diário. Os participantes foram orientados a não utilizar o flaconete que foi aberto em qualquer dia que não fosse o dia do calendário prescrito para a inalação.

Os pesquisadores registraram a data que o flaconete foi entregue, o número de registro e as iniciais do participante com a quantidade do medicamento dispensado.

Os pesquisadores gravaram a data do retorno e a quantidade do medicamento utilizado e não utilizado.

Os participantes deveriam ter pelo menos 80% de adesão ao tratamento para continuar no estudo. Aqueles que foram descontinuados completaram o fim da visita terapêutica.

4.6.8. Procedimentos do estudo

Os procedimentos do estudo foram realizados para todos os participantes incluídos e estão descritos a seguir.

4.6.9. Local da pesquisa

Todas as visitas clínicas durante o estudo ocorreram no Laboratório de Fisiologia Pulmonar (LAFIP) do Centro de Investigação em Pediatria (CIPED) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

4.6.10. Procedimentos realizados em todas as visitas

A) Análise da elasticidade, da viscosidade e do pH,

Para ambas análises o escarro foi coletado em tubo *falcon* estéril de 15 ml (**Figura 11**).

A quantidade mínima de escarro aceita para análise foi de 3ml.



Figura 11. Tubo Falcon de 15ml

- Estudo da deformação e do fluxo do escarro: Análise de reologia.

A reologia é uma área da ciência que estuda a resposta de um material mediante à aplicação de uma deformação mecânica na forma de tensão (Goodwin, 2000). As propriedades mecânicas avaliadas pela reologia consistem nas análises da viscosidade, elasticidade e viscoelasticidade.

Em relação a composição química do muco, podemos considerá-lo como um fluído de comportamento pseudoplástico de estrutura integrada de biopolímeros, caracterizado mais elástico do que viscoso (Stigliani *et al.*, 2015). Seu comportamento físico é complexo e é considerado não newtoniano, por possuir propriedades altamente heterogêneas e que estão entre o comportamento viscoso, elástico e sólido (Rubin, 2007).

As medições reológicas do muco incluem: (i) elasticidade – G' (rigidez ou módulo de armazenamento) e (ii) viscosidade – G'' (resistência ao fluxo ou módulo de perda), e, quando as medições são realizadas juntamente para descrever a consistência do muco

temos complexo ou modulo viscoelástico – G^* (Serisier *et al.*, 2009; Stigliani *et al.*, 2015).

As propriedades reológicas do muco se expressam dependendo da força de cisalhamento, ou seja, é o tipo de tensão gerada em sentidos oposto, porém em direções semelhantes no material analisado.

No entanto, as mudanças nas características físico-químicas do muco podem influenciar sua capacidade de lubrificação e permitir as infecções com consequências diretas de mudanças físicas em suas propriedades. Na FC, o muco é considerado viscoso chegando a ser 100.000 vezes mais viscoso que a água. (Lai *et al.*, 2009)

Neste estudo, avaliamos as propriedades macroreológicas do muco de pacientes com FC sob intervenção com inalações com bicarbonato de sódio, e verificamos se o muco apresentou diferenças em suas características antes, durante e após tratamento.

- Parte Experimental da Reologia

Os estudos reológicos foram realizados no reômetro Haake RheoStress 1 (modelo Thermo Scientific Haake RheoStress 1) da Thermo Scientific® (**Figura 12. A**) com a geometria placa-placa de 35mm de diâmetro do Instituto de Química da Unicamp sob a responsabilidade e orientações técnicas do Professor Doutor Francisco Benedito Pessine e do Doutorando Karl Jun Clinkspoor.

A temperatura da sala foi mantida à 23°C durante todas as medidas do experimento. O muco deveria cobrir toda a placa, como demonstrado na (**Figura 12. B e C**) e além disso, o escarro era recoberto para não ressecar (**Figura 12. D**).

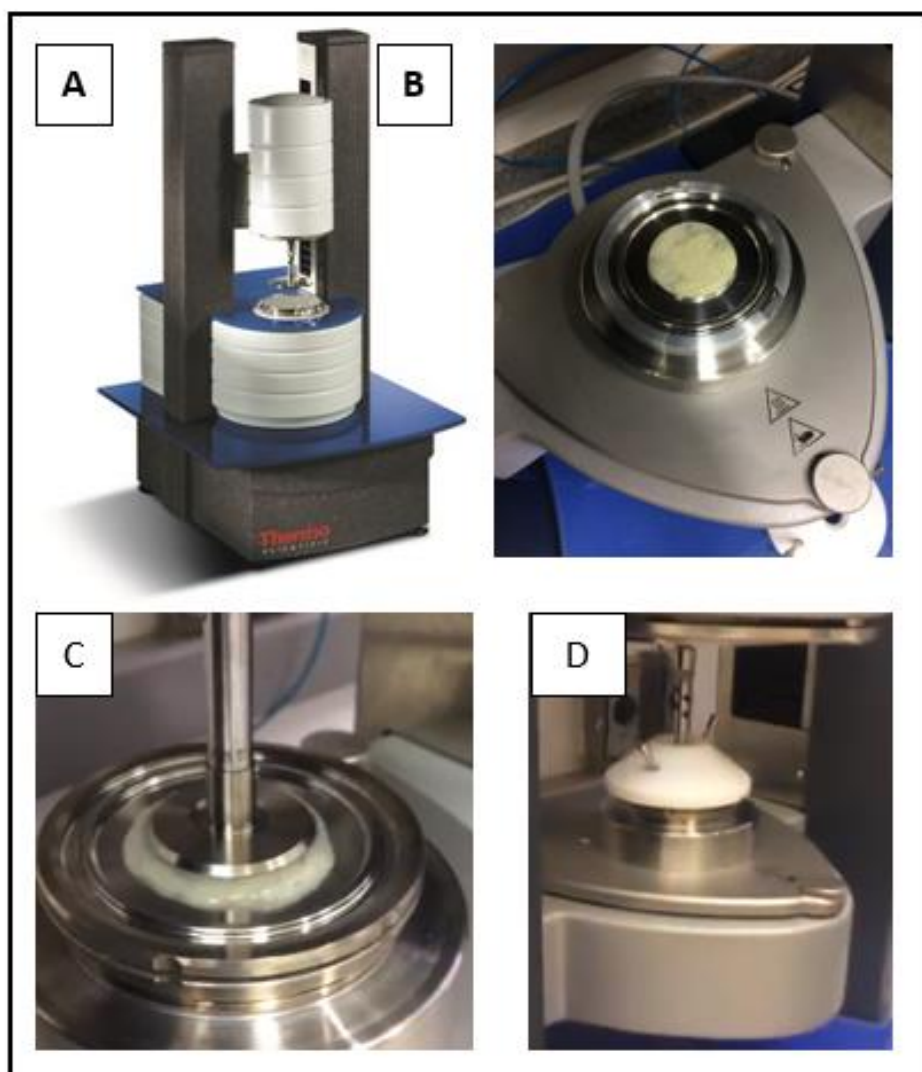


Figura 12. Etapas da reologia: (A) Reômetro; (B) Escarro na placa; (C) Início da reologia do escarro; (D) Suporte para evitar a evaporação do escarro.

- Método experimental da Reologia do escarro dos pacientes estudados.

As medidas consistiram de quatro elementos em sequência, que foram:

1. Termostatização a 37 graus Celsius por 5 minutos
2. Ensaio Oscilatório de varredura de tensão, para determinar o regime linear de 0,01 Pa a 0,75 Pa a 1Hz;
3. Ensaio Oscilatório de varredura de frequência em uma tensão da região linear de 0,1Hz à 5Hz;
4. Curva de fluxo de 0,01cm⁻¹ a 1cm⁻¹ de taxa de cisalhamento.

Para obter os valores de viscosidade do repouso foram utilizados dois métodos de ajuste da curva de fluxo:

1. Ajuste linear da região newtoniana;
2. Ajuste completo da curva pelo método de Carreau.

Para estudar os ensaios de varredura de frequência, foram realizados ajustes exponenciais de G' (elasticidade) e G'' (viscosidade) e ajustes lineares G^* (viscoelasticidade). Com isso, o ruído a altas frequências foi removido. Assim, foi possível calcular a média de G' e G'' na região confiável, o valor de G' e G'' a 0,8 Hz, e os parâmetros que descrevem o aumento exponencial de G' e G'' .

- pH:

Para as análises de pH foram utilizados os seguintes materiais:

- pHômetro da marca OHAUS®, modelo ST2100 (**Figura 13**).
- Eletrodo do tipo escoamento e faixa de leitura 0 a 14 pH, específico para materiais com presença de proteínas, gordura e cremes da marca Digimed® (**Figura 14**).

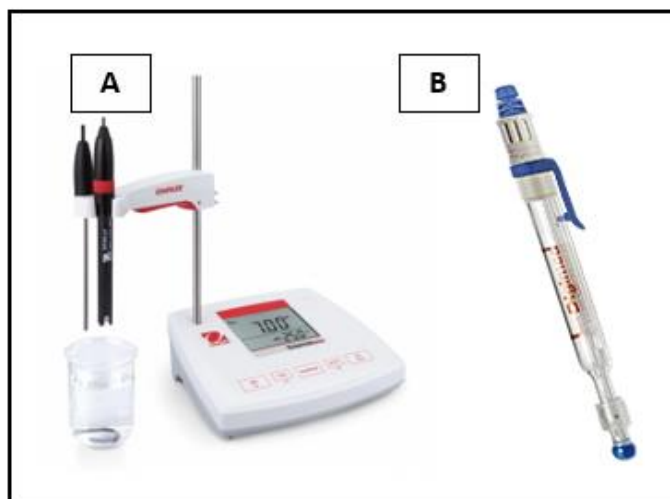


Figura 13. Análise do pH: (A) pHômetro da marca OHAUS® e Eletrodo Digimed®.

B) Análise semi-quantitativa das bactérias isoladas nas amostras

A análise semi-quantitativa das bactérias foram realizadas apenas na triagem e na última visita (**Visita 5**).

As amostras foram analisadas no Laboratório de Patologia da UNICAMP, supervisionado pelo Professor Dr. Carlos Emílio Levy

A quantidade bacteriana foi classificada da seguinte maneira:

- + : pequena quantidade de bactérias;
- ++ : moderada quantidade de bactérias;
- +++ : grande quantidade de bactérias.

As bactérias analisadas foram, pseudomonas não mucóide, pseudomonas mucóide e staphilococcus aureus.

C) Espirometria

A espirometria foi utilizada para analisar alterações nos parâmetros com o uso de NaHCO_3 inalado e realizada de acordo com as normas da *American Thoracic Society* (ATS) e da *European Respiratory Society* (Miller, 2005). O aparelho utilizado foi o da marca Koko[®] (Ferraris, USA) (**Figura 14**). Pelo menos três curvas fluxo-volume máximas aceitáveis e reprodutíveis foram obtidas antes e após o uso de um broncodilatador (Salbutamol, 400 μg).

Foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Pulmonar (LAFIP) do Centro de Investigação em Pediatria (CIPED) pela autora do trabalho. A sala da espirometria foi climatizada à 22°C em todas as análises.

Foram avaliados os valores de VEF_1 e CVF, relação VEF_1/CVF , ($\text{FEF}_{25-75\%}$), e pico de fluxo expiratório (PEF). Consideram-se parâmetros dentro da normalidade quando os valores de VEF_1 e CVF foram maiores que 80% do previsto e a relação VEF_1/CVF maior que 0,8.



Figura 14. Espirômetro Koko[®]

D) Pico de Fluxo (*Peak Flow Meter*)

Nas análises utilizamos o dispositivo *peak-flow meter* (debitômetro) (**Figura 15**) para mensurarmos a eficácia da função pulmonar e verificarmos a resposta da inalação com NaHCO_3

As medidas do pico de fluxo foram coletadas em todas as visitas e também todos os dias pelo paciente e os valores foram anotados no registro diário (**Apêndice 1**).



Figura 15. peak-flow meter

O paciente foi instruído de como realizar as mensurações no aparelho *peak flow meter*. As instruções foram adaptadas a partir do site *American Lung Association*:

[http://www.lung.org/lung--doença/asma/convivência com asma/controlar sua asma/medir seu fluxo de pico-rate.html](http://www.lung.org/lung--doença/asma/convivência-com-asma/controlar-sua-asma/medir-seu-fluxo-de-pico-rate.html).

As instruções aos pacientes constituíram das seguintes etapas:

Etapas 1: verificar antes de cada uso, se o marcador deslizante ou a seta do medidor de pico de fluxo estava na parte inferior do escala numerada (zero ou no menor número da escala).

Etapas 2: realizar a manobra expiratória na posição ortostática (em pé). Remover qualquer alimento da boca. Inspirar o mais profundo possível. Fechar bem os lábios em

volta do bocal. Ter certeza que a língua não estava obstruindo o bocal. De uma só vez, soprar o mais forte e o mais rápido possível

Passo 3: a força do ar que sai dos pulmões faz com que o marcador se mova ao longo da escala numérica. Anotar o número no registro diário.

Passo 4: Repetir esta manobra por três vezes. (Manobras corretas eram observadas se os números das três tentativas estavam próximos do mesmo número).

Passo 5: Registrava-se a maior medida das três avaliações no diário. Sem calcular a média.

Passo 6: Media-se pico de fluxo próximo ao mesmo horário todos os dias. Era recomendado entre 18 às 20 horas, imediatamente após a inalação com broncodilatador e também antes da inalação de NaHCO_3 conforme descrito no diário de dados (**Apêndice 1**)

Passo 7: Registrava-se o melhor valor das três medidas de pico de fluxo no diário todas as tardes. O paciente era orientado para trazer o diário a cada visita do estudo.

E) Teste do degrau (*Harvard Step Test*)

O *Harvard Step Test* é um teste utilizado para avaliar a aptidão física aeróbica (Brouha 1943; Meyers, 1969) e o mesmo também correlaciona-se a 0,6 a 0,8 do VO₂max.

Para a realização do teste do degrau foi utilizado um *step* da marca kikos® (**Figura 16**) regulável com variação de altura entre 15 a 30 cm, com as seguintes dimensões 66cm de largura x 37,5cm de comprimento x 30,0cm de altura. Nas nossas análises a altura foi estabilizada em 30cm.



Figura 16. Step kikos®

Foi solicitado ao paciente subir e descer do *step* de 30cm de altura (subir com pé direito primeiramente e em seguida subir com o pé esquerdo. Depois descer com o pé direito seguido do pé esquerdo) por um total de 5 minutos ou até exaustão muscular (fadiga).

A fadiga muscular foi definida como incapacidade de manter o progresso do exercício por 15 segundos. Neste caso o participante foi orientado a parar e concluir o teste.

Após o termino do teste foi mensurada a FC entre o 1-1,5 minutos, 2-2,5 minutos e 3-3,5 minutos. A pontuação do índice de aptidão física foi calculada da seguinte forma:

Índice de Fitness = (100 x duração do teste em segundos) dividido por (2 x soma de batimentos cardíacos nos períodos de recuperação).

A pontuação do índice de aptidão física foi classificada como:

- > 90: excelente aptidão cardiorrespiratória;
- 80-89: boa aptidão cardiorrespiratória;
- 65-79: acima da média da aptidão cardiorrespiratória;
- 55-64: baixa aptidão cardiorrespiratória;
- < 55: fraca aptidão cardiorrespiratória.

O consumo de oxigênio (VO₂max) é calculado a partir do seguinte fórmula:

$$\text{VO}_2 \text{ (ml/kg/min)} = 0,2x \text{ (passos / min)} + [1,33x1,8x \text{ (altura do degrau em metros)} \\ \times \text{ (passos / min)}] + 3,5 \text{ ml/kg/min.}$$

O VO₂máx, foi convertido para gasto energético (kcal/min) com a seguinte equação (ACSM 7th Edition 2006):

$$\text{Gasto energético (kcal / min)} = [\text{VO}_2 \text{ (ml / kg / min)} \times \text{peso (kg)}] / 1000 \times 5 \\ \text{kcal / L}$$

F) Questionário de Qualidade de Vida e de Dispneia de San Diego

Todos os pacientes responderam ambos questionários em todas as visitas (**Anexos 1 e 2**).

E) Monitoração dos efeitos colaterais

Para avaliar a tolerabilidade das inalações com NaHCO_3 , e verificar efeitos colaterais, foi utilizado um diário de dados (Apêndice 1) que era preenchido pelo próprio paciente diariamente.

Durante as visitas todos os pacientes foram examinados clinicamente quanto a FR; FC; SaO_2 ; peso; temperatura corporal e questionário de dispneia.

H) Coletas de hemograma e gasometria venosa

Foram realizadas nas visitas pré e na última visita (ambas sem utilização de inalações com NaHCO_3).

4.6.11. Roteiro de todas as visitas ao Centro

Visita de Triagem:

Os participantes foram triados entre 2 e 4 semanas antes da Visita 1, para determinar a elegibilidade para participar no estudo.

Os participantes tiveram um número de identificação único no momento da visita de seleção. Todas as triagens de avaliação foram concluídas antes da inscrição na Visita 1. Todos os testes e procedimentos de triagem foram concluídos antes dos participantes receberem a primeira dose de inalação com bicarbonato de sódio a 4,2% na Visita 1.

- Foram realizadas as seguintes avaliações de triagem:

- Obtenção da assinatura dos pais ou responsáveis legais no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice 2) e, se menor de 18 anos de idade, obtivemos também o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) do participante (Apêndice 3). Avaliação dos critérios de inclusão e exclusão.
- Os responsáveis foram instruídos, que poderiam acompanhar os participantes no momento das avaliações.
- Aplicação do questionário fibrose cística-revisado (QFCR) (Rozov 2006) (**Anexo 1**) e o questionário de dispneia de San Diego (QDSD) (Eakin EG, 1998) (**Anexo 2**) aos participantes (e aos pais, se fosse o caso) antes de quaisquer procedimentos adicionais.
- Obtenção das informações demográficas.
- Registro da história médica atual e as histórias de inalações, de tratamentos com antibióticos, via oral ou sistêmica, de todas as internações respiratórias e do uso de antibióticos por via intravenosa para tratamento de exacerbações respiratórias.
- Registro da data e os métodos de registro utilizados para diagnosticar FC, tais como, teste do suor, estudo das mutações do gene *CFTR*, diferença de potencial nasal (NPD), e biópsia retal.
- Verificamos se a tomografia computadorizada foi obtida nos últimos dois anos antes da Visita 1. Achados crônicos estáveis (por exemplo, a cicatrização crônica, bronquiectasias ou atelectasia) foram permitidos.
- Documentamos todos os medicamentos e terapias atuais.
- Realizamos exame físico.

- Registramos os sinais vitais, peso corporal e altura.
- Coletamos o sangue para hemograma completo.
- Realizamos os exames de espirometria pré e pós broncodilatador com salbutamol (Aerolin®, *Glaxo Smith Kline*, 100mcg/jato de spray 4 aerogações).
- Coletamos o primeiro escarro para medir o pH e avaliar a viscosidade do mesmo (primeiro frasco) e análises microbiológicas (segundo frasco). A análise microbiológica da secreção foi realizada no laboratório de microbiologia do Hospital de Clínicas-UNICAMP.
- O paciente realizou o teste do degrau (*Harvard Step Test*).
- Fornecemos registro diário (Apêndice 1) e instrução de como completar o registro, incluindo o uso de escalas visuais analógicas para dispneia; tosse; congestão e outros sinais de exacerbação, incluindo mudanças nos sintomas de sinusite, hemoptise, mal-estar ou falta de energia, perda de peso, febre ou ausência no trabalho ou na escola.
- Fornecemos instruções e demonstramos ao paciente como ele deveria realizar medições do *peak flow*, do diário e das coletas de escarro de 24 horas.
- Revisamos a ordem diária de terapias padrão e a programação do medicamento
- Entre a visita de triagem e a Visita 1, o participante foi visto brevemente para efetuar um teste do degrau (*Harvard Step Test*), revisamos o registro diário e confirmamos se a técnica de medição diária do pico de fluxo estava adequada.

Visita 1- NaHCO₃ a 4,2% 1x/dia (Inscrição/Início) (d0)

- As seguintes avaliações foram realizadas na Visita 1:
- Aplicamos o QFCR (**Anexo 1**) e o QDSD (**Anexo 2**) aos participantes antes de quaisquer procedimentos adicionais.
- Realizamos exame físico completo.
- Registramos os sinais vitais, peso corporal e altura.
- Coletamos a amostra de escarro de 24 horas, que foi coletada pelos participantes no dia anterior da visita.
- Realizamos os exames de espirometria pré e pós broncodilatador com salbutamol (Aerolin®, *Glaxo Smith Kline*, 100mcg/jato de spray 4 aerogações) antes da inalação (com nebulizador) de 5ml de solução de NaHCO₃ a 4,2%.
- Administramos a primeira dose de 5ml de NaHCO₃ a 4,2%.
- Confirmamos se os participantes apresentaram sintomas imediatos associados à inalação. Avaliamos a ausculta pulmonar, saturação e a frequência cardíaca.
- Realizamos as coletas de escarro para análise de pH e a viscosidade do escarro. As amostras de escarro foram coletadas em tubos *falcon* estéreis e descartáveis nos momentos 0, 30, 60, 90 e 180 minutos após inalação.
- Realizamos o teste do degrau (*Harvard Step Test*).
- Confirmamos com os participantes a dosagem de uma vez por dia para as próximas semanas. Confirmamos junto com o participante a ordem recomendada e a ordem de terapias no registro diário.
- Coletamos o registro diário que foi entregue no dia da triagem e da mini triagem e distribuímos um registro diário para as próximas duas semanas. Confirmamos o uso do registro diário incluindo o uso de escalas visual analógica para a dispneia, tosse, congestão e outros sinais de exacerbação incluindo mudanças nos sintomas de sinusite, hemoptise, mal-estar ou falta de energia, perda de peso, febre ou ausência no trabalho ou na escola.
- Fornecemos instruções e avaliamos a capacidade de realizar as medidas de pico de fluxo diário com o dispositivo *peak flow*.
- Revisamos junto com o participante a ordem diária de terapias padrão e a programação.
- Revisamos e confirmamos se os participantes entenderam o uso adequado do sistema de nebulização e se demonstraram proficiência na utilização.

Visita 2 – NaHCO₃ a 4,2% 2xs/dia - Segundo Esquema de dosagem (d14 ± 2)

- As seguintes avaliações foram realizadas na Visita 2:
- Aplicação do QFCR (**Anexo 1**) e do QDSD (**Anexo 2**) aos participantes antes de quaisquer procedimentos adicionais;
- Exame físico.
- Registro dos sinais vitais e peso corporal.
- Coletamos o registro diário (Apêndice 1) de duas semanas anteriores. Distribuímos novo registro diário para as 2 semanas seguintes.
- Avaliamos a adesão dos participantes: Contamos o número de flaconetes utilizados e não utilizados e analisamos as datas nos flaconetes com a documentação no registro diário.
- Realizamos os exames de espirometria pré e pós broncodilatador com salbutamol (Aerolin®, *Glaxo Smith Kline*, 100mcg/jato de spray 4 aerogações). Verificamos juntamente com o participante se o mesmo teve alguma intercorrência em casa durante o uso da inalação.
- Se os critérios acima fossem cumpridos, os participantes começariam a inalar 5ml de bicarbonato de sódio a 4,2%, duas vezes por dia;
- Os participantes que suportaram a dose de 5ml na concentração de 4,2% uma vez ao dia, passaram a inalar a mesma dose por duas vezes ao dia (de manhã e à tarde). Confirmamos com os participantes que a dosagem para as próximas duas semanas seriam duas vezes por dia, bem como, a ordem recomendada e a ordem das terapias no registro diário.
- Coletamos a secreção e avaliamos o pH e a viscosidade do escarro, coletado em tubo *falcon* a cada 30 minutos durante um total de 180 minutos após o início da inalação.
- Realizamos o teste do degrau de (*Harvard Step Test*).
- Coletamos a amostra de 24 horas.
- Revisamos e confirmamos se os participantes entenderam o uso adequado do sistema de nebulização.
- Os participantes que não avançaram para o próximo esquema de administração do medicamento, tiveram uma segunda chance em continuar no primeiro esquema de dosagem. Os participantes que não quiseram continuar, após discussão com os pesquisadores, foram descontinuados.

Visita 3– NaHCO₃ a 8,4% 2xs/dia (terceira dosagem) (d28 ± 3 dias)

- As seguintes avaliações foram realizadas na Visita 3:
- Aplicamos o QFCR (**Anexo 1**) e o QDSD (**Anexo 2**) aos participantes antes de quaisquer procedimentos adicionais.
- Realizamos exame físico.
- Registramos os sinais vitais e peso corporal.
- Obtivemos a amostra de escarro de 24 horas.
- Avaliamos a adesão dos participantes: Contamos o número de flaconetes utilizados e não utilizados e verificamos as datas nos flaconetes com a documentação no registro diário. Confirmamos se a aderência ao estudo foi >80%.
- Coletamos o registro diário (Apêndice 1) de duas semanas anteriores. Distribuímos novo registro diário para as duas semanas seguintes. Confirmamos o uso do registro diário, incluindo o uso de escalas visuais analógicas para dispneia; tosse; congestão e outros sinais de exacerbação, incluindo mudanças nos sintomas de sinusite, hemoptise, mal-estar ou falta de energia, perda de peso, febre ou ausência no trabalho ou na escola.
- Fornecemos instruções e verificamos a capacidade de realizar as medições de pico de fluxo diário com o dispositivo *peak flow meter*.
- Revisamos e confirmamos se os participantes entenderam o uso adequado do sistema de nebulização e se demonstraram proficiência na utilização do mesmo.
- Perguntamos ao paciente como foram as inalações anteriores e se o mesmo apresentou algum desconforto ou evento adverso.
- Realizamos os exames de espirometria pré e pós broncodilatador com salbutamol (Aerolin®, Glaxo Smith Kline, 100mcg/jato de spray 4 aerogações) antes da inalação com NaHCO₃ a 8,4%.
- Se os critérios acima fossem cumpridos, os participantes começariam a inalar 5ml de solução de NaHCO₃ a 8,4%, duas vezes por dia.;
- Administramos uma dose de 5 ml de solução de NaHCO₃ a 8,4%. Confirmamos com os participantes que a dosagem para as próximas duas semanas seriam duas vezes por dia a ordem recomendada e a ordem das terapias no registro diário.
- Confirmamos se os participantes não apresentaram sintomas imediatos associados à inalação. Realizamos ausculta pulmonar, verificamos a FR, FC e a saturação transcutânea de oxigênio de hemoglobina.

- Coletamos as amostras de escarro após a inalação de NaHCO_3 a 8,4% e analisamos o pH e a viscosidade do escarro, coletado em dispositivos estéreis e descartáveis a cada 30 minutos durante um total de 180 minutos após o início da inalação.
- Realizamos o teste do degrau (*Harvard Step Test*).

Visita 4 (d 42±3) ou fim da visita terapêutica

- As seguintes avaliações foram realizadas na Visita 4:
- Aplicamos o QFCR e o QDSD aos participantes antes de quaisquer procedimentos adicionais.
- Registramos a história médica atual.
- Documentamos todos os medicamentos e terapias atuais.
- Realizamos exame físico.
- Registramos os sinais vitais, peso corporal.
- Obtivemos a amostra de escarro de 24 horas.
- Coletamos o registro diário (Apêndice 1) de duas semanas anteriores. Distribuímos novo diário para as duas semanas seguintes.
- Avaliamos a adesão dos participantes: Contamos o número de flaconetes utilizados e não utilizados e verificamos as datas nos flaconetes com a documentação no registro diário. Confirmamos se a aderência ao estudo foi >80%.
- Revisamos a ordem diária de terapias padrão e a programação.
- Realizamos os exames de espirometria pré e pós broncodilatador com salbutamol (Aerolin®, *Glaxo Smith Kline*, 100mcg/jato de spray 4 aerogações) antes da inalação a 8,4%.
- Administramos a última dose do NaHCO₃ a 8,4%.
- Verificamos se o paciente apresentou algum desconforto, e questionamos como foram as duas últimas semanas de inalações.
- Realizamos as coletas de secreções e analisamos o pH e a viscosidade em tubo *falcon* descartáveis a cada 30 minutos durante um total de 180 minutos após o início da inalação.
- Realizamos o teste do degrau (*Harvard Step Test*).
- Fornecemos instruções e avaliamos a capacidade de realizar as medições de pico de fluxo diário.

Final do estudo: visita 5 (56±3 dias)

- A Visita 5 ocorreu no dia 56 ± 3 dias ou 14 ± 3 dias depois do fim da visita terapêutica. As seguintes avaliações foram realizadas:
- Aplicamos o QFCR (**Anexo 1**) e o QDSD (**Anexo 2**) aos participantes (e aos pais, se fosse o caso) antes de quaisquer procedimentos adicionais.
- Realizamos exame físico.
- Registramos os sinais vitais e peso corporal.
- Obtivemos sangue para realizar hemograma completo.
- Obtivemos a última amostra de escarro de 24h.
- Revisamos o registro diário de 2 semanas anteriores.
- Realizamos os exames de espirometria pré e pós broncodilatador com salbutamol (Aerolin®, *Glaxo Smith Kline*, 100mcg/jato de spray 4 aerogações).
- Questionamos o participante de como foram as últimas duas semanas sem o uso do bicarbonato de sódio inalado.
- Coletamos a última secreção para análise do pH e da viscosidade do escarro.
- Realizamos o teste do degrau (*Harvard Step Test*).
- Realizamos a última análise do pico de fluxo com o dispositivo *peak flow meter*.

5. Análise Estatística

A análise descritiva dos dados foi realizada por duas abordagens:

- i) categórico - N (%): tamanho da amostra (porcentagem);
- ii) numérica - média (desvio padrão) ou mediana (intervalo interquartil) - dependendo da distribuição dos dados, se paramétricos ou não paramétricos, respectivamente.

A reologia do escarro ajustada na escala logarítmica apresentou distribuição normal e sem evidencia de diferença de variância entre os grupos, dessa forma, os momentos foram avaliados pelo uso do teste análise de variância (ANOVA) com medidas repetidas e análise *pairwise* pelo teste de Bonferroni. Ao mesmo tempo, quando necessário, a comparação entre dois grupos foi realizada pelo Teste T pareado. Ao mesmo tempo, para os dados que não apresentaram distribuição normal, a comparação entre os momentos foi realizada pelo uso do teste variância de dois fatores de Friedman por postos de amostras relacionadas. Em todas as análises foi adotado o valor de alpha de 0,05.

A análise estatística foi realizada no software SPSS versão 23.0.

Para as análises do G', G'', espirometria e pH foi utilizado o *teste t* pareado, e foi aplicado referentes ao tempo de cada coleta e visitas. Para verificar os resultados, foi utilizado um nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$).

6. RESULTADOS

No estudo foram incluídos 19 pacientes com FC (valor de cloreto no suor ≥ 60 mmol/L em pelo menos dois testes do suor). Dos 19 pacientes, 7/19 (36,85%) não completaram as visitas para a coleta de dados e/ou descontinuaram o estudo e/ou apresentaram efeitos adversos (**Tabela 1**). A idade de inclusão foi de $22,895 \pm 6,749$ anos; mediana de 21 anos (variando de 13 a 43), sendo 9/19 (47,37%) pacientes do sexo feminino e em todos os casos houve o diagnóstico de bronquiectasia – reflexo de alteração pulmonar estrutural grave.

Tabela 1. Características clínicas e demográficas dos pacientes com fibrose cística incluídos no estudo de intervenção sob o uso de bicarbonato de sódio inalatório^a.

Paciente	Age (anos)	Sexo	Genótipo de <i>CFTR</i>	IP*	Bronquiectasia*	VEF ₁	Descontinuou	Motivo
P1	19	Feminino	F508del/G542X	Não	Sim	Leve	Sim	Escarro insuficiente
P2	31	Feminino	A561E/A561E	Sim	Sim	Moderado	Não	
P3	29	Feminino	F508del/-	Não	Sim	Grave	Não	
P4	18	Masculino	F508del/G542X	Sim	Sim	Moderado	Sim	Exacerbação Pulmonar
P5	17	Masculino	F508del/-	Não	Sim	Normal	Não	
P6	24	Masculino	F508del/G542X	Sim	Sim	Moderado	Não	
P7	26	Masculino	2183AA>G/N1303K	Sim	Sim	Grave	Sim	Não completou as etapas da pesquisa
P8	20	Feminino	F508del/F508del	Sim	Sim	Grave	Não	
P9	16	Feminino	F508del/-	Sim	Sim	Grave	Sim	Uso de Oxigênio
P10	19	Feminino	F508del/-	Não	Sim	Leve	Não	
P11	13	Masculino	F508del/-	Sim	Sim	Leve	Sim	Disponibilidade de horário
P12	19	Masculino	F508del/F508del	Sim	Sim	Grave	Não	
P13	21	Masculino	F508del/-	Sim	Sim	Leve	Não	
P14	23	Feminino	F508del/G542X	Sim	Sim	Moderado	Sim	Exacerbação Pulmonar
P15	28	Masculino	F508del/-	Sim	Sim	Grave	Não	
P16	43	Masculino	F508del/F508del	Sim	Sim	Grave	Sim	Disponibilidade de tempo
P17	21	Masculino	F508del/F508del	Sim	Sim	Leve	Não	
P18	26	Feminino	F508del/F508del	Sim	Sim	Grave	Não	
P19	22	Masculino	F508del/F508del	Sim	Sim	Moderado	Não	

*, presença de bronquiectasia confirmada pela tomografia computadorizada de alta resolução do tórax. G542X – classe I, c.1624G>T, p.Gly542X, rs113993959; F508del – classe II, c.1521_1523delCTT, p.Phe508del, rs113993960; A561E – classe II, c.1682C>A, p.Ala561Glu, rs121909047; 21AA>G – classe I, c.2051_2052delAAinsG, p.Lys684SerfsX38, rs121908799. *IP (Insuficiência Pancreática)

A análise da reologia do escarro mostrou os valores de $8,34 \pm 3,49$ Pa e de $2,21 \pm 0,8$ Pa, na visita pré e os valores de $5,39 \pm 1,42$ Pa e de $1,64 \pm 0,4$ Pa, na última visita, respectivamente, para os valores de elasticidade (G') e de viscosidade (G''), ($p = 0,3$) e ($p = 0,36$) (**Tabela 2 e 3**).

Observamos que na visita 1, houve diminuição da elasticidade na primeira coleta após inalação com NaHCO_3 à 4,2% de concentração e que com o tempo a elasticidade aumentou ($p = 0,02$). E houve diminuição da elasticidade em todas as visitas na amostra coletada logo após as inalações, ($p = 0,04$) (**tabela 2**).

Em relação a viscosidade não houve diferença estatística com o uso de NaHCO_3 entre as visitas (**Tabela 4 e 5**).

Não houve diferença nos valores da viscoelasticidade, conhecido como G complexo (G^*) do escarro considerando o aumento progressivo da dosagem, período de intervenção e coleta sucessiva em uma mesma visita ($p > 0,05$). Na análise da coleta realizada durante o período de 24 horas anterior a cada visita, não houve diferença nos valores da reologia obtida (**Tabela 6**).

Tabela 2. Elasticidade (G') do escarro em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório^a

Tempo de coleta	Pré	Visita1	Visita2	Visita3	Visita4	Visita5	p-valor
Pós	8,34 ± 3,49	2,7 ± 0,56	4,99 ± 2,49	3,24 ± 0,68	3,08 ± 0,9	5,39 ± 1,42	0,04*
30'		4,09 ± 1,15	3,19 ± 0,8	6,65 ± 2,71	4,85 ± 2,08		0,12*
60'		4,19 ± 1,14	7,22 ± 3,7	5,77 ± 2,48	5,74 ± 2,31		0,19*
90'		13,75 ± 10,17	5,25 ± 1,54	5,06 ± 1,22	6,18 ± 2,54		0,45*
120'		4,39 ± 1,2	6,01 ± 2,91	4,64 ± 1,27	7,09 ± 3,04		0,25*
150'		4,24 ± 0,88	6,57 ± 2,24	5,86 ± 1,71	4,97 ± 1,25		0,33*
180'		4,1 ± 0,9	7,61 ± 3,02	4,78 ± 1,43	5,76 ± 1,35		0,27*
p-valor		0,02*	0,44*	0,35*	0,11*		

^a, dados apresentados em escala log10 pela média ± desvio padrão; b, análise combinada indica a média aritmética para os dados coletados em uma visita considerando os tempos de coleta, agrupados, posteriormente para a média aritmética das visitas 1 + 2; visita 3 + 4; visitas 1 a 4. *, Análise estatística realizada pelo teste T pareado e foi utilizado nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). Visita 1: foi realizado a primeira dosagem de NaHCO_3 a 4,2%, 1 vez por dia; Visita 2: inalação com NaHCO_3 a 4,2%, 2 vez por dia; Visita 3: inalação com NaHCO_3 a 8,4%, 2 vez por dia; Visita 4: último dia de inalação com NaHCO_3 a 4,2%, (paciente ficou 15 dias sem realizar inalações; Visita 5: último dia de inalação.

Tabela 3. Elasticidade (G[°]) do escarro em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório^a.

Tempo de coleta	Pré	Visita1	Visita2	Visita3	Visita4	Visita5	p-valor
Pós	8,34 ± 3,49	2,7 ± 0,56	4,99 ± 2,49	3,24 ± 0,68	3,08 ± 0,9	5,39 ± 1,42	0,3*
30'		4,09 ± 1,15	3,19 ± 0,8	6,65 ± 2,71	4,85 ± 2,08		
60'		4,19 ± 1,14	7,22 ± 3,7	5,77 ± 2,48	5,74 ± 2,31		
90'		13,75 ± 10,17	5,25 ± 1,54	5,06 ± 1,22	6,18 ± 2,54		
120'		4,39 ± 1,2	6,01 ± 2,91	4,64 ± 1,27	7,09 ± 3,04		
150'		4,24 ± 0,88	6,57 ± 2,24	5,86 ± 1,71	4,97 ± 1,25		
180'		4,1 ± 0,9	7,61 ± 3,02	4,78 ± 1,43	5,76 ± 1,35		
p-valor		0,02 *	0,44*	0,35*	0,11*		

^a, dados apresentados em escala log10 pela média ± desvio padrão; b, análise combinada indica a média aritmética para os dados coletados em uma visita considerando os tempos de coleta, agrupados, posteriormente para a média aritmética das visitas 1 + 2; visita 3 + 4; visitas 1 a 4. *, Análise estatística realizada pelo teste T pareado e foi utilizado nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). Visita 1: foi realizado a primeira dosagem de NaHCO₃ à 4,2%, 1 vez por dia; Visita 2: inalação com NaHCO₃ à 4,2%, 2 vez por dia; Visita 3: inalação com NaHCO₃ à 8,4%, 2 vez por dia; Visita 4: último dia de inalação com NaHCO₃ à 4,2%, (paciente ficou 15 dias sem realizar inalações; Visita 5: último dia de inalação

Tabela 4. Viscosidade (G'') do escarro em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório^a.

Tempo de coleta	Pré	Visita1	Visita2	Visita3	Visita4	Visita5	p-valor
Pós	2,21 ± 0,84	1,04 ± 0,2	1,49 ± 0,65	1,1 ± 0,19	1,04 ± 0,23	1,64 ± 0,4	0,1*
30'		1,28 ± 0,27	1,03 ± 0,23	1,86 ± 0,64	1,49 ± 0,56		0,13*
60'		1,32 ± 0,34	2,09 ± 0,96	1,68 ± 0,63	1,57 ± 0,55		0,14*
90'		2,05 ± 0,96	1,65 ± 0,41	1,57 ± 0,33	1,74 ± 0,59		0,72*
120'		1,46 ± 0,35	1,62 ± 0,63	1,49 ± 0,38	1,96 ± 0,7		0,49*
150'		1,47 ± 0,31	1,98 ± 0,63	1,75 ± 0,44	1,65 ± 0,34		0,68*
180'		1,68 ± 0,43	2,29 ± 0,9	1,52 ± 0,41	1,85 ± 0,39		0,89*
p-valor		0,12 *	0,43*	0,37*	0,09*		

^a, dados apresentados em escala log10 pela média ± desvio padrão; b, análise combinada indica a média aritmética para os dados coletados em uma visita considerando os tempos de coleta, agrupados, posteriormente para a média aritmética das visitas 1 + 2; visita 3 + 4; visitas 1 a 4*, Análise estatística realizada pelo teste T pareado e foi utilizado nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). Visita 1: foi realizado a primeira dosagem de NaHCO_3 a 4,2%, 1 vez por dia; Visita 2: inalação com NaHCO_3 a 4,2%, 2 vez por dia; Visita 3: inalação com NaHCO_3 a 8,4%, 2 vez por dia; Visita 4: último dia de inalação com NaHCO_3 a 4,2%, (paciente ficou 15 dias sem realizar inalações; Visita 5: último dia de inalação.

Tabela 5. Viscosidade (G'') do escarro em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório^a.

Tempo de coleta	Pré	Visita1	Visita2	Visita3	Visita4	Visita5	p-valor
Pós	2,21 ± 0,84	1,04 ± 0,2	1,49 ± 0,65	1,1 ± 0,19	1,04 ± 0,23	1,64 ± 0,4	0,36*
30'		1,28 ± 0,27	1,03 ± 0,23	1,86 ± 0,64	1,49 ± 0,56		
60'		1,32 ± 0,34	2,09 ± 0,96	1,68 ± 0,63	1,57 ± 0,55		
90'		2,05 ± 0,96	1,65 ± 0,41	1,57 ± 0,33	1,74 ± 0,59		
120'		1,46 ± 0,35	1,62 ± 0,63	1,49 ± 0,38	1,96 ± 0,7		
150'		1,47 ± 0,31	1,98 ± 0,63	1,75 ± 0,44	1,65 ± 0,34		
180'		1,68 ± 0,43	2,29 ± 0,9	1,52 ± 0,41	1,85 ± 0,39		
p-valor		0,12*	0,43*	0,37*	0,09*		

^a, dados apresentados em escala log10 pela média ± desvio padrão; b, análise combinada indica a média aritmética para os dados coletados em uma visita considerando os tempos de coleta, agrupados, posteriormente para a média aritmética das visitas 1 + 2; visita 3 + 4; visitas 1 a 4. *, Análise estatística realizada pelo teste T pareado e foi utilizado nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). Visita 1: foi realizado a primeira dosagem de NaHCO_3 a 4,2%, 1 vez por dia; Visita 2: inalação com NaHCO_3 a 4,2%, 2 vez por dia; Visita 3: inalação com NaHCO_3 a 8,4%, 2 vez por dia; Visita 4: último dia de inalação com NaHCO_3 a 4,2%, (paciente ficou 15 dias sem realizar inalações; Visita 5: último dia de inalação.

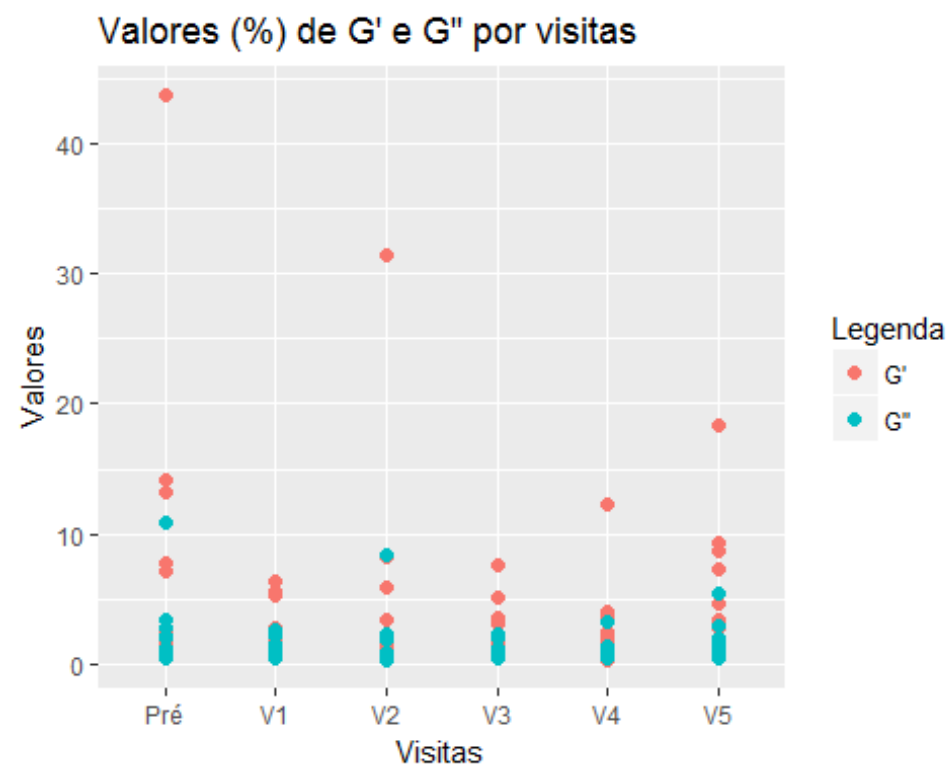


Figura 17. Elasticidade (G') e Viscosidade (G'') em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório.

Tabela 6. Viscoelasticidade (G*) do escarro em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório^a.

Tempo de coleta	Triagem	Pré-triagem	Visita 1	Visita 2	Visita 3	Visita 4	Visita 5	P-valor
Início			1,499 ± 0,355	1,479 ± 0,496	1,475 ± 0,331	1,553 ± 0,444		0,327*
30 minutos			1,660 ± 0,384	1,538 ± 0,542	1,525 ± 0,613	1,657 ± 0,420		0,664*
60 minutos			1,629 ± 0,434	1,617 ± 0,443	1,503 ± 0,594	1,682 ± 0,565		0,323*
90 minutos	1,709 ± 0,531	1,912 ± 0,929	1,569 ± 0,592	1,695 ± 0,578	1,613 ± 0,437	1,651 ± 0,553	1,690 ± 0,368	0,947*
120 minutos			1,601 ± 0,480	1,553 ± 0,435	1,555 ± 0,566	1,807 ± 0,416		0,591*
150 minutos			1,638 ± 0,459	1,738 ± 0,544	1,649 ± 0,605	1,603 ± 0,410		0,928*
180 minutos			1,634 ± 0,505	1,600 ± 0,644	1,505 ± 0,578	1,792 ± 0,342		0,705*
P-valor			0,748*	0,380*	0,479*	0,152*		
Análise combinada ^b		1,811 ± 0,694	1,603 ± 0,407	1,603 ± 0,414	1,547 ± 0,485	1,678 ± 0,357	1,690 ± 0,368	0,775*
		1,811 ± 0,694		1,603 ± 0,377		1,612 ± 0,375	1,690 ± 0,368	0,497*
		1,811 ± 0,694			1,607 ± 0,365		1,690 ± 0,368	0,286*
24 horas			1,274 ± 0,831	1,214 ± 0,521	1,272 ± 0,628	1,353 ± 0,551	1,482 ± 1,157	0,702*
				1,244 ± 0,265		1,313 ± 0,529	1,482 ± 1,157	0,770*
					1,634 ± 0,327		1,482 ± 1,157	0,519**

^a, dados apresentados em escala log10 pela média ± desvio padrão; ^b, análise combinada indica a média aritmética para os dados coletados em uma visita considerando os tempos de coleta, agrupados, posteriormente para a média aritmética das visitas 1 + 2; visita 3 + 4; visitas 1 a 4. *, Análise estatística realizada pelo teste análise de variância (ANOVA) com medidas repetidas e análise pairwise pelo teste de Bonferroni; **, análise estatística realizada pelo Teste T pareado. Alpha = 0,05. Visita 1: foi realizado a primeira dosagem de NaHCO₃ a 4,2%, 1 vez por dia; Visita 2: inalação com NaHCO₃ a 4,2%, 2 vez por dia; Visita 3: inalação com NaHCO₃ a 8,4%, 2 vez por dia; Visita 4: último dia de inalação com NaHCO₃ a 4,2%, (paciente ficou 15 dias sem realizar inalações; Visita 5: último dia de inalação.

As análises dos valores do pH mostraram que houve aumento com o uso do bicarbonato nas secreções respiratórias, significativamente, na primeira coleta de secreção (logo após a inalação com NaHCO_3) para terceira e quartas visitas, quando a solução de NaHCO_3 foi de 8,4%. Outro aspecto significativo foi que após a primeira e a última coleta, de cada visita, os valores de pH retornavam próximos dos valores da consulta de triagem (sem bicarbonato), (**Tabela 7**).

Em relação ao pH, verificamos que no período de 120 minutos para coleta do escarro, houve maior valor do pH na primeira visita, em relação a segunda (p-valor = 0,003 - Bonferroni). Além disso, na quarta e quinta visita, a primeira coleta apresentou um maior valor de pH em relação aos demais tempos de coleta (**Tabela 7**).

Também construímos um gráfico de pontos interligados no intuito de traçar algum tipo de comportamento dos participantes amostrados. Sendo assim, foi possível notar um pico nas visitas 2 e 4 entre os participantes.

Tabela 7. pH do escarro induzido em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório^a.

Tempo de coleta	Triagem	Visita 1	Visita 2	Visita 3	Visita 4	Visita 5	P-valor
Início		7,623 ± 0,462	7,861 ± 0,351	7,889 ± 0,330	7,984 ± 0,302		0,063*
30 minutos		7,407 ± 0,326	7,583 ± 0,291	7,516 ± 0,404	7,517 ± 0,262		0,540*
60 minutos		7,429 ± 0,281	7,464 ± 0,379	7,344 ± 0,247	7,265 ± 0,385		0,756*
90 minutos	7,378 ± 0,342	7,345 ± 0,337	7,461 ± 0,382	7,401 ± 0,300	7,186 ± 0,354	7,254 ± 0,381	0,656*
120 minutos		7,527 ± 0,399	7,305 ± 0,404	7,456 ± 0,376	7,187 ± 0,369		0,035* ^c
150 minutos		7,351 ± 0,401	7,278 ± 0,492	7,430 ± 0,324	7,169 ± 0,309		0,297*
180 minutos		7,343 ± 0,267	7,285 ± 0,372	7,363 ± 0,310	7,180 ± 0,314		0,338*
P-valor		0,195*	0,090*	0,004* ^d	0,011* ^e		
Análise combinada ^b	7,378 ± 0,342	7,432 ± 0,274	7,462 ± 0,343	7,486 ± 0,276	7,355 ± 0,249	7,254 ± 0,381	0,792
	7,378 ± 0,342	7,447 ± 0,271			7,420 ± 0,224	7,254 ± 0,381	0,703
	7,378 ± 0,342			7,434 ± 0,230		7,254 ± 0,381	0,473
24 horas	7,194 ± 0,302	7,067 ± 0,411	7,266 ± 0,638	7,179 ± 0,450	7,283 ± 0,366	7,071 ± 0,434	0,162
	7,194 ± 0,302		7,166 ± 0,381		7,231 ± 0,362	7,071 ± 0,434	0,348
	7,194 ± 0,302			7,199 ± 0,338		7,071 ± 0,434	0,598

^a, dados apresentados em média ± desvio padrão; ^b, análise combinada indica a média aritmética para os dados coletados em uma visita considerando os tempos de coleta, agrupados, posteriormente para a média aritmética das visitas 1 + 2; visita 3 + 4; visitas 1 a 4; ^c, no período de 120 minutos para coleta do escarro, houve maior pH início na primeira visita, em relação a segunda (p-valor = 0,003 - Bonferroni); ^d, na quarta visita, a primeira coleta apresentou um maior valor de pH em relação as demais – 30 minutos (p-valor = 0,001), 60 minutos (p-valor = 0,002), 90 minutos (p-valor = 0,008), 120 minutos (p-valor = 0,034), 150 minutos (p-valor = 0,015), 180 minutos (p-valor = 0,021); ^e, na quarta visita, a primeira coleta apresentou um maior valor de pH em relação as demais – 30 minutos (p-valor = 0,003), 60 minutos (p-valor = 0,004), 90 minutos (p-valor = 0,001), 120 minutos (p-valor = 0,004), 150 minutos (p-valor = 0,001), 180 minutos (p-valor = 0,003). *, Análise estatística realizada pelo teste análise de variância (ANOVA) com medidas repetidas e análise *pairwise* pelo teste de Bonferroni; **, análise estatística realizada pelo Teste T pareado. Alpha = 0,05. Visita 1: foi realizado a primeira dosagem de NaHCO₃ à 4,2%, 1 vez por dia; Visita 2: inalação com NaHCO₃ à 4,2%, 2 vez por dia; Visita 3: inalação com NaHCO₃ à 8,4%, 2 vez por dia; Visita 4: último dia de inalação com NaHCO₃ à 4,2%, (paciente ficou 15 dias sem realizar inalações; Visita 5: último dia de inalação.

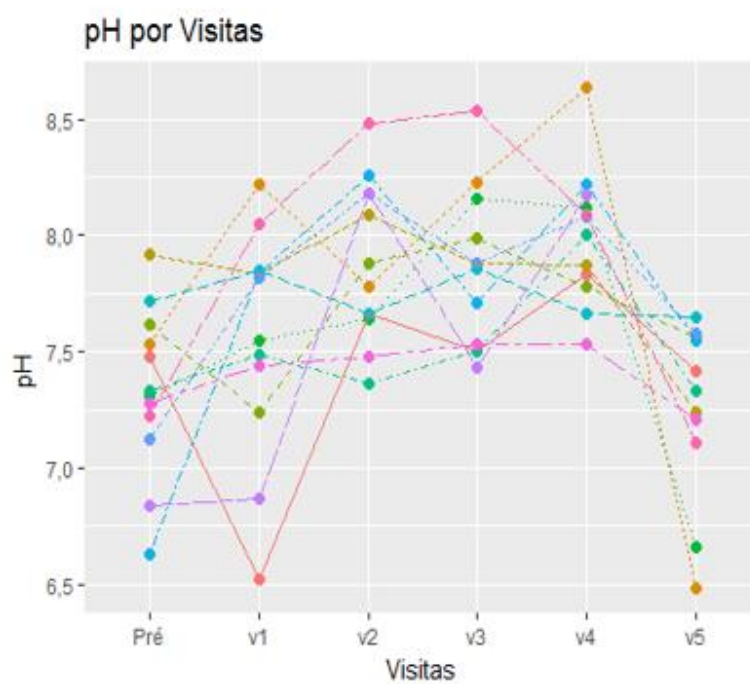


Figura 18. Distribuição dos valores de pH do escarro de cada paciente sem a inalação de NaHCO_3 (visitas pré e V5) e imediatamente após inalações com NaHCO_3 nas visitas V1, V2, V3 e V4

Realizamos também a análise semi-quantitativa das bactérias isoladas nas amostras dos 12 pacientes na triagem e na última visita (Visita 5). As bactérias analisadas foram *Pseudomonas aeruginosa* não mucoide, *Pseudomonas aeruginosa* mucoide e *Staphylococcus aureus*.

De acordo com a (Tabela 8) podemos observar que 5/12 pacientes apresentaram redução, 5/12 mantiveram os valores durante o estudo e 2 apresentaram aumento nos valores semi-quantitativos após as inalações com NaHCO₃.

A análise descritiva dos resultados das análises microbiológicas (semiquantitativas) dos pacientes com FC se encontra na Tabela 9.

Tabela 8. Caracterização microbiológica dos pacientes com fibrose cística antes e pós o período de intervenção*.

Paciente	<i>P. aeruginosa</i> não mucoide		<i>P. aeruginosa</i> mucoide		<i>S. aureus</i>	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
P2	2	1	2	2		
P3					2	2
P5	2	1	2	1	3	2
P6			3	2		
P8	2	3	2	3		
P10	1	2	1	2	2	2
P12		3	3	3		
P13					3	2
P15		1	2	1	1	
P17		1	1	1	3	1
P18			2	1	3	1
P19					2	2

*A caracterização microbiológica foi definida da seguinte maneira: (+) pequena quantidade de bactérias; (++) moderada quantidade de bactérias; (+++) grande quantidade de bactérias.

Na análise da espirometria, foi avaliado o Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo (VEF₁), em todas as visitas. Os dados referentes ao VEF₁ primeiramente foram colocados em um gráfico de pontos com a intenção de verificar se havia uma tendência característica entre os pacientes conforme estes participavam de cada visita (**Figura 19 e 20**). E para verificar se houve diferença significativa, foram realizados os testes estatísticos. A **tabela 9** mostra os intervalos compostos em média $\pm$ desvio padrão e os p-valores de cada teste entre triagem e visita 5 para cada categoria do VEF₁.

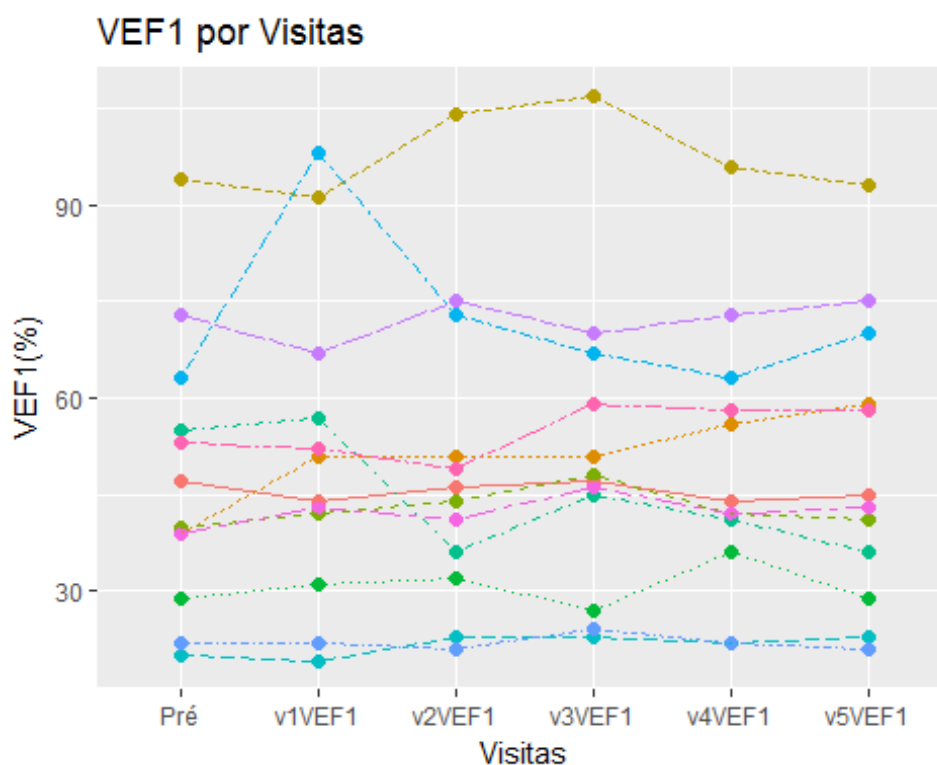


Figura 19. Análise da espirometria antes, durante e após o estudo de cada paciente.

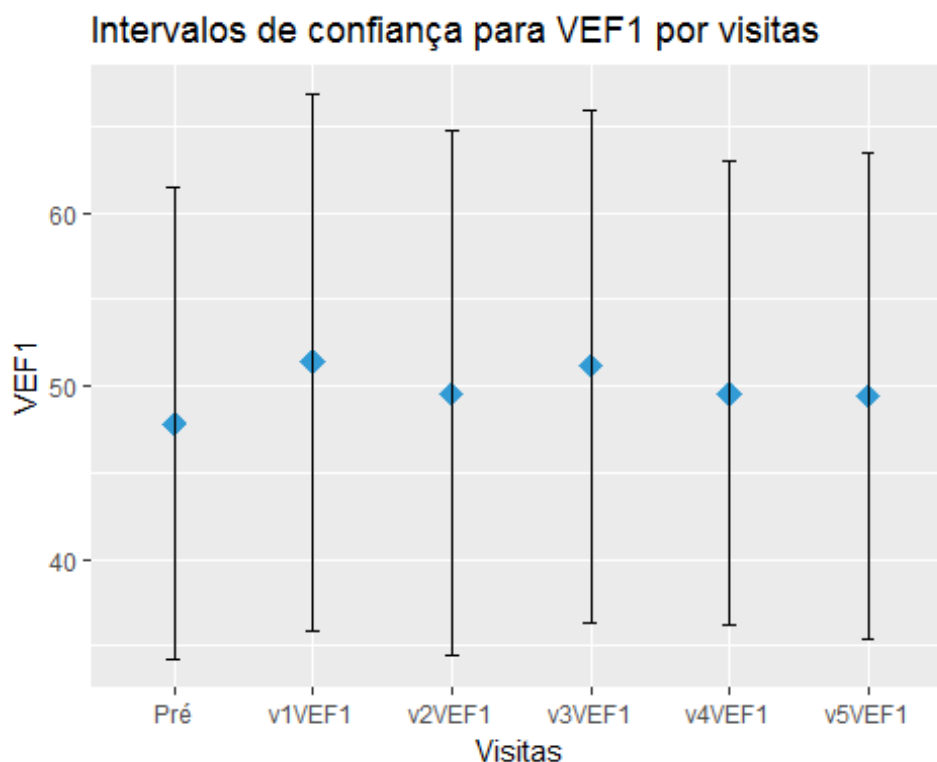


Figura 20. Análise da espirometria antes, durante e após o estudo.

Tabela 9. VEF₁ dos pacientes com fibrose cística.

	Pré	Visita 5	p-valor
VEF ₁	47,83±6,21	49,42±6,38	0,54
VEF ₁ pós BD	50±7,15	52,08±6,52	0,56

Como possível observar, não houve diferença estatística significativa nos valores de VEF₁, o que indica que não houve mudanças na função pulmonar com o uso das inalações.

A fim de visualizar o status do início ao fim do estudo foi construído um gráfico de barras conforme a proporção de indivíduos em cada estado (**Figura 21**). Os valores também são informados nas tabelas abaixo dos gráficos (Tabela 9). É possível observar que há uma queda na proporção de indivíduos na situação grave e um aumento na situação moderada (**Figura 22**).

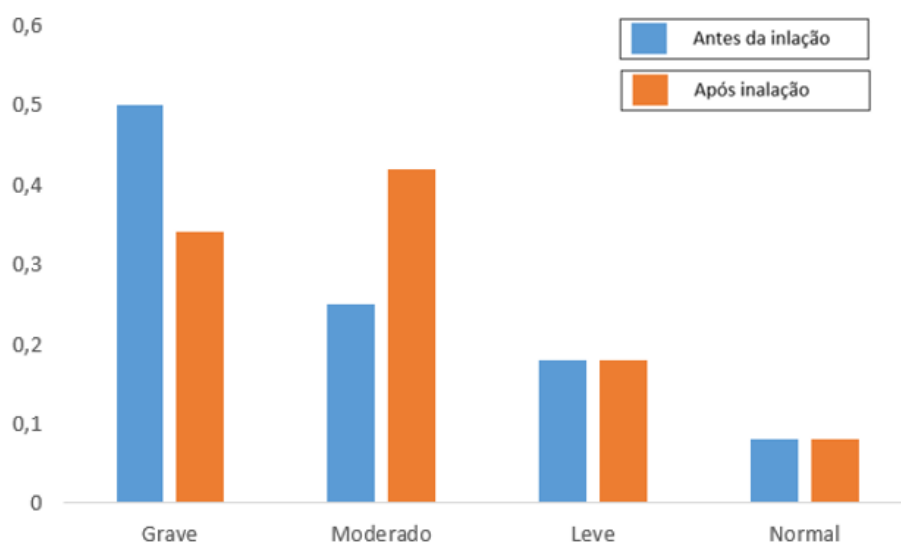


Figura 21. Proporção dos pacientes em relação ao VEF₁ antes e após as inalação de NaHCO₃ (triagem)

Três pacientes classificados com gravidade moderada aumentaram o VEF₁ em valores entre 12 a 25% entre o início e o final do estudo. Os três estavam ativados para a realização do transplante e após o estudo passaram a ser inativados da fila de transplante pulmonar, e um dos motivos relatados pelos pacientes foi devido aos novos valores de espirometria (Pacientes número 2, 14 e 19).

No nosso estudo, os valores das medidas de *Peak Flow* não mudaram de acordo com a intervenção (**Tabela 10**) (p-valor > 0,05) .

Tabela 10. *Peak flow* em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório^{a,b}.

Pré-triagem	Triagem	Visita 1	Visita 2	Visita 3	Visita 4	Visita 5	P-valor
405,83±118,74	398,75 ± 124,06	413,00 ± 114,97	427,08 ± 149,40	436,25 ± 136,70	405,42±134,90	423,75±147,14	0,071*
	402,29 ± 120,74		405,88 ± 118,32		420,83 ± 134,99	423,75±147,14	0,674*
	402,29 ± 120,74			413,35 ± 124,62		423,75±147,14	0,446*

^a, dados apresentados pela média ± desvio padrão; ^b, média aritmética das visitas 1 + 2; visita 3 + 4; visitas 1 a 4. *, Análise estatística realizada pelo teste análise de variância (ANOVA) com medidas repetidas e análise *pairwise* pelo teste de Bonferroni. Alpha = 0,05. Visita 1: foi realizado a primeira dosagem de NaHCO₃ à 4,2%, 1 vez por dia; Visita 2: inalação com NaHCO₃ à 4,2%, 2 vez por dia; Visita 3: inalação com NaHCO₃ à 8,4%, 2 vez por dia; Visita 4: último dia de inalação com NaHCO₃ à 4,2%, (paciente ficou 15 dias sem realizar inalações; Visita 5: último dia de inalação.

No *Harvard step test* (**Tabela 11**) houve associação antes e após com os biomarcadores VO_2 (p-valor = 0,023) e gasto energético (p-valor = 0,025). O VO_2 foi menor antes do período de intervenção quando comparado ao período pós intervenção (p-valor = 0,030) e o *work* foi menor antes do período de intervenção quando comparado ao período pós intervenção (p-valor = 0,049), o *work* foi maior depois do período de intervenção quando comparado ao período durante a intervenção (p-valor = 0,049), e o período durante a intervenção teve valores intermediários ao antes e depois da intervenção, havendo um valor crescente do *work* durante o estudo.

Tabela 11. Harvard step test em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório^{a,b}.

Fitness (Aptidão física)							
Pré-triagem	Triagem	Visita 1	Visita 2	Visita 3	Visita 4	Visita 5	P-valor
47,92 ± 6,63	47,78 ± 6,24	48,68 ± 7,35	49,92 ± 8,38	45,22 ± 12,06	49,04 ± 7,01	49,35 ± 5,40	0,621*
	47,85 ± 6,30		49,30 ± 7,64		47,13 ± 8,84	49,35 ± 5,40	0,181*
	47,85 ± 6,30			48,22 ± 7,82		49,35 ± 5,40	0,453*
VO₂ (consumo de oxigênio)							
Pré-triagem	Triagem	Visita 1	Visita 2	Visita 3	Visita 4	Visita 5	P-valor
117,75 ± 20,46	121,24 ± 22,25	122,18 ± 22,94	122,18 ± 33,04	121,64 ± 41,94	127,38 ± 25,90	131,21 ± 27,32	0,210*
	119,49 ± 21,02		122,18 ± 26,91		124,51 ± 31,52	131,21 ± 27,32	0,678*
	119,49 ± 21,02			123,35 ± 27,93		131,21 ± 27,32	0,023*[#]
Work (Gasto energético)							
Pré-triagem	Triagem	Visita 1	Visita 2	Visita 3	Visita 4	Visita 5	P-valor
30,80 ± 7,95	31,62 ± 8,73	32,30 ± 8,98	32,24 ± 10,69	32,46 ± 13,43	33,64 ± 9,77	34,78 ± 10,60	0,114*
	31,21 ± 8,28		32,27 ± 9,57		33,05 ± 11,23	34,78 ± 10,60	0,073*
	31,21 ± 8,28			32,66 ± 10,20		34,78 ± 10,60	0,025*[¥]

^a, dados apresentados pela média ± desvio padrão; ^b, média aritmética das visitas 1 + 2; visita 3 + 4; visitas 1 a 4. *, Análise estatística realizada pelo teste análise de

variância (ANOVA) com medidas repetidas e análise *pairwise* pelo teste de Bonferroni. #, o VO₂ foi menor antes do período de intervenção quando comparado ao período pós intervenção (p-valor = 0,030); [¥], o *work* foi menor antes do período de intervenção quando comparado ao período pós intervenção (p-valor = 0,049), o *work* foi maior depois do período de intervenção quando comparado ao período durante a intervenção (p-valor = 0,049), o período durante a intervenção teve valores intermediários ao antes e depois da intervenção, havendo um valor crescente do *work* durante o estudo. Alpha = 0,05. Visita 1: foi realizado a primeira dosagem de NaHCO₃ a 4,2%, 1 vez por dia; Visita 2: inalação

com NaHCO_3 à 4,2%, 2 vez por dia; Visita 3: inalação com NaHCO_3 à 8,4%, 2 vez por dia; Visita 4: último dia de inalação com NaHCO_3 à 4,2%, (paciente ficou 15 dias sem realizar inalações; Visita 5: último dia de inalação.

O escore de qualidade de vida está detalhado na (**Tabela 12**) e (**figura 22**), que inclui os diferentes pontos do escore e a pontuação total. Na análise, foi observado que houve melhora na pontuação dos pacientes entre o período antes da intervenção e a visita 5 (p-valor = **0,017**).

Tabela 12. Qualidade de vida em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório^a.

Marcador ^b	Pré-triagem	Triagem	Visita 1	Visita 2	Visita 3	Visita 4	Visita 5	P-valor*
Físico	54,10 (34,35 a 85,55)	52,05 (38,53 a 84,30)	58,30 (40,55 a 82,28)	58,15 (50,00 a 81,25)	60,25 (42,65 a 70,80)	60,40 (46,85 a 89,55)	56,20 (43,70 a 85,35)	0,670
		52,03 (34,34 a 85,87)			57,19 (46,86 a 79,92)		56,20 (43,70 a 85,35)	0,494
Papel	91,60 (83,30 a 97,90)	83,30 (75,00 a 97,90)	91,60 (70,78 a 97,80)	91,60 (91,60 a 100)	83,30 (66,60 a 100)	91,60 (77,08 a 100)	84,45 (83,30 a 97,90)	0,221
		87,45 (77,08 a 94,76)			89,55 (80,17 a 96,85)		84,45 (83,30 a 97,90)	0,441
Vitalidade	66,60 (58,30 a 75,00)	58,30 (50,00 a 72,90)	66,60 (51,38 a 75,00)	66,60 (52,08 a 75,00)	66,60 (52,08 a 75,00)	75,00 (50,00 a 83,30)	70,80 (52,80 a 83,30)	0,575
		62,45 (51,04 a 70,80)			67,66 (52,94 a 76,53)		70,80 (52,80 a 83,30)	0,190
Emoção	76,65 (60,00 a 86,60)	73,30 (60,00 a 85,78)	80,00 (60,00 a 84,95)	76,65 (61,65 a 82,48)	80,00 (61,65 a 86,60)	76,65 (61,65 a 91,63)	73,30 (60,00 a 85,78)	0,790
		73,30 (60,00 a 86,19)			78,31 (60,40 a 83,91)		73,30 (60,00 a 85,78)	0,656
Social	61,10 (51,38 a 86,03)	58,30 (50,00 a 77,70)	66,60 (50,00 a 81,90)	69,40 (52,88 a 87,43)	74,95 (51,38 a 88,80)	66,60 (51,38 a 86,03)	69,40 (45,80 a 81,90)	0,507
		61,08 (53,26 a 81,53)			67,28 (53,18 a 86,38)		69,40 (45,80 a 81,90)	0,231
Corpo	61,05 (27,75 a 94,43)	61,05 (33,30 a 97,20)	66,60 (44,40 a 100)	66,60 (47,18 a 100)	66,60 (27,75 a 100)	72,15 (36,08 a 100)	72,15 (30,53 a 100)	0,357
		58,28 (34,69 a 95,82)			70,76 (38,16 a 99,30)		72,15 (30,53 a 100)	0,105
Alimentação	100 (72,15 a 100)	100 (77,70 a 100)	94,40 (77,70 a 100)	100 (83,28 a 100)	100 (100 a 100)	100 (100 a 100)	100 (77,70 a 100)	0,393
		97,20 (83,26 a 100)			98,60 (92,33 a 100)		100 (77,70 a 100)	0,965
Tratamento	55,50 (33,30 a 66,60)	44,40 (36,08 a 66,60)	55,50 (36,08 a 77,70)	55,50 (36,08 a 77,03)	55,50 (36,08 a 66,60)	55,50 (33,30 a 66,60)	55,50 (55,50 a 66,60)	0,237
		52,73 (33,30 a 65,21)			56,89 (42,32 a 69,21)		55,50 (55,50 a 66,60)	0,081
Saúde	55,50 (33,30 a 63,83)	44,40 (33,30 a 55,50)	44,40 (33,30 a 66,60)	61,05 (36,08 a 74,93)	61,05 (36,08 a 82,95)	61,05 (27,75 a 66,60)	49,95 (36,08 a 82,03)	0,015**
		49,95 (33,30 a 59,66)			56,89 (33,30 a 69,38)		49,95 (36,08 a 82,03)	0,385
Peso	66,60 (0 a 100)	16,65 (0 a 100)	66,60 (8,33 a 100)	66,60 (33,30 a 100)	83,30 (8,33 a 100)	49,95 (0 a 100)	66,60 (8,33 a 100)	0,430
		41,65 (0 a 95,83)			54,13 (20,81 a 100)		66,60 (8,33 a 100)	0,553
Respiratório	66,60 (55,50 a 70,80)	66,60 (56,90 a 66,60)	63,85 (55,53 a 72,20)	66,60 (61,10 a 74,30)	72,20 (58,28 a 72,20)	63,85 (55,50 a 72,20)	69,40 (61,10 a 77,70)	0,765
		66,60 (56,89 a 66,65)			65,24 (60,57 a 71,50)		69,40 (61,10 a 77,70)	0,315

Digestivo	94,40 (80,48 a 100)	88,80 (77,70 a 100)	100 (80,48 a 100)	100 (77,70 a 100)	100 (72,15 a 100)	100 (80,48 a 100)	77,70 (66,60 a 100)	0,269
	91,63 (80,48 a 98,60)				94,43 (83,28 a 100)		77,70 (66,60 a 100)	0,053
Total	69,61 (57,48 a 77,74)	64,86 (56,04 a 73,76)	67,78 (63,90 a 78,20)	73,14 (67,66 a 73,14)	70,77 (62,35 a 82,30)	72,20 (65,14 a 79,12)	72,20 (58,04 a 82,12)	0,037[#]
	68,11 (55,85 a 75,29)				71,97 (66,60 a 78,39)		72,20 (58,04 a 82,12)	0,017[¥]

^a, dados apresentados pela mediana (percentil 25 – percentil 75); ^b, análise combinada indica a média aritmética para os dados coletados e agrupados, durante a (pré-triagem + triagem)/2 e durante as visitas (1 + 2 + 3 + 4)/4. *, Análise estatística realizada pela análise de variância de dois fatores de Friedman por postos de amostras relacionadas; **, p-valor > 0,05 para a análise comparativa *pairwise*; [#], triagem apresentou menor escore quando comparado a visita 5 (p-valor = 0,038); [¥], o escore antes da intervenção foi menor quando comparado a visita 5 (p-valor = 0,013). Alpha = 0,05. Visita 1: foi realizado a primeira dosagem de NaHCO₃ a 4,2%, 1 vez por dia; Visita 2: inalação com NaHCO₃ a 4,2%, 2 vez por dia; Visita 3: inalação com NaHCO₃ a 8,4%, 2 vez por dia; Visita 4: último dia de inalação com NaHCO₃ a 4,2%, (paciente ficou 15 dias sem realizar inalações; Visita 5: último dia de inalação.

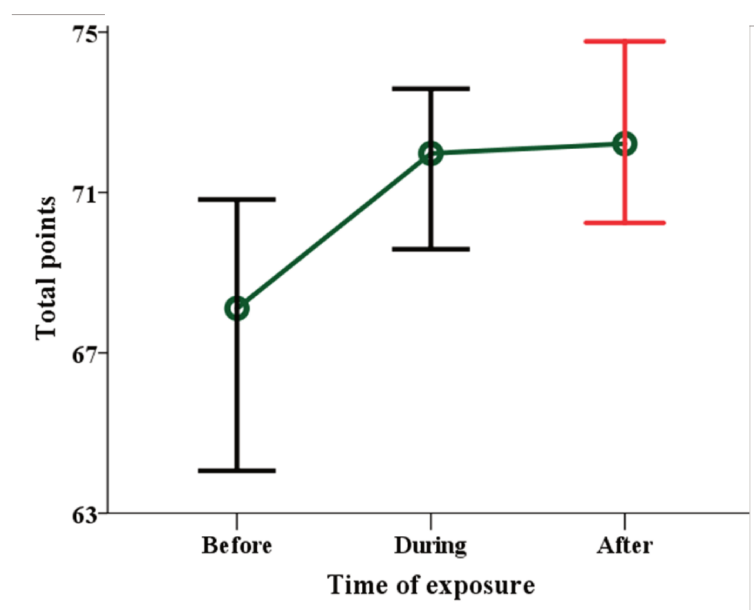


Figura 22. Qualidade de vida (escore total) em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório. Análise estatística realizada pela análise de variância de dois fatores de Friedman por postos de amostras relacionadas, sendo que o escore antes da intervenção foi menor quando comparado a visita 5 (p-valor = 0,17 para a comparação entre os três grupos; p-valor = 0,013 para a comparação de pares [antes versus pós período de intervenção]).

Em relação ao questionário de dispneia, a intervenção alterou de 20 pontos para 11 pontos, esta diminuição dos valores indica melhora da dispneia, porém sem significância estatística (**Tabela 13**).

Tabela 13. *Dispneia em pacientes com fibrose cística durante o período de intervenção sob o uso de bicarbonato inalatório^a.*

Pré-triagem	Triagem	Visita 1	Visita 2	Visita 3	Visita 4	Visita 5	P-valor
17(2,75a 32)	20,50 (7a 39,25)	12 (4,50 a 31,50)	10,50(2,75a24,50)	14,50(3,25a 41)	11 (5 a 38,50)	11 (3,50 a 45)	0,845*
	18,75 (4,88 a 36)	12 (4,50 a 31,50)	10,50(2,75a 4,50)	14,50(3,25a 41)	11 (5 a 38,50)	11 (3,50 a 45)	0,801*
	18,75 (4,88 a 36)	10,75 (3,63 a 27,50)		12 (3,75 a 46,13)		11 (3,50 a 45)	0,808*
	18,75 (4,88 a 36)	11,38 (3,69 a 35,81)				11 (3,50 a 45)	0,751*

^a, dados apresentados pela mediana (percentil 25 – percentil 75); ^b, média aritmética das visitas 1 + 2; visita 3 + 4; visitas 1 a 4. *, Análise estatística realizada pela análise de variância de dois fatores de Friedman por postos de amostras relacionadas. Alpha = 0,05. Visita 1: foi realizado a primeira dosagem de NaHCO₃ à 4,2%, 1 vez por dia; Visita 2: inalação com NaHCO₃ à 4,2%, 2 vez por dia; Visita 3: inalação com NaHCO₃ à 8,4%, 2 vez por dia; Visita 4: último dia de inalação com NaHCO₃ à 4,2%, (paciente ficou 15 dias sem realizar inalações; Visita 5: último dia de inalação.

Efeitos benéficos relacionados as inalações com NaHCO_3

As análises laboratoriais de sangue, hemograma completo e gasometria venosa, foi avalizada antes, na **triagem**, e no final do estudo, na **Visita 5**, os pacientes não apresentaram alterações nestes parâmetros.

Nenhum paciente apresentou efeito adverso grave. Um paciente apresentou sensação de queimação nos lábios o que foi contornado com ingestão de água durante as inalações e exalar fora do aparelho. Alguns pacientes apresentaram tosse durante a primeira inalação o que não foi continuado nas visitas subsequentes. O questionário de dispneia diminuiu de 20 pontos para 11, mostrando melhora, porém, sem significância estatística. Nenhum paciente apresentou piora em parâmetros clínicos de FR; FC; SaO_2 ; temperatura corporal e do questionário de dispneia.

7. DISCUSSÃO

No melhor do nosso conhecimento este é o primeiro estudo para identificar a segurança, eficácia e efeitos sobre o escarro expectorado voluntariamente, variáveis clínicas e marcadores laboratoriais da solução de bicarbonato de sódio, por via inalatória, em pacientes com FC, com duas variantes de classes I, II e/ou III no gene CFTR.

Nossa primeira hipótese foi verificar se a alta viscoelasticidade da secreção dos pacientes com FC diminuiria com o uso das inalações de NaHCO_3 .

Recentemente, numerosos estudos evidenciaram que o bicarbonato é essencial para a expansão adequada dos grânulos de mucinas (Quinton, 2008; Garcia et al., 2009; Chen et al., 2010; Gustafsson et al., 2012).

Existem muitos fatores que influenciam as propriedades e características das secreções pulmonares, tais como, grau de hidratação, pH, concentração de eletrólitos, quantidade e tipo de mucinas, presença de material extracelular das VAs, alterações nas interações eletrostáticas entre as mucinas, bem como o tamanho dos polímeros e o grau das ligações cruzadas (Lai *et al.*, 2009).

Stigliani *et al.*, 2015, realizou um estudo transversal “*in vitro*” com secreções de sete pacientes com FC e verificaram os efeitos da nebulização de NaHCO_3 diretamente no muco de FC. Para a análise do muco foi removida a saliva por meio de centrifugação da amostra e apenas uma fração em gel do muco foi selecionada para análise. Os pesquisadores observaram diminuição da viscoelasticidade do muco após a nebulização de NaHCO_3 , com um deslocamento para baixo dos módulos elástico e viscoso, porém a relação entre G' e G'' permaneceu inalterada.

Em nosso estudo, avaliamos o escarro expectorado voluntariamente de pacientes com FC, sem exacerbações pulmonares, após inalações com NaHCO_3 e verificamos que tanto a elasticidade (G') quanto a viscosidade (G'') diminuíram antes e após os três meses do uso da solução com bicarbonato de sódio, porém sem significância estatística.

Diferentemente do estudo de Stigliani *et al.*, 2015, nosso estudo foi prospectivo e não realizamos a remoção da saliva, do escarro, para não descaracterizar a amostra. Avaliamos o muco como um todo e acreditamos que devido a heterogeneidade da amostra (ar, saliva, grau de hidratação) não foi possível comprovarmos estatisticamente a diminuição da viscoelasticidade dos escarros após o tratamento. Observamos que o escarro de um mesmo paciente variava de aspecto, macroscopicamente, em quantidade,

em qualidade, principalmente com mais ou menos saliva. Vale ressaltar que durante a realização da reologia a saliva era escorrida para fora da placa permanecendo apenas a parte gelóide do muco para análise.

As razões para a heterogeneidade do escarro, características químicas e físicas, na reologia, são multifatoriais e podem ser alteradas por: i) a tosse voluntária repetitiva pode alterar o conteúdo sólido, ii) a tensão superficial, iii) superfície de contato com a via respiratória, iv) aderência e a viscoelasticidade do muco. A tosse pode alterar as propriedades físicas do muco e pode aumentar a hidratação nas VAs e do muco (Cone, 2009).

O padrão ouro seria a coleta de escarro por broncoscopia. Fato que seria impossibilitado por aspectos éticos nos estudos. (Serisier *et al.*, 2009)

Os estudos de Hill *et al.*, 2014 e Duncan *et al.*, 2016, conseguiram correlacionar a viscoelasticidade com a parte sólida do escarro e os módulos de elasticidade e viscosidade também apresentaram correlação com a parte sólida e homogênea.

Homogeneizar o escarro e avaliar apenas a parte sólida e/ou analisar o escarro total tem sido pouco estudado. Este aspecto pode constituir em viés e alterar a confiabilidade da análise.

Nós verificamos que o muco era separado da saliva, espontaneamente, quando submetido à força de tensão, durante o processo de reologia. Além da homogeneização ou não do escarro, outras condições podem ser discutidas e necessitam mais estudos: tempo e concentração de utilização da inalação de NaHCO_3 e tamanho amostral. Pois acreditamos que todos os indivíduos incluídos no estudo tinham variantes de formas graves de FC, infecção pulmonar crônica por *Pseudomonas aeruginosa* e *S. aureus*, expectoravam espontaneamente e não estavam em exacerbação pulmonar durante o estudo.

Estudos recentes mostram que não existe diferença macroreológica do escarro de pacientes com FC comparados com pacientes com DPOC e indivíduos saudáveis, mas que existem mudanças na reologia durante as infecções pulmonares agudas (Serisier *et al.*, 2009). Durante as exacerbações pulmonares Ma *et al.*, 2018, mostram que houve diferença significativa nos valores elasticidade e viscosidade em pacientes exacerbados, e que igualmente a função pulmonar os valores retornaram aos níveis basais após o tratamento com antibióticos.

Acredita-se que a alta viscoelasticidade do muco nas VAs contribui para a obstrução pulmonar e declínio da FP. Portanto a espirometria tem sido um *endpoint* importante nos estudos, principalmente pelos valores do VEF₁.

Estudos com salina hipertônica e alfa dornase em estudos multicêntricos e com grandes amostras, demonstraram que ambos melhoraram os valores de VEF₁ e consequentemente a função pulmonar (Suri *et al.*, 2002).

Alguns pacientes apresentaram maiores valores de VEF₁ após o uso de NaHCO₃, outros mantiveram os valores iniciais ou pouca melhora e apenas um paciente piorou os valores iniciais do VEF₁. Limitações para a análise do VEF₁ podem incluir tamanho amostral e tempo de seguimento.

Alguns estudos mostram que a avaliação transversal do escarro de pacientes com FC é melhor do que em estudos longitudinais (Ma *et al.*, 2018).

No estudo transversal de Tamaiuolo *et al.*, 2014, foi possível demonstrar correlação da alta viscoelasticidade, principalmente do módulo elasticidade, com a gravidade pulmonar mensurada pelo VEF₁, na FC. Em nosso estudo não foi possível verificar mudanças nos valores de VEF₁ porém, embora a viscoelasticidade com o uso do NaHCO₃ tenha diminuído, não houve diferença estatística. Em contrapartida, com o pequeno número de pacientes com FC avaliados em nosso estudo, conseguimos observar variações nos valores de pH relacionada com as mudanças na viscoelasticidade do muco.

Chama atenção o fato de que para cada paciente, em cada visita, tanto a viscoelasticidade quanto os valores de pH, no escarro, se comportaram de modo inverso. Entre os tempos imediatamente após a inalação (pós) até o tempo de 180min (última coleta de escarro) o pH diminui e a viscoelasticidade aumenta.

Recentemente, foi detectado em modelo animal que o crescimento de microrganismos no epitélio das VAs na FC é devido ao baixo pH extracelular, provocado pelo distúrbio na secreção de HCO₃⁻ (Pezzulo *et al.*, 2012).

Numerosos estudos, demonstrados na revisão de Kunzelmann em 2017, avaliam a associação da proteína CFTR e do HCO₃⁻ sobre a regulação do pH extracelular da superfície epitelial.

O pH do líquido de superfície das VAs (LSV), em indivíduos saudáveis, varia de 6,85 a 7,65 (Hunt *et al.*, 2000; Fisher, 2012). Doenças crônicas nas vias aéreas, incluindo a FC, alteram o pH do LSV que pode variar entre 4,5 a 8,5 (Fisher, 2012).

Em nosso estudo, nós avaliamos o pH do escarro de VAs antes, durante e após inalações com bicarbonato de sódio e observamos $\text{pH} > 7,0$ em todos os momentos dos pacientes avaliados. O pH do escarro mostrou valores menores antes da introdução do NaHCO_3 . Os valores do pH, após inalações com o NaHCO_3 , mostraram aumentos iniciais e diminuição progressiva ao longo das coletas amostrais, retornando aos valores basais em tornos de 150 minutos. Portanto, nossos resultados mostraram que o NaHCO_3 foi capaz de aumentar o pH no escarro nas primeiras amostras.

De acordo com os nossos achados, Stigliani *et al.*, 2015, também mostraram o aumento do pH com o uso do NaHCO_3 , e que diferentemente com o uso do NaCl ou a adição da água diretamente no muco, não houve alterações no pH. Os nossos resultados de acordo com as alterações do pH demonstram a possibilidade do uso do NaHCO_3 como agente terapêutico no manejo da FC.

Níveis de pH para a sobrevivência e perpetuação de bactérias nas VAs de pacientes com FC, ainda são controversos. Porém, evidências recentes sugerem que o baixo volume do líquido superficial das VAs e acidez do mesmo decorrente da falta de HCO_3^- em pacientes com FC, podem afetar a depuração mucociliar e favorecer as infecções pulmonares (Quinton 1989; Button *et al.*, 2012; Luan *et al.*, 2014 e 2017;).

Alguns estudos utilizando modelos animais, *in vitro* e *in vivo*, verificaram que o pH de células epiteliais, na FC, comparadas com controles saudáveis, que a acidez do meio extracelular do epitélio de VAs é essencial para o desenvolvimento de infecções (Coakley *et al.*, 2003; Quinton 2008). Por outro lado, outros dois estudos, Schultz *et al.*, 2017, e McShane *et al.*, 2003, relataram que o pH nas VAs da FC não foi diferente comparado com indivíduos saudáveis e que os níveis baixos de pH mencionado em outras pesquisas não são o principal responsável para a causa das infecções. Em contrapartida, nós observamos diminuição quantitativa de colônia de bactérias, nas análises microbiológicas do escarro espontâneo, no início e no final do estudo, em 11/12 (91,6%) dos pacientes. Esse fato pode ser promissor para constatar e comprovar, em amostras maiores, que o aumento do pH nas VAs pode minimizar os efeitos deletérios causados pelas infecções. Desta maneira pesquisas precisam ser feitas para melhorar o entendimento dos efeitos dos níveis de pH, sobre as infecções crônicas, nas VAs.

Tem sido relatado também que os níveis baixos do pH extracelular podem afetar o sistema imunológico dos pacientes com FC, aumentar o número de colônias de bactérias, promover formação de biofilme e, conseqüentemente, afetar a qualidade de

vida (QV) dos pacientes (Ladner, 2001; Starner *et al.*, 2006; Bjarnsholt *et al.*, 2009; Hoiby *et al.*, 2010). Nós não analisamos a formação de biofilme, porém houve diminuição das colônias de bactérias em 91,6% dos pacientes incluídos e apenas um paciente apresentou exacerbação pulmonar no final do estudo.

A doença pulmonar, na FC, exige tratamento diário com numerosos medicamentos por via sistêmica, oral e inalatória, suplementos vitamínicos e enzimas digestivas, visitas aos centros de referência em FC, exames laboratoriais e exercícios de fisioterapia respiratória no intuito de diminuir a progressão da deterioração da FP. Essa rotina é exaustiva e as causas de exacerbações pulmonares frequentes, influenciam na QV dos pacientes (Anderson *et al.*, 2001).

A QV é um marcador robusto para os estudos clínicos de intervenção e para verificar a eficácia terapêutica de novos medicamentos, por descrever a situação clínica dos pacientes de forma individualizada. (Quittner *et al.*, 2016; Hammond & Connett, 2018).

Nós observamos, em nosso estudo, que os pacientes avaliados apresentaram melhora da QV durante o uso das inalações com NaHCO_3 , principalmente no item relacionado a saúde do questionário de qualidade de vida revisado por Rozov, 2006. Além disso, avaliamos os sintomas dispneia dos pacientes por meio do questionário de dispneia (*UCSD Shortness of Breath Questionnaire*) (Eakin *et al.*, 1998), que demonstrou diminuição dos valores do escore, ao longo do estudo, porém, sem diferença estatística da dispneia antes, durante e após o tratamento com as inalações de NaHCO_3 . Ressalta-se que os pacientes mantiveram-se clinicamente estáveis e não demonstraram piora clínica com o uso das inalações.

Sabe-se que a baixa tolerância ao exercício é uma característica da FC, que aumenta com a gravidade da doença e está relacionada com maior mortalidade. (Nixon *et al.*, 1992, Klijn 2003, Pianosi *et al.*, 2005).

Para avaliar a tolerância ao exercício, nos utilizamos o Teste do degrau de Harvard que é utilizado para avaliar as doenças cardiopulmonares e determinar a capacidade funcional, bem como, avaliar a progressão da doença e a resposta ao tratamento (Ferrazza *et al.*, 2009). A medida mais estudada de tolerância ao exercício é consumo de oxigênio (VO_2 máximo) (Taylor *et al.*, 1955; Silva *et al.*, 1998; Barros *et al.*, 2001). Nós encontramos aumentos no VO_2 máximo e no consumo de kilocalorias por minuto (Kcal/min) de modo significativo após o uso das inalações com NaHCO_3 .

O VO₂ máximo mais alto e o gasto energético têm sido relacionados com menor incidência de problemas cardiopulmonares e melhor predisposição à atividade física, ou seja, quanto maior o consumo de oxigênio e gasto energético, maior será o condicionamento cardiopulmonar do paciente (Arena *et al.*, 2008; Cornelis *et al.*, 2015).

Em contrapartida, nos constatamos que a aptidão física dos participantes, do nosso estudo, teve pontuação fraca com escore menor que 50 pontos. No entanto, os pacientes aumentaram os valores de escore para aptidão física após as inalações com NaHCO₃ antes, durante e após o tratamento. Fato que pode ser interpretado pelas características de sedentarismo, limitações para treinamentos físicos e desnutrição que acompanham as formas graves da FC.

Existem várias limitações no nosso estudo. I) tamanho da amostra; ii) dificuldade de conseguir escarro sem saliva; iii) a tosse como um fator de alterações de cisalhamento na estrutura do muco; iv) dificuldade em caracterizar a estrutura do muco pela presença de bolhas de ar, saliva, hidratação; v) a não disponibilidade de avaliar a quantidade de mucinas e os marcadores inflamatórios presentes no momento da análise; vi) a não inclusão de grupo controle (embora seria muito difícil, se não impossível, colher escarro 7 vezes seguidas durante 3 horas de indivíduos saudáveis, em cada visita).

Pelas recentes revisões das interações entre a proteína CFTR e o HCO₃⁻, há claramente, escassez de estudos relacionando o uso de NaHCO₃ nas VAs de humanos com FC.

No entanto, acreditamos que se devem considerar os resultados deste pequeno estudo preliminar, pois a utilização de NaHCO₃, por via inalatória, parece modificar vários marcadores clínicos e laboratoriais de pacientes com FC.

Estudos maiores para avaliar o efeito do NaHCO₃ na viscoelasticidade e na capacidade de fluidificação do muco e seus possíveis efeitos sobre as mucinas do trato respiratório devem ser realizados.

Como perspectivas futuras do uso da inalação de NaHCO₃ em pacientes com FC, podemos citar:

- i) Realizar o mesmo estudo com amostras maiores, pacientes com gravidades diferentes e maior tempo de seguimento.
- ii) Utilização de inalações com NaHCO₃ em pré-escolares com FC entre 2 e 7 anos após o diagnóstico instituído pós Triagem Neonatal. (Newborn Screening).

8. CONCLUSÃO

No melhor do nosso conhecimento, nosso estudo é o primeiro a avaliar segurança, eficácia e tolerabilidade da administração de NaHCO_3 por via inalatória de pacientes com FC.

Nosso estudo com pequeno tamanho amostral mostrou que inalações de NaHCO_3 em pacientes com FC, podem alterar a viscoelasticidade do escarro. Alterações na viscoelasticidade e no pH do escarro puderam ser encontradas antes e após a utilização do NaHCO_3 inalado verificados no início e no final do estudo e na primeira coleta entre as visitas. Significância estatística foi determinada entre os tempos da visita 1 e na primeira amostra entre as visitas 1 a 4, para as análises de elasticidade.

Os valores de viscoelasticidade do escarro foram inversamente proporcionais aos valores de pH, os quais aumentaram imediatamente após o uso das inalações.

Os pacientes não apresentaram alterações respiratórias e efeitos colaterais significativos evidenciando a tolerabilidade as inalações com NaHCO_3 e melhoraram a qualidade de vida, bem como os valores de VO_2 máximo e o gasto energético.

O uso das inalações de NaHCO_3 apresentaram-se eficazes, principalmente em relação ao pH e diminuição das colônias de bactérias na maioria dos pacientes estudados.

Nossos achados sugerem que mais estudos devem ser realizados e com tamanho amostral maior, para aprofundar o entendimento nas mudanças reológicas do escarro, bem como outros desfechos, com o uso da inalação com NaHCO_3 em pacientes com FC.

Esses resultados encorajam a possibilidade de usar o NaHCO_3 por via inalatória, como agente terapêutico no manejo da FC.

9. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O DOUTORADO

- I. Artigos completos aceitos e publicados em periódicos
- II. Apresentações de trabalhos em congressos
- III. Membro do comitê de ética em pesquisa
- IV. Palestras, aulas e conferências ministradas em eventos científicos
- V. Participações em eventos científicos
- VI. Participações em bancas examinadoras de atos acadêmicos de exames de trabalhos de conclusão de curso.
- VII. Organização de eventos
- VIII. Patente

I. Artigos completos aceitos e publicados em periódicos

1. **Gomez CCS**; Marson FAL; Servidoni MF; Ribeiro AF; Ribeiro MAGO; Gama VAL; Costa ET; Ribeiro JD; Vieira Junior FU. Evaluation of continuous constant current and continuous pulsed current in sweat induction for cystic fibrosis diagnosis BMC Pulmonary Medicine, 2018; PULM-D-17-00564R2.
2. Bonaldo TCG, **Gomez CCS**, Parazzi PLF, Almeida CCB, Marson FAL, Oliveira Therezinha, Grande RAA, Cohen MA. Use of Non-Invasive Ventilation in Children and Adolescents: Scientific Evidence. Current Respiratory Medicine Reviews 2017;13:82-92.
3. Servidoni MF, **Gomez CCS**, Marson FAL, Toro AADC, Ribeiro MAGO, Ribeiro JD, Ribeiro AF. Sweat test and cystic fibrosis: overview of test performance at public and private centers in the state of São Paulo, Brazil. J Bras Pneumol. 2017;43(2):121-128.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37562016000000076>
4. Faria AG, Marson FAL, **Gomez CCS**, Ribeiro MAGO, Morais LB, Servidoni MF, Bertuzzo CS, Sakano E, Goto M, Paschoal IP, Pereira MC, Hessel G, Levy CL, Toro AADC, Peixoto AO, Simões MCR, Lomazi EA, Nogueira RJN, Ribeiro AF, Ribeiro JD. Erratum to: Quality of sweat test (ST) based on the proportion of sweat sodium (Na) and sweat chloride (Cl) as diagnostic parameter of cystic fibrosis: are we on the right way? Diagnostic Pathology (2017) 12:22. DOI 10.1186/s13000-017-0611-x
5. Aguiara KCA, Marson FAL, **Gomez CCS**, Pereira MC, Paschoal IA, Ribeiro AF, J.D. Ribeiro. Physical performance, quality of life and sexualsatisfaction evaluation in adults with cystic fibrosis: An unexplored correlation. Rev Port Pneumol. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rppnen.2017.02.009>.

6. Faria AG, Marson FAL, **Gomez CCS**, Ribeiro MAGO, Morais LB, Servidoni MF, Bertuzzo CS, Sakano E, Goto M, Paschoal IP, Pereira MC, Hessel G, Levy CL, Toro AADC, Peixoto AO, Simões MCR, Lomazi EA, Nogueira RJN, Ribeiro AF, Ribeiro JD. Quality of sweat test (ST) based on the proportion of sweat sodium (Na) and sweat chloride (Cl) as diagnostic parameter of cystic fibrosis: are we on the right way? *Diagnostic Pathology* (2016) 11:103. DOI 10.1186/s13000-016-0555-6
7. **Gomez CCS**, Servidoni MF, Marson FAL, Canavezi PJC, Vinagre AM, Costa ET, Ribeiro AF, Ribeiro MAGO, Toro AADC Toro, Pavan CR, Rondon MVSS, Lorena SLS, Junior UFV, Ribeiro JD. Pulsed direct and constant direct currents in the pilocarpine iontophoresis sweat chloride test. *BMC Pulmonary Medicine* 2014, 14:198. <http://www.biomedcentral.com/1471-2466/14/198>.

II. Apresentações de trabalhos em congressos

1. Pulsed direct and constant direct currents in the pilocarpine iontophoresis sweat chloride test. Young Investigator to presente at the 13th Annual Meeting, London, UK, 2016.
2. Indução de sudorese com correntes contínua pulsada constante: defasagem tensão-corrente. VII Simpósio de Instrumentação e Imagens Médicas (SIIM)/ VI Simpósio de Processamento de Sinais da UNICAMP. Campinas-SP, 2015.
3. Pulsed direct and constant direct currents in the pilocarpine iontophoresis sweat chloride test. Brazil-Denmark Meeting on Cystic Fibrosis Microbiology. Campinas-SP, 2015.
4. Diagnóstico de Fibrose Cística: Procedimentos para Teste do Suor com Auxílio de Novo Dispositivo. 67ª Reunião anual da SBPC. São Carlos-SP, 2015.
5. Perfil dos recém-nascidos encaminhados da triagem neonatal para confirmação do diagnóstico de fibrose cística. V Congresso Brasileiro de FC. Gramado – RS, 2015.
6. Equipamento indutor de suor com corrente contínua pulsada ou constante: Papel da impedância eletrodo-pele. XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica. Uberlândia-MG, 2014.
7. Iontoforese por pilocarpina: comparação entre o uso de correntes contínua pulsada e contínua constante. XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica. Uberlândia-MG, 2014
8. Avaliação da corrente contínua pulsada no teste do suor como método de diagnóstico para fibrose cística. XXXVII Congresso Brasileiro de Pneumologia e Tisiologia. Gramado-RS, 2014.
9. Correlação dos valores de sódio e cloro no suor para teste do suor e diagnóstico de fibrose cística. XXXVII Congresso Brasileiro de Pneumologia e Tisiologia. Gramado-RS, 2014.
10. Evaluation of the effectiveness of cyclical and constant current on sweat test volume and stimulation for cystic fibrosis. European Respiratory Society. Munich 2014.

III. Membro do comitê de ética em pesquisa

1. Membro do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) em seres humanos da Universidade Estadual de Campinas desde 2015 até o presente momento.

IV. Palestras, aulas, organização de eventos e conferências ministradas em eventos científicos

1. Aula sobre o Teste do Suor ministrada no III Workshop de Fibrose Cística. Realizado na Unicamp em 2018
2. III Workshop de Fibrose Cística. Membro da comissão organizadora. Realizado na Unicamp em 2018.
3. Fisioterapia Pediátrica. Aula para os residentes do primeiro ano, Setor de Pediatria Social do Departamento de Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp. 2018.
4. Fisioterapia Pediátrica. Aula para os residentes do primeiro ano, Setor de Pediatria Social do Departamento de Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp. 2017.
5. Fisioterapia respiratória em doenças pulmonares obstrutivas pediátricas. Ministrou Workshop. Faculdade Metrocamp. Campinas-SP, 2016.
6. I Workshop do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos/UNICAMP. Membro da comissão organizadora. Campinas-SP, 2015.

V. Participações em eventos e cursos científicos.

1. Treinamento para os comitês de ética em pesquisa do Estado de São Paulo. Carga horária: 16 horas. Campinas-SP, 2017.
2. 13th Annual Meeting, London, UK, 2016.
3. XV Congresso Latinoamericano de Fibrose Quística. Florianópolis-SC, 2106.
4. Curso 7- Atualização na execução e interpretação dos testes de função pulmonar em Pediatria. Carga horária: 7 horas. XV Congresso Latinoamericano de Fibrose Quística. Florianópolis-SC, 2106.
5. VII Jornada de Fisioterapia do CAISM. Campinas-SP, 2015.
6. I Workshop do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos/UNICAMP. Campinas-SP, 2015.
7. VII Simpósio de Instrumentação e Imagens Médicas (SIIM)/ VI Simpósio de Processamento de Sinais da UNICAMP. Campinas-SP, 2015.
8. Brazil-Denmark Meeting on Cystic Fibrosis Microbiology. Campinas-SP, 2015.
9. 67ª Reunião anual da SBPC. São Carlos-SP, 2015.
10. Método lógico para redação científica. Espaço da Escrita. Campinas-SP, 2015.
11. Workshop “How to write for and get published in scientific journals”. Springer. Campinas-SP, 2015.
12. Encontro Multidisciplinar Roche de Fibrose Cística. São Paulo-SP, 2015.
13. V Congresso Brasileiro de FC. Gramado – RS, 2015
14. 11º Encontro do Programa Didático e do Programa de Estágio Docente (PAD/PED). Campinas-SP, 2015.
15. XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica. Uberlândia-MG, 2014.
16. XXXVII Congresso Brasileiro de Pneumologia e Tisiologia. Gramado-RS, 2014.
17. European Respiratory Society Congress. Munich, 2014.

VI. Participações em bancas examinadoras de atos acadêmicos de exames de trabalhos de conclusão de curso.

Avaliadora da banca de defesa do Trabalho de Conclusão de Curso de Paola Barbieri Pedretti, intitulado “Comparação entre teste de esforço submáximo e sua correlação com gravidade clínica em pacientes com fibrose cística”. Faculdade Integrada Metropolitana de Campinas. 2016.

VII. Programa Estágio Docente – PED

1. Participou do Programa Estágio Docente – Pós Graduação – PED, no grupo B – Atividade de Docência Integral, no primeiro período letivo de 2015, com carga horária de 12 horas semanais, sob supervisão da Professora Doutora Mariana Pôrto Zambon, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Campinas, nas disciplina “Atenção Primária à Saúde da Criança e do Adolescente” da turma D.

VIII. Patente obtida.

1. Autores: CATHARINO, R. R.; ESTEVES, C.Z. ; OLIVEIRA, D. N. ; DIAS, L. A. ; LIMA, ESTELA DE OLIVEIRA ; MELO, C. F. O. R. ; **GOMEZ, C. C. S.**; RIBEIRO, J.D; RIBEIRO, A.F. ; LEVY, C.E.

MÉTODO PARA DETECÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES PARA FIBROSE CÍSTICA NA PELE E SEU USO. 2017, Brasil.

Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10201700546, título: "MÉTODO PARA DETECÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES PARA FIBROSE CÍSTICA NA PELE E SEU USO", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. **Depósito: 17/03/2017**

10. REFERÊNCIAS

- Abdullah LH, Evans JR, Wang TT, Ford AA, Maklov AM, Nguyen K, *et al.* Defective postsecretory maturation of MUC5B mucin in cystic fibrosis airway. *JCI Insight*. 2017;2:e89752.
- Ambort D, Johansson ME, Gustafsson JK, Nilsson HE, Ermund A, Johansson BR, *et al.* Calcium and pH-dependent packing and release of the gel-forming MUC2 mucin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109:5645-5650.
- Anderson CM. Hypothesis revised: cystic fibrosis: a disturbance of water and electrolyte movement in exocrine secretory tissue associated with altered prostaglandina (PGE2) metabolismo? *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1984;3:15-22.
- Anderson DL, Flume PA, Hardy KK. Psychological functioning of adults with cystic fibrosis. *Chest*. 2001; 119:1079-1084.
- ARENA, R, Myers J, Abella J, Peberdy MA, Pinkstaff S, Bensimhon, *et al.* Prognostic value of timing and duration characteristics of exercise oscillatory ventilation in patients with heart failure. *J Heart Lung Transplant*. 2008;27:341-7.
- Barros Neto TL, Tebexreni AS, Tambeiro VL. Aplicações práticas da ergoespirometria no atleta. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*. 2001;11:695-705.
- Barth LR. Perfil microbiológico e indicadores de gravidade em pacientes com fibrose cística. [thesis]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2005.
- Bjarnsholt T, Jensen PØ, Fiandaca MJ, Pedersen J, Hansen CR, Andersen CB, *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol*. 2009;44(6):547-58.
- Boucher RC. Airway surface dehydration in cystic fibrosis: pathogenesis and therapy. *Annu Ver Med*. 2007;58:157-70.

Button B, Cai LH, Ehre C, Kesimer M, Hill DB, Sheehan JK, *et al.* A periciliary brush promotes the lung health by separating the mucus layer from airway epithelia. *Science*. 2012;337:937-41.

Burgel PR, Montani D, Danel C, Dusser DJ, Nadel JA. A morphometric study of mucins and small airway plugging in cystic fibrosis. *Thorax*. 2007; 62:153-61.

Chan HC, Shi QX, Zhou CX, Wang XF, Xu WM, Chen WY, *et al.* Critical role of CFTR in uterine bicarbonate secretion and the fertilizing capacity of sperm. *Mol Cell Endocrinol*. 2006;250:106-113.

Chen EY, Yang N, Quinton PM & Chin WC. A new role for bicarbonate in mucus formation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2010;299:L542-L549.

Cheng H-F, Lin H-C, Yu C-T, Kuo H-P. Effect of aerosolized alkaline solution on patients with bronchiectasis with sputum hypersecretion. *Eur Respir J*. 1996;8:390s.

Choi JY, Muallem D, Kiselyov K, Lee MG, Thomas PJ, Muallem S. Aberrant CFTR-dependent HCO_3^- transport in mutation associated with cystic fibrosis. *Nature*. 2001;410:94-97.

Clarke LL & Harline MC. Dual role of CFTR in CAMP-stimulated HCO_3^- secretion across murine duodenum. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 1998;274:G718-G726.

Coakley R, Grubb BR, Gatzky JT, Chadburn JL, Boucher RC. Differential airway surface liquid (asl) pH, HCO_3^- and K^+ homeostasis in cultured human and dog bronchial epithelium. *Pediatr Pulmonol*. 2000;31 (suppl 20):84.

Coakley RD, Boucher RC. Regulation and functional significance of airway surface liquid pH. *Jop*. 2001;2(4 Suppl):294-300.

Coakley RD, Grubb BR, Paradiso AM, Gatzky JT, Johnson LG, Kreda SM, *et al.* Abnormal surface liquid PH regulation by cultured cystic fibrosis bronchial epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA.* 100, 2003;16083-16088.

Cornelis J, Taeymans J, Hens W, Beckers P, Vrints C, Vissers D. Prognostic respiratory parameters in heart failure patients with and without exercise oscillatory ventilation a systematic review and descriptive meta-analysis. *Int J Cardiol.* 2015;182:476-86.

Cuthbert AW. Bicarbonate secretion in the murine gallbladder-lessons for the treatment of cystic fibrosis. *JOP.* 2001;2:257-262.

Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry. 2011 Annual Data Report. Bethesda, Maryland. c 2012 Cystic Fibrosis Foundation.

Davies JR, Herrmann A, Russel W, Svitacheva N, Wickstrom C, Carlstedt I. Respiratory tract mucins: structure and expression patterns. *Novartis Found Symp.* 2002;248:76-88 [discussion-93,277-82].

Davis CW & Dickey BF. Regulated airway goblet cell mucin secretion. *Annu Rev Physiol.* 2008;70:487-512.

De Boeck K, Amaral MD. Classification of CFTR mutation classes *Lancet Respir Med.* 2016; 4(8):e39.

Dorschner RA, Lopez-Garcia B, Peschel A, Kraus D, Morikawa K, Nizet V, *et al.* The mammalian ionic environment dictates microbial susceptibility to antimicrobial defense peptides. *Faseb J.* 2006;20(1):35-42.

Drake D. Antibacterial activity of baking soda. *Compend Contin Educ Dent Suppl.* 1997;18(21):S17-21;quiz S46.

Duncan GA, Jung J, Joseph A, Thaxton AL, West NE, Boyle MP, *et al.* Microstructural alterations of sputum in cystic fibrosis lung disease. *JCI Insight.* 2016;1(18):e88198.

Durie PR & Forstner GG. The exocrine pancreas. In Cystic Fibrosis in Adults (eds. Yankaskas JR & Knowles MR) 261-287 (Lippincott- Raven, Philadelphia, Pennsylvania, 1999).

Eakin EG, Resnikoff PM, Prewitt LM, Ries AL, Kaplan RM. Validation of a new dyspnea measure: the UCSD Shortness of Breath Questionnaire. University of California, San Diego. Chest. 1998;113(3):619-24.

Ermund A, Meiss LN, Rodriguez-Pineiro AM, Bahr A, Nilsson HE, Trillo-Muyo S, *et al.* The normal trachea is cleaned by MUC5B mucin bundles from the submucosal glands coated with the MUC5AC mucin. Biochem Biophys Res Commun. 2017;492:331-7.

Eschenbacher WL, Gross KB, Muench SP, Chan TL. Inhalation of an alkaline aerosol by subjects with mild asthma does not result in bronchoconstriction. Am Rev Respir Dis. 1991;143(2):341-345.

Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, *et al.* Guidelines for Diagnosis of Cystic Fibrosis in Newborns through Older Adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report. J Pediatr. 2008; 153:S4-S14.

Ferrazza AM, Martolini D, Valli G, Palange P. Cardiopulmonary exercise testing in the functional and prognostic evaluation of patients with pulmonary diseases. Respiration. 2009;77(1):3-17.

Fisher H. Function of proton channels in lung epithelia. Wiley Interdiscip. Rev. Membr. Transp. Signal. 2012;1:247-258.

Frizzell R. ed. Physiology of cystic fibrosis. Physiol. 1999, Rev. 79.

Garcia MA, Yang N & Quinton PM. Normal mouse intestinal mucus release requires cystic fibrosis transmembrane regulator-dependent bicarbonate secretion. J Clin Invest. 2009;119:2613-2622.

Garland AL, Walton WG, Coakley RD, Tan CD, Gilmore RC, Hobbs CA, Tripathy A, Clunes LA, Bencharit S, Stutts MJ, Betts L, Redinbo MR, Tarran R. Molecular basis for pH-dependent mucosal dehydration in cystic fibrosis airways. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(40):15973-8.

Garnett JP, Hickman E, Burrows R, Hegyi P, Tiszlavicz L, Cuthbert AW, *et al*. Novel role for pendrin in orchestrating bicarbonate secretion in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)-expressing airway serous cells. *J Bio Chem*. 2011;286:41069-82.

Goodwin, J. W, Hughes, R. W. *Rheology for Chemists - An Introduction*, 1st ed.; Chemist, The Royal Society of Chemistry: Cambridge, U.K., 2000.

Gross KB, Koets MH, D'Arcy JB, Chan TL, Wooley RG, Basha MA. Mechanism of induction of asthmatic attacks initiated by the inhalation of particles generated by airbag system deployment. *J Trauma*. 1995;38(4):521-527.

Gustafsson JK, Ermund A, Ambort D, Johansson ME, Nilsson HE, Thorell K, *et al*. Bicarbonate and functional CFTR channel are required for proper mucin secretion and link cystic fibrosis with its mucus phenotype. *J Exp Med*. 2012;209:1263-72.

Hammond JA, Connett GJ. The use of lumacaftor/ivacaftor to treat acute deterioration in paediatric cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev*. 2018; pii: S1526-0542(18)30069-1.

Hamutcu R, Rowland JM, Horn MV, Kaminsky C, MacLaughlin EF, Starnes VA, *et al*. Clinical finding and lung pathology in children with cystic fibrosis. *AM J Respir Crit Care Med*. 2002; 165:1172-1175.

Hadorn B, Johansen PG & Anderson MC. Pancreozymin secretin test of exocrine pancreatic function in cystic fibrosis and the significance of the result for the pathogenesis of the disease. *Can Med Assoc J*. 1969;98:377-385.

Hadorn BG *et al.* Quantitative assessment of exocrine pancreatic function in infants and children. 1968;73:3950.

Haidl P, Schönhofer B, Siemon K, Köhler D. Inhaled isotonic alkaline versus saline solution and radioaerosol clearance in chronic cough. *Eur Respir J.* 2000;16(6):1102-8.

Hays SR, Fahy JV. Characterizing mucous cell remodeling in cystic fibrosis: relationship to neutrophils. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174:1018-24.

Henderson AG, Ehre C, Button B, Abdullah LH, Cai LH, Leigh MW, *et al.* Cystic fibrosis airway secretions exhibit mucin hyperconcentration and increased osmotic pressure. *J Clin Invest.* 2014;124:3047-60.

Hill DB, Vasquez PA, Mellnik J, McKinley SA, Vose A, Mu F, *et al.* A biophysical basis for mucus solids concentration as a candidate biomarker for airways disease. *PLoSOne.* 2014;9(2):e87681.

Hoegger MJ, Ficher AJ, McMenimen JD, Ostedgaard LS, Tucker AJ, Awadalla MA, *et al.* Impaired mucus detachment disrupts mucociliary transport in a piglet model of cystic fibrosis. *Science.* 2014;345:818-22.

Høiby N, Ciofu O, Bjarnsholt T. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in cystic fibrosis. *Future Microbiol.* 2010;5(11):1663-74.

Hogan DL, Crombie DL, Isenberg JJ, Svendsen P, Schaffalitzky de Muckadell OB & Ainsworth MA. CFTR mediates CAMP- and Ca^{2+} -activated duodenal epithelial HCO_3^- secretion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 1997;272:G872-G878.

Holma B & Hegg PO. pH - and protein-dependent buffer capacity and viscosity of respiratory mucus. Their interrelationships and influence on health. *Sci Total Environ.* 1989;84:71-82.

Hunt JF, Fang K, Malik R, Snyder A, Malhotra N, Platts-Mills TA, *et al.* Endogenous airway acidification. Implications for asthma pathophysiology. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161(3 Pt 1):694-9.

Hurlbut K, Tong T, Sullivan JB. Pharmacology of hazardous materials toxicology. In: Sullivan JB, Kreiger GR, editors. *Hazardous materials toxicology: Principles of environmental health.* Baltimore: Williams & Wilkins. 1992;404-414.

Illek B, Yankaskas JR & Machen TE. CAMP and genistein stimulate HCO₃⁻ conductance through CFTR in human airway epithelia. *Am J Physiol.* 1997;84:71-82.

Johansen PG, Anderson CM, Hardorn B. Cystic fibrosis of the pancreas: a generalised disturbance of water and electrolyte movement in exocrine tissues. *Lancet.* 1968;1:455-460.

Joo NS, Irokawa T, Robbins RC, Wine JJ. Hyposecretion, not hyperabsorption, is the basic defect of cystic fibrosis airway glands. *J Bio Chem.* 2006;281:7392-98.

Joo NS, Evans IA, Cho HJ, Park IH, Engelhardt JF, Wine JJ. Proteomic analysis of pure human airway gland mucus reveals a large component of protective proteins. *PLoS One.* 2015;10(2):e0116756.

Johnson LR: *Gastrointestinal physiology.* Chapter 7- Salivary secretion. 5th ed; Editoria Mosby, 1997:59-67.

Klijn PHC. Longitudinal determinants of peak aerobic performance in children with cystic fibrosis. *CHEST J.* 2003;124(6):2215.

Knowlton RG, Cohen-Haguenauer O, Van Cong N, Frézal J, Brown VA, Barker D, *et al.* A polymorphic DNA marker linked to cystic fibrosis is located on chromosome 7. *Nature.* 1985; 318(6044):380-2.

Knowles MR, Boucher RC. Mucus clearance as a primary innate defense mechanism for mammalian airways. *J Clin Invest*. 2002;109:571-7.

Kopelman H, Corey M, Gaskin K, Durie P, Weizman Z, Forstner G. Impaired chloride secretion, as well as bicarbonate secretion, underlies the fluid secretory defect in the cystic fibrosis pancreas. *Gastroenterology*. 1988;95:349-355.

Kopelman H, Durie P, Gaskin K, Weizman Z & Forstner G. Pancreatic fluid secretion and protein hyperconcentration in cystic fibrosis. *N Engl J Med*. 1985;312:329-334.

Kreda SM, Davis CW, Rose MC. CFTR, mucins, and mucus obstruction in cystic fibrosis. *Cold Spring Harbor Perspect Med*. 2012;2:a009589.

Kunzelmann K, Schreiber R, Hadorn HB. Bicarbonate in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2017;16(6):653-662.

Lai SK, Wang YY, Wirtz D, Hanes J. Micro- and macrorheology of mucus. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009;61(2):86-100.

Lee MG, Ohana E, Park HW, Yang D, Muallem S. Molecular mechanism of pancreatic and salivary gland fluid and HCO₃ secretion. *Physiol Rev*. 2012;92:39-74.

LeSimple P, Goepp J, Palmer ML, Fahrenkrug SC, O'Grady SM, Ferraro P, *et al*. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator is expressed in mucin granules from Calu-3 and primary human airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2013;49:511-6.

Lindsell P, Tabcharani JA, Rommens JM, Hou YX, Chang XB, Tsui LC, *et al*. Permeability of wild-type and mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator chloride channels to polyatomic anions. *J Gen Physiol*. 1997;110:355-364.

Luan X, Campanucci VA, Nair M, Yilmaz O, Belev G, Machen TE, *et al*. *Pseudomonas aeruginosa* triggers CFTR-mediated airway surface liquid secretion in swine trachea. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014; 111(35):12930-5.

Luan X, Belev G, Tam JS, Jagadeeshan S, Hassan N, Gioino P, *et al.* Cystic fibrosis swine fail to secrete airway surface liquid in response to inhalation of pathogens. *Nat Commun.* 2017; 8(1):786.

Ma JT, Tang C, Kang L, Voynow JA, Rubin BK. Cystic Fibrosis Sputum Rheology Correlates With Both Acute and Longitudinal Changes in Lung Function. *Chest.* 2018; pii: S0012-3692(18)30412-4.

Mall M, Grubb BR, Harkema JR, O'Neal WK, Boucher RC. Increased airway epithelial Na⁺ absorption produces cystic fibrosis-like lung disease in mice. *Nat Med.* 2004;10:487-93.

Marson FAL, Bertuzzo CS, Ribeiro JD. Classification of CFTR mutation classes. *Lancet Respir Med.* 2016;4(8):e37-e38.

Matsui H, Grubb BR, Terran R, Randell SH, Gratzky JT, Davis CW, *et al.* Evidence for periciliary liquid layer depletion, not abnormal ion composition, in the pathogenesis of cystic fibrosis airway disease. *Cell* 1998;95:1005-15.

McShane D, Davies JC, Davies MG, Bush A, Geddes DM, Alton EW. Airway surface pH in subjects with cystic fibrosis. *Eur Respir J.* 2003;21(1):37-42.

Muanprasat C, Sonawane ND, Salinas D, Taddei A, Galiotta LJ, Verkman AS. Discovery of glycine hydrazide pore-occluding CFTR inhibitors: mechanism, structure-activity analysis, and *in vivo* efficacy. *J Gen Physiol.* 2004;124-137.

Muchekehu RW & Quinton PM. A new role for bicarbonate secretion in cervico-uterine mucus release. *J Physiol* 2010;588;2329-2342.

Nixon PA, Orenstein DM, Kelsey SF, Doershuk CF. The prognostic value of *exercise* testing in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 1992; 327(25):1785-8.

Oppenheimer EH, Esterly JR. Pathology of cystic fibrosis review of the literature and comparison with 146 autopsied cases. *Perspect Pediatr Pathol*. 1975;2:241-78.

Paschoal IA, Pereira MC. *Fibrose Cística*. São Caetano do Sul/SP: Yendis Editora. 2010, 444p.

Pezzulo AA, Tang XX, Hoegger MJ, Abou Alaiwa MH, Ramachandran S, Moninger TO, *et al*. Reduced airway surface pH impairs bacterial killing in the porcine cystic fibrosis lung. *Nature*. 2012;487(7405):109-13.

Pianosi P, LeBlanc J, Almudevar A. Relationship between FEV1 and peak oxygen uptake in children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2005;40(4):324-9.

Pittman JE, Ferkol TW. The evolution of cystic fibrosis care. *Chest*. 2015;148:533-42.

Poulsen JH, Fischer H, Illek B, Machen TE. Bicarbonate conductance and pH regulatory capability of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:5340-4.

Quinton PM. Defective epithelial ion transport in cystic fibrosis. *Clin Chem*. 1989; 35(5):726-30.

Quinton PM. Cystic fibrosis: lessons from the sweat gland. *Physiology (Bethesda)*. 2007;22:212-25.

Quinton PM. Cystic Fibrosis: impaired bicarbonate secretion and mucoviscidosis. *Lancet*. 2008;372:415-7.

Quinton PM. Physiological basis of cystic fibrosis: a historical perspective. *Physiol Rev*. 1999;79(1 suppl):S3-S22.

Quinton PM. Role of epithelial HCO₃⁻ transport in mucin secretion lessons from cystic fibrosis. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2010;299:C1222-C1233.

Quinton PM. The neglected ion: HCO_3 . *Nat Med*. 2001;7:292-293.

Rasgado-Flores H, Krishna Mandava V, Siman H, Van Driessche W, Pilewski JM, Randell SH, *et al*. Effect of apical hyperosmotic sodium challenge and amiloride on sodium transport in human bronchial epithelial cells from cystic fibrosis donors. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2013;1;305(11):C1114-22.

Reddy MM, Quinton PM. Bumetanide blocks CFTR GCl in the native sweat duct. *Am J Physiol*. 1999 Jan;276(1 Pt 1):C231-7.

Reddy MM, Quinton PM. Control of dynamic CFTR selectivity by glutamate and ATP in epithelial cells. *Nature* 2003;423:756-760.

Reddy MM, Quinton PM. Cytosolic potassium controls CFTR deactivation in human sweat duct. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2006;291(1):C122-9.

Riordan JR *et al*. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science*. 1989;245:1066-1072.

Riordan JR. CFTR function and prospects for therapy. *Annu Rev Biochem*. 2008;77:701-26.

Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean M, *et al*. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science*. 1989; 8;245(4922):1059-65.

Roy MG, Livraghi-Butrico A, Fletcher AA, McElwee MM, Evans SE, Boerner RM, *et al*. Muc5b is required for airway defence. *Nature*. 2014;505:412-6.

Rozov T, Cunha MT, Nascimento O, Quittner AL, Jardins JR. Linguistic validation of cystic fibrosis quality of life questionnaire. *J Pediatr*. 2006; 82(2):151-156.

Rubin BK. Mucus structure and properties in cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev.* 2007;8(1):4-7.

Seidler U, Blumenstein I, Kretz A, Viellard-Baron D, Rossmann H, Colledge WH, *et al.* A functional CFTR protein is required for mouse intestinal CAMP-, CGMP- and Ca²⁺-dependent HCO₃⁻ secretion. *J Physiol.* 1997;505:411-423.

Shah VS, Meyrholz DK, Tang XX, Reznikov L, Abou AM, Ernst SE, *et al.* Airway acidification initiates host defense abnormalities in cystic fibrosis mice. *Science.* 2016;351:503-7.

Shamsuddin AK, Quinton PM. Native small airway secrete bicarbonate. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2014;50:796-804.

Serisier DJ, Carroll MP, Shute JK, Young SA. Macrorheology of cystic fibrosis, chronic obstructive pulmonary disease & normal sputum. *Respir Res.* 2009 6;10:63.

Silva PRS, Romano A, Yazbek Jr P, Cordeiro JR, Battistella LR. Ergoespirometria computadorizada ou calorimetria indireta: um método não invasivo de crescente valorização na avaliação cardiorrespiratória ao exercício. *Rev Bras Med Esporte.* 1998;4:147-58.

Smith JJ, Welsh MJ. cAMP stimulates bicarbonate secretion across normal, but not cystic fibrosis airway epithelia. *J Clin Invest.* 1992;89:1148-53.

Starner TD, Zhang N, Kim G, Apicella MA, McCray PB Jr. *Haemophilus influenzae* forms biofilms on airway epithelia: implications in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174(2):213-20.

Stigliani M, Manniello MD, Zegarra-Moran O, Galiotta L, Minicucci L, Casciaro R, *et al.* Rheological Properties of Cystic Fibrosis Bronchial Secretion and in Vitro Drug

Permeation Study: The Effect of Sodium Bicarbonate. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* 2016;29(4):337-45.

Stoltz DA, Meyerholz DK, Pezzulo AA, Ramachandran S, Rogan MP, Davis GJ, *et al.* Cystic fibrosis pigs develop lung disease and exhibit defective bacterial eradication at birth. *Sci Transl Med.* 2010;2:29ra31.

Suri R, Wallis C, Bush A, Thompson S, Normand C, Flather M, *et al.* A comparative study of hypertonic saline, daily and alternate-day rhDNase in children with cystic fibrosis. *Health Technol Assess.* 2002;6(34):iii, 1-60.

Tarran R, Donaldson S, Boucher RC. Rationale for hypertonic saline therapy for cystic fibrosis lung disease. *Semin Respir Crit Care Med.* 2007 Jun;28(3):295-302.

Taylor HL, Buskirk E, Henschel A. Maximal oxygen intake as an objective measure of cardiorespiratory performance. *J Appl Physiol.* 1955;8:73-80.

Tiddens HA, Donaldson SH, Rosenfeld M, Pare PD. Cystic fibrosis lung disease starts in the small airways: can we treat it more effectively? *Pediatr Pulmonol.* 2010;45:107-117.

Tomaiuolo G, Rusciano G, Caserta S, Carciati A, Carnovale V, Abete P, *et al.* A new method to improve the clinical evaluation of cystic fibrosis patients by mucus viscoelastic properties. *PLoS One.* 2014; 3;9(1):e82297.

Trout L, King M, Feng W, Inglis SK, Ballard ST. Inhibition of airway liquid secretion and its effects on the physical properties of airway mucus. *Am J Phys.* 1998;274:L258-63.

Wainwright BJ, Scambler PJ, Schmidtke J, Watson EA, Law HY, Farrall M, *et al.* Localization of cystic fibrosis locus to human chromosome 7cen-q22. *Nature.* 1985;318(6044):384-5.

Wang X, Lytle C, Quinton PM. Predominant constitutive CFTR conductance in small airways. *Respir Res.* 2005;6:7-19.

Welsh MJ, Smith AE. Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell.* 1993; 2;73(7):1251-4.

Wine JJ, Hansson GC, König P, Joo NS, Ermund A, Pieper M. Progress in understanding mucus abnormalities in cystic fibrosis airways. *J Cyst Fibros.* 2018 Mar;17(2S):S35-S39.

Worlitzsch D, Tarran R, Ulrich M, Schwab U, Cekici A, Meyer KC, *et al.* Effects of reduced mucus oxygen concentration in airway *Pseudomonas* infections of cystic fibrosis patients. *J Clin Invest.* 2002;109(3):317-25.

Yang N, Garcia MA, Quinton PM. Normal mucus formation requires cAMP-dependent HCO_3^- secretion and Ca^{2+} -mediated mucin exocytosis. *J Physiol.* 2013;591:4581-93.

Zielenski J. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration.* 2000;67:117-133.

Zhou-Suckow Z, Duerr J, Hagner M, Agrawal R, Mall MA. Airway mucus, inflammation and remodeling: emerging links in the pathogenesis of chronic lung disease. *Cell Tissue Res.* 2017; 367:537-50.

Zuelzer WW, Newton WA. The pathogenesis of fibrocystic disease of the pancreas: a study of 36 cases with special reference to the pulmonary lesions. *Pediatrics.* 1949;4:53-69.

11. APÊNDICES

Apêndice 1 – Diário de Dados

Diário de dados

Fornecido após a consulta da triagem para preenchimento em casa

Nome: _____ Data: _____

I. Terapias do período da manhã:

Hora que você iniciou terapias: _____

- ☐ salbutamol (aerolin) ou berotec
- ☐ inalação do bicarbonato de sódio (droga estudada)
- ☐ inalação da salina hipertônica (se aplicável)
- ☐ inalação da alfa dornase (se aplicável)
- ☐ inalação de antibióticos (se aplicável)
- ☐ outros medicamentos (ex: Tylenol, suplemento, novos antibióticos, etc):

Nome de outros medicamentos: _____

Dose: _____

Medidas do Peak Flow da manhã:

Valor do melhor dos três valores: _____

II. Terapias do período da tarde ou noite:

Hora que você iniciou terapias: _____

- ☐ salbutamol (aerolin) ou berotec
- ☐ inalação do bicarbonato de sódio (droga estudada)
- ☐ inalação da salina hipertônica (se aplicável)
- ☐ inalação da alfa dornase (se aplicável)
- ☐ inalação de antibióticos (se aplicável)
- ☐ outros medicamentos (ex: Tylenol, suplemento, novos antibióticos, etc):

Nome de outros medicamentos: _____

Dose: _____

Medidas do Peak Flow da tarde ou noite:

Valor do melhor dos três valores: _____

Mudança de algum medicamento: Sim / Não

Se SIM, o que mudou?

III. Sintomas avaliados:

Eu não fui trabalhar ou não fui a escola hoje porque não me senti bem:

Sim/ Não

Escala analógica visual:

Sobre as linhas a seguir, marcar onde melhor descreve o que você está sentindo de acordo com os seus sintomas.

1) Falta de ar

Sem falta de ar

Pior falta de ar que se possa imaginar

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

2) Tosse

Sem tosse

Pior tosse que se possa imaginar

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

3) Produção de escarro

Sem escarro

Muita quantidade na produção do escarro

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

4) Disposição (energia)

Com muita disposição (energia)

Pior nível de indisposição

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

IV) Outros sintomas:

Circle abaixo “Sim” ou “Não”.

Escreva outros sintomas que não estão listados no espaço abaixo:

Hoje (dia 1):

Cuspiu sangue	Sim ()	Não ()
Dor de cabeça ou dor perto dos olhos	Sim ()	Não ()
Sensação de engolir secreção	Sim ()	Não ()
Obstrução do nariz	Sim ()	Não ()
Febre	Sim ()	Não ()
Perdeu peso	Sim ()	Não ()
Perdeu apetite	Sim ()	Não ()

Escreva outros sintomas que você teve e que não estão listados anteriormente:

Apêndice 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP

Segurança e tolerabilidade da inalação de bicarbonato de sódio em pacientes com fibrose cística.

Pesquisadores Responsáveis:

- **José Dirceu Ribeiro- 19 35218983/ 19 992147525**
- **Carla Cristina Souza Gomez- 19 35218983**
- **Andressa Peixoto- 19 35218983/ 19 981284888**
- **Maria Ângela Ribeiro- 19 35218983**

Número do CAAE: (51819915.4.0000.5404)

Você está sendo convidado a participar, como voluntário, de uma pesquisa. Leia o texto com atenção e calma, aproveitando para esclarecer suas dúvidas. Se houver perguntas antes ou mesmo depois de assiná-lo, você poderá esclarecê-las com os pesquisadores. Queremos saber, com esta pesquisa, os benefícios e a eficácia da inalação com o bicarbonato de sódio sobre as secreções pulmonares e confirmar se a utilização do mesmo, nas vias aéreas pulmonares, interfere na fluidificação e remoção da secreção pulmonar, promovendo a limpeza das vias aéreas. As crianças e adolescentes que irão participar desta pesquisa estarão na faixa etária entre 10 e 17 anos de idade.

Este projeto contará de 7 visitas e você receberá medicamentos para fazer inalações em casa.

Procedimentos da pesquisa:

1- Questionário de qualidade de vida na Fibrose cística e questionário respiratórios – você deverá responder um questionário com questões sobre sua vida diária e sobre o quanto a fibrose cística e os problemas respiratórios lhe atrapalham, caso não queira responder ou sentir algum desconforto com as perguntas, você poderá desistir da pesquisa a qualquer momento e a sua desistência não irá prejudicar seu tratamento no ambulatório.

2 - Coleta de sangue – caso necessite a realização da coleta de sangue, você poderá sentir desconfortos com a picada e outros sintomas não previsíveis, caso ocorra algum desconforto que não está previsível neste procedimento de coleta de sangue você irá prontamente ser atendido pela equipe de médicos e enfermeiros do próprio laboratório de fisiologia pulmonar que estará realizando a coleta.

3 – Teste de degrau de Harvard – neste teste você irá subir e descer um degrau (do tamanho de um degrau de escada) por 6 minutos. Neste teste você poderá ou não sentir cansaço, dispneia, falta de ar e tonturas, para evitar esses desconfortos, iremos respeitar o seu limite e você poderá parar o teste quando quiser. Este teste será supervisionado por um fisioterapeuta treinado em realizá-lo e, também por um médico pneumologista caso necessite de medicamento de broncodilatador para melhorar a falta de ar que o teste, eventualmente, pode causar.

4- Coleta de escarro- caso você não consiga escarrar espontaneamente, será utilizada uma inalação com salina hipertônica para auxiliar na fluidificação do muco. Este procedimento pode causar tosse. O procedimento será realizado sob supervisão de um médico pneumologista.

5- Teste de espirometria – Você fará um teste de espirometria em cada visita ao centro. A espirometria pode causar cansaço, tosse e falta de ar. Se houver desconforto, o mesmo será minimizado e você pode parar o teste quando quiser. Este teste também será supervisionado pelo médico pneumologista.

6- Inalação com bicarbonato de sódio- você fará esta inalação que, eventualmente, poderá causar tosse e falta de ar. Caso você sinta desconforto, deverá relatar para o médico pneumologista que irá prescrever medicação broncodilatadora para minimizar falta de ar.

Caso você ou seus pais tenham alguma dúvida, a respeito do projeto, vocês podem perguntar para os pesquisadores.

As amostras serão coletadas no dia que você vier ao CIPED da UNICAMP, onde você já faz seu acompanhamento com os médicos. Como você já estará no hospital, seus pais não vão receber dinheiro para que você participe desta pesquisa, ou seja, vocês não vão receber dinheiro para transporte e nem para alimentação.

Participando desta pesquisa não acontecerá nada de bom para você agora. Mas você pode ajudar a comprovar os benefícios da inalação, com o bicarbonato de sódio, na eliminação do muco espesso e na limpeza pulmonar. Este procedimento, poderá fazer parte da sua rotina e também ajudar as crianças que ainda não tem lesões pulmonares, prevenindo-as dos danos causados pelo muco espesso nos pulmões.

Nós garantimos que ninguém saberá que você está participando da pesquisa, para que você se sinta à vontade e nem daremos a estranhos as informações que você nos informar. Tudo será mantido em segredo e só os pesquisadores saberão destas informações e eles as guardarão em um local seguro.

Os resultados desta pesquisa serão publicados em revistas e jornais importantes para que outros pesquisadores possam saber o que fizemos, mas sem colocar o seu nome ou o nome das crianças e adolescentes que participarem da pesquisa.

Se você não quiser assinar agora, você pode levar este documento para casa, conversar com os seus pais e trazer na próxima vez que vier ao CIPED da UNICAMP.

Seus pais também assinarão um termo parecido com este, e eles serão esclarecidos de tudo o que irá acontecer com você. Você não precisa participar da pesquisa **se não quiser**, é um **direito** seu, e não terá nenhum problema se você desistir.

Muito obrigada!

Campinas, ____ de _____ de 201____.

Assinatura do participante:_____

Assinatura do Responsável: _____

Asseguro ter cumprido as exigências da resolução 466/2012 CNS/MS e complementares na elaboração do protocolo e na obtenção deste Termo de Assentimento Livre e Esclarecido. Asseguro, também, ter explicado e fornecido uma cópia deste documento ao participante. Informo que o estudo foi aprovado pelo CEP perante o qual o projeto foi apresentado. Comprometo-me a utilizar o material e os dados obtidos nesta pesquisa exclusivamente para as finalidades previstas neste documento ou conforme o consentimento dado pelo participante.

Pesquisadora Responsável: Carla Cristina Souza Gomez

Assinatura: _____

Laboratório de Fisiologia Pulmonar (LAFIP)- Rua Tessália Vieira de Camargo, 124 – Centro de Investigação em Pediatria (CIPED) – Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP.

Em caso de denúncias e/ou reclamações referentes aos aspectos éticos da pesquisa entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) pelo telefone 19- 35217187, Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, Bairro: Barão Geraldo, Cep: 13083-887, Campinas-SP, Horário de funcionamento: 9h00 às 17h00.

Apêndice 3 - Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE ASSENTIMENTO FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP

Segurança e tolerabilidade da inalação de bicarbonato de sódio em pacientes com fibrose cística.

Pesquisadores Responsáveis:

- **José Dirceu Ribeiro- 19 35218983/ 19 992147525**
- **Carla Cristina Souza Gomez- 19 35218983**
- **Andressa Peixoto- 19 35218983/ 19 981284888**
- **Maria Ângela Ribeiro- 19 35218983**

Número do CAAE: (51819915.4.0000.5404)

Você está sendo convidado a participar, como voluntário, de uma pesquisa. Leia o texto com atenção e calma, aproveitando para esclarecer suas dúvidas. Se houver perguntas antes ou mesmo depois de assiná-lo, você poderá esclarecê-las com os pesquisadores. Queremos saber, com esta pesquisa, os benefícios e a eficácia da inalação com o bicarbonato de sódio sobre as secreções pulmonares e confirmar se a utilização do mesmo, nas vias aéreas pulmonares, interfere na fluidificação e remoção da secreção pulmonar, promovendo a limpeza das vias aéreas. As crianças e adolescentes que irão participar desta pesquisa estarão na faixa etária entre 10 e 17 anos de idade.

Este projeto contará de 7 visitas e você receberá medicamentos para fazer inalações em casa.

Procedimentos da pesquisa:

1- Questionário de qualidade de vida na Fibrose cística e questionário respiratórios – você deverá responder um questionário com questões sobre sua vida diária e sobre o quanto a fibrose cística e os problemas respiratórios lhe atrapalham, caso não queira responder ou sentir algum desconforto com as perguntas, você poderá desistir da pesquisa a qualquer momento e a sua desistência não irá prejudicar seu tratamento no ambulatório.

2 - Coleta de sangue – caso necessite a realização da coleta de sangue, você poderá sentir desconfortos com a picada e outros sintomas não previsíveis, caso ocorra algum desconforto que não está previsível neste procedimento de coleta de sangue você irá prontamente ser atendido pela equipe de médicos e enfermeiros do próprio laboratório de fisiologia pulmonar que estará realizando a coleta.

3 – Teste de degrau de Harvard – neste teste você irá subir e descer um degrau (do tamanho de um degrau de escada) por 6 minutos. Neste teste você poderá ou não sentir cansaço, dispneia, falta de ar e tonturas, para evitar esses desconfortos, iremos respeitar o seu limite e você poderá parar o teste quando quiser. Este teste será supervisionado por um fisioterapeuta treinado em realizá-lo e, também por um médico pneumologista caso necessite de medicamento de broncodilatador para melhorar a falta de ar que o teste, eventualmente, pode causar.

4- Coleta de escarro- caso você não consiga escarrar espontaneamente, será utilizada uma inalação com salina hipertônica para auxiliar na fluidificação do muco. Este procedimento pode causar tosse. O procedimento será realizado sob supervisão de um médico pneumologista.

5- Teste de espirometria – Você fará um teste de espirometria em cada visita ao centro. A espirometria pode causar cansaço, tosse e falta de ar. Se houver desconforto, o mesmo será minimizado e você pode parar o teste quando quiser. Este teste também será supervisionado pelo médico pneumologista.

6- Inalação com bicarbonato de sódio- você fará esta inalação que, eventualmente, poderá causar tosse e falta de ar. Caso você sinta desconforto, deverá relatar para o médico pneumologista que irá prescrever medicação broncodilatadora para minimizar falta de ar.

Caso você ou seus pais tenham alguma dúvida, a respeito do projeto, vocês podem perguntar para os pesquisadores.

As amostras serão coletadas no dia que você vier ao CIPED da UNICAMP, onde você já faz seu acompanhamento com os médicos. Como você já estará no hospital, seus pais não vão receber dinheiro para que você participe desta pesquisa, ou seja, vocês não vão receber dinheiro para transporte e nem para alimentação.

Participando desta pesquisa não acontecerá nada de bom para você agora. Mas você pode ajudar a comprovar os benefícios da inalação, com o bicarbonato de sódio, na eliminação do muco espesso e na limpeza pulmonar. Este procedimento, poderá fazer parte da sua rotina e também ajudar as crianças que ainda não tem lesões pulmonares, prevenindo-as dos danos causados pelo muco espesso nos pulmões.

Nós garantimos que ninguém saberá que você está participando da pesquisa, para que você se sinta à vontade e nem daremos a estranhos as informações que você nos informar. Tudo será mantido em segredo e só os pesquisadores saberão destas informações e eles as guardarão em um local seguro.

Os resultados desta pesquisa serão publicados em revistas e jornais importantes para que outros pesquisadores possam saber o que fizemos, mas sem colocar o seu nome ou o nome das crianças e adolescentes que participarem da pesquisa.

Se você não quiser assinar agora, você pode levar este documento para casa, conversar com os seus pais e trazer na próxima vez que vier ao CIPED da UNICAMP.

Seus pais também assinarão um termo parecido com este, e eles serão esclarecidos de tudo o que irá acontecer com você. Você não precisa participar da pesquisa **se não quiser**, é um **direito** seu, e não terá nenhum problema se você desistir.

Muito obrigada!

Campinas, ____ de _____ de 201____.

Assinatura do participante:_____

Asseguro ter cumprido as exigências da resolução 466/2012 CNS/MS e complementares na elaboração do protocolo e na obtenção deste Termo de Assentimento Livre e Esclarecido. Asseguro, também, ter explicado e fornecido uma cópia deste documento ao participante. Informo que o estudo foi aprovado pelo CEP perante o qual o projeto foi apresentado. Comprometo-me a utilizar o material e os dados obtidos nesta pesquisa exclusivamente para as finalidades previstas neste documento ou conforme o consentimento dado pelo participante.

Pesquisadora Responsável: Carla Cristina Souza Gomez

Assinatura: _____

Laboratório de Fisiologia Pulmonar (LAFIP)- Rua Tessália Vieira de Camargo, 124 – Centro de Investigação em Pediatria (CIPED) – Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP.

Em caso de denúncias e/ou reclamações referentes aos aspectos éticos da pesquisa entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) pelo telefone 19- 35217187, Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, Bairro: Barão Geraldo, Cep: 13083-887, Campinas-SP, Horário de funcionamento: 9h00 às 17h00.

12. ANEXOS

Anexo 1- Questionário de Qualidade de Vida Revisado (Quittner *et al.*, 2016)

Este questionário é destinado aos adolescentes que, como você, têm FIBROSE CÍSTICA. Suas respostas nos ajudarão a entender esta doença e como os tratamentos podem ajudar você. Assim, respondendo estas questões, você ajudará a você mesmo e a outros com fibrose cística no futuro.

Por favor, responda todas as questões. **Não há respostas erradas ou certas.** Se você não está seguro quanto à resposta, escolha a que parece mais próxima da sua situação.

Por favor, complete as informações abaixo:

A) Qual a data do seu nascimento?

Dia		Mês		Ano			

B) Você é?

☐ Masculino ☐ Feminino

C) Durante as **últimas duas semanas**, você estava de férias ou faltou à escola por razões **NÃO** relacionadas a sua saúde?

☐ Sim ☐ Não

D) Qual das seguintes descreve melhor maneira a sua origem?

1 ☐ Branca 2 ☐ Negra 3 ☐ Mulata
 4 ☐ Oriental 5 ☐ Indígena 6 ☐ Outra (qual?) _____
 7 ☐ Prefere não responder 8 ☐ Não sabe responder

E) Em que série você está agora?

1 ☐ 5ª série 2 ☐ 6ª série 3 ☐ 7ª série 4 ☐ 8ª série
 5 ☐ 1º colegial 6 ☐ não está na escola

Por favor, assinale o quadrado que indica a sua resposta.

Durante **as últimas duas semanas**:

	Sempre é verdade	Quase sempre é verdade	Às vezes é verdade	Nunca é verdade
1. Você foi capaz de andar tão depressa quanto os outros	☐	☐	☐	☐
2. Você foi capaz de subir escadas tão depressa quanto os outros	☐	☐	☐	☐
3. Você foi capaz de correr, pular e brincar o quanto você queria	☐	☐	☐	☐
4. Você foi capaz de correr tão rápido e por tanto tempo quanto os outros	☐	☐	☐	☐
5. Você foi capaz de participar de esportes que você gosta (como nadar, dançar, jogar futebol e outros)	☐	☐	☐	☐
6. Você teve dificuldade de carregar ou levantar objetos pesados como livros, mochila e maleta da escola	☐	☐	☐	☐

Por favor, assinalar o quadrado que indica a sua resposta.

Durante as últimas **duas semanas**, indique com que frequência:

	Sempre	Freqüentemente	Às vezes	Nunca
7. Você se sentiu cansado (a)	☐	☐	☐	☐
8. Você se sentiu bravo (a)	☐	☐	☐	☐
9. Você se sentiu irritado (a)	☐	☐	☐	☐
10. Você se sentiu preocupado (a)	☐	☐	☐	☐
11. Você se sentiu triste	☐	☐	☐	☐

	Sempre	Freqüentemente	Às vezes	Nunca
12. Você teve dificuldade em adormecer	☐	☐	☐	☐
13. Você teve sonhos ruins ou pesadelos	☐	☐	☐	☐
14. Você se sentiu bem consigo mesmo (a)	☐	☐	☐	☐
15. Você teve problemas para comer	☐	☐	☐	☐
16. Você teve que parar de brincar ou jogar por causa dos seus tratamentos	☐	☐	☐	☐
17. Você foi obrigado (a) a comer	☐	☐	☐	☐

Por favor, assinale o quadrado indicando a sua resposta.

Durante **as últimas duas semanas**:

	Sempre é verdade	Quase sempre é verdade	Às vezes é verdade	Nunca é verdade
18. Você foi capaz de fazer todos os seus tratamentos	☐	☐	☐	☐
19. Você gostou de comer	☐	☐	☐	☐
20. Você ficou muito com os amigos	☐	☐	☐	☐
21. Você ficou em casa mais tempo do que você queria	☐	☐	☐	☐
22. Você se sentiu bem dormindo fora de casa (na casa do amigo, parente ou outro lugar)	☐	☐	☐	☐
23. Você se sentiu excluído (a)	☐	☐	☐	☐
24. Você convidou com freqüência os amigos para sua casa	☐	☐	☐	☐
25. Você foi “gozado” (a) por outras crianças	☐	☐	☐	☐

	Sempre é verdade	Quase sempre é verdade	Às vezes é verdade	Nunca é verdade
26. Você se sentiu bem falando sobre sua doença com outros (amigos, professores)	☐	☐	☐	☐
27. Você pensou que era muito pequeno (a)	☐	☐	☐	☐
28. Você pensou que você era muito magro (a)	☐	☐	☐	☐
29. Você pensou que você era diferente fisicamente dos outros de sua idade	☐	☐	☐	☐
30. Fazer seus tratamentos deixou você chateado (a)	☐	☐	☐	☐

Por favor, assinale o quadrado indicando a sua resposta.

Diga-nos quantas vezes **nas últimas duas semanas:**

	Sempre	Freqüentemente	Às vezes	Nunca
31. Você tossiu durante o dia	☐	☐	☐	☐
32. Você acordou à noite por causa da tosse	☐	☐	☐	☐
33. Você tossiu com catarro	☐	☐	☐	☐
34. Você teve falta de ar	☐	☐	☐	☐
35. Seu estômago doeu	☐	☐	☐	☐

Por favor, assegure-se que todas as questões foram respondidas.

OBRIGADO POR SUA COOPERAÇÃO!

ADOLESCENTES E ADULTOS (PACIENTES ACIMA DE 14 ANOS)

A compreensão do impacto que a sua doença e os seus tratamentos têm na sua vida diária pode ajudar a equipe profissional a acompanhar sua saúde e ajustar os seus tratamentos. Por isso, este questionário foi especificamente desenvolvido para pessoas portadoras de fibrose cística. Obrigado por completar o questionário.

INSTRUÇÕES: As questões a seguir se referem ao estado atual da sua saúde e como você a percebe. Essa informação vai permitir que a equipe de saúde entenda melhor como você se sente na sua vida diária.

Por favor, responda todas as questões. Não há respostas erradas ou certas. Se você está em dúvida quanto à resposta, escolha a que estiver mais próxima da sua situação.

SEÇÃO I. DEMOGRAFIA

Por favor, complete as informações abaixo:

A) Qual a sua data de nascimento?

Dia		Mês		Ano			

B) Qual o seu sexo?

☐

Masculino

☐

Feminino

C) Durante as **últimas duas semanas** você esteve de férias ou faltou à escola ou ao trabalho por razões **NÃO** relacionadas à sua saúde?

☐

Sim

☐

Não

D) Qual o seu estado civil atual?

1 ☐

Solteiro (a) / nunca casou

2 ☐

Casado (a)

3 ☐

Viúvo (a)

4 ☐

Divorciado (a)

5 ☐

Separado (a)

6 ☐

2º casamento

7 ☐

Juntado (a)

E) Qual a origem dos seus familiares?

1 ☐

Branca

2 ☐

Negra

3 ☐

Mulata

4 ☐

Oriental

5 ☐

Indígena

6 ☐

Outra (qual?) _____

7 ☐

Prefere não responder

8 ☐

Não sabe responder

ADOLESCENTES E ADULTOS (PACIENTES ACIMA DE 14 ANOS)

F) Qual foi o grau máximo de escolaridade que você completou?

- ☐ Escola Fundamental (Primário e Ginásio) Incompleto
- ☐ Escola Fundamental (Primário e Ginásio) Completo
- ☐ Escola Vocacional (Profissionalizante)
- ☐ Curso Médio (colegial ou científico) Incompleto
- ☐ Curso Médio (colegial ou científico) Completo
- ☐ Faculdade / Curso Superior
- ☐ Não freqüentou a escola

G) Qual das seguintes opções descreve de melhor maneira o seu trabalho atual ou atividade escolar?

- ☐ Vai à escola
- ☐ Faz cursos em casa
- ☐ Procura trabalho
- ☐ Trabalha em período integral ou parcial (fora ou dentro de casa)
- ☐ Faz serviços em casa – período integral
- ☐ Não vai à escola ou trabalho por causa da saúde
- ☐ Não trabalha por outras razões

SEÇÃO II: QUALIDADE DE VIDA

Por favor, assinale o quadrado, indicando a sua resposta.

*Durante as **últimas duas semanas** em que nível você teve dificuldade para:*

	Muita dificuldade	Alguma dificuldade	Pouca dificuldade	Nenhuma dificuldade
1. Realizar atividades vigorosas como correr ou praticar esportes	☐	☐	☐	☐
2. Andar tão depressa quanto os outros	☐	☐	☐	☐
3. Carregar ou levantar coisas pesadas como livros, pacotes ou mochilas	☐	☐	☐	☐

ADOLESCENTES E ADULTOS (PACIENTES ACIMA DE 14 ANOS)

	Muita dificuldade	Alguma dificuldade	Pouca dificuldade	Nenhuma dificuldade
4. Subir um lance de escadas	☐	☐	☐	☐
5. Subir tão depressa quanto os outros	☐	☐	☐	☐

Por favor, assinale o quadrado, indicando a sua resposta.

Durante as últimas duas semanas indique quantas vezes:

	Sempre	Freqüentemente	Às vezes	Nunca
6. Você se sentiu bem	☐	☐	☐	☐
7. Você se sentiu preocupado (a)	☐	☐	☐	☐
8. Você se sentiu inútil	☐	☐	☐	☐
9. Você se sentiu cansado (a)	☐	☐	☐	☐
10. Você se sentiu cheio (a) de energia	☐	☐	☐	☐
11. Você se sentiu exausto (a)	☐	☐	☐	☐
12. Você se sentiu triste	☐	☐	☐	☐

Por favor, circule o número que indica a sua resposta. Escolha apenas uma resposta para cada questão.

Pensando sobre o seu estado de saúde nas últimas duas semanas:

13. Qual é a sua dificuldade para andar?

1. Você consegue andar por longo período, sem se cansar
2. Você consegue andar por longo período, mas se cansa
3. Você não consegue andar por longo período porque se cansa rapidamente
4. Você evita de andar, sempre que é possível, porque é muito cansativo

14. Como você se sente em relação à comida?

1. Só de pensar em comida, você se sente mal
2. Você nunca gosta de comer
3. Você às vezes gosta de comer
4. Você sempre gosta de comer

ADOLESCENTES E ADULTOS (PACIENTES ACIMA DE 14 ANOS)

15. Até que ponto os tratamentos que você faz tornam a sua vida diária difícil?

1. Nem um pouco
2. Um pouco
3. Moderadamente
4. Muito

16. Quanto tempo você gasta nos tratamentos diariamente?

1. Muito tempo
2. Algum tempo
3. Pouco tempo
4. Não muito tempo

17. O quanto é difícil para você realizar seus tratamentos, inclusive medicações, diariamente?

1. Não é difícil
2. Um pouco difícil
3. Moderadamente difícil
4. Muito difícil

18. O que você pensa da sua saúde no momento?

1. Excelente
2. Boa
3. Mais ou menos (regular)
4. Ruim

Por favor, selecione o quadrado indicando sua resposta.

Pensando sobre a sua saúde, durante as **últimas duas semanas**, indique na sua opinião em que grau, as sentenças abaixo são falsas ou verdadeiras:

	É sempre verdade	Quase sempre é verdade	Às vezes é verdade	Nunca é verdade
19. Eu tenho dificuldade em me recuperar após esforço físico	☐	☐	☐	☐
20. Eu preciso limitar atividades intensas como correr ou jogar	☐	☐	☐	☐
21. Eu tenho que me esforçar para comer	☐	☐	☐	☐

ADOLESCENTES E ADULTOS (PACIENTES ACIMA DE 14 ANOS)

	Sempre é verdade	Quase sempre é verdade	Às vezes é verdade	Nunca é verdade
22. Eu preciso ficar em casa mais do que eu gostaria	☐	☐	☐	☐
23. Eu me sinto bem falando sobre a minha doença com os outros	☐	☐	☐	☐
24. Eu acho que estou muito magro(a)	☐	☐	☐	☐
25. Eu acho que minha aparência é diferente dos outros da minha idade	☐	☐	☐	☐
26. Eu me sinto mal com a minha aparência física	☐	☐	☐	☐
27. As pessoas têm medo que eu possa ser contagioso (a)	☐	☐	☐	☐
28. Eu fico bastante com os meus amigos	☐	☐	☐	☐
29. Eu penso que a minha tosse incomoda os outros	☐	☐	☐	☐
30. Eu me sinto confortável ao sair de noite	☐	☐	☐	☐
31. Eu me sinto sozinho(a) com frequência	☐	☐	☐	☐
32. Eu me sinto saudável	☐	☐	☐	☐
33. É difícil fazer planos para o futuro (por exemplo frequentar faculdade, casar, progredir no emprego)	☐	☐	☐	☐
34. Eu levo uma vida normal	☐	☐	☐	☐

SEÇÃO III. ESCOLA, TRABALHO OU ATIVIDADES DIÁRIAS

Por favor, escolha o número ou selecione o quadrado indicando sua resposta.

35. Quantos problemas você teve para manter suas atividades escolares, trabalho profissional ou outras atividades diárias, durante **as últimas duas semanas:**

1. Você não teve problemas
2. Você conseguiu manter atividades, mas foi difícil
3. Você ficou para trás
4. Você não conseguiu realizar as atividades, de nenhum modo

ADOLESCENTES E ADULTOS (PACIENTES ACIMA DE 14 ANOS)

36. Quantas vezes você faltou à escola, ao trabalho ou não conseguiu fazer suas atividades diárias por causa da sua doença ou dos seus tratamentos **nas últimas duas semanas**?

☐ sempre ☐ freqüentemente ☐ às vezes ☐ nunca

37. O quanto a Fibrose Cística atrapalha você para cumprir seus objetivos pessoais, na escola ou no trabalho?

☐ sempre ☐ freqüentemente ☐ às vezes ☐ nunca

38. O quanto a Fibrose Cística interfere nas suas saídas de casa, tais como fazer compras ou ir ao banco?

☐ sempre ☐ freqüentemente ☐ às vezes ☐ nunca

SEÇÃO IV. DIFICULDADES E SINTOMAS

Por favor, assinale a sua resposta.

*Indique como você tem se sentido durante as **últimas duas semanas***

	Muito (a)	Algum(a)	Um pouco	Nada
39. Você teve dificuldades para ganhar peso?	☐	☐	☐	☐
40. Você estava encatarrado (a)?	☐	☐	☐	☐
41. Você tem tossido durante o dia?	☐	☐	☐	☐
42. Você teve que expectorar catarro?	☐	☐	☐	* ☐

*Vá para a
questão 44

43. O seu catarro (muco) tem sido predominantemente:

☐ claro ☐ claro para amarelado ☐ amarelo – esverdeado
☐ verde com traços de sangue ☐ não sabe

ADOLESCENTES E ADULTOS (PACIENTES ACIMA DE 14 ANOS)

Com que frequência, ***nas últimas duas semanas:***

	Sempre	Freqüentemente	Às vezes	Nunca
44. Você tem tido chiado?	☐	☐	☐	☐
45. Você tem tido falta de ar?	☐	☐	☐	☐
46. Você tem acordado à noite por causa da tosse?	☐	☐	☐	☐
47. Você tem tido problema de gases?	☐	☐	☐	☐
48. Você tem tido diarreia?	☐	☐	☐	☐
49. Você tem tido dor abdominal?	☐	☐	☐	☐
50. Você tem tido problemas alimentares?	☐	☐	☐	☐

Por favor, verifique se você respondeu todas as questões.

OBRIGADO POR SUA COOPERAÇÃO!

Anexo 2 – Questionário de Dispneia de San Diego (Eakin et al., 1998), traduzido para o português.

UCSD Medical Center Pulmonary Rehabilitation Program Shortness-of-Breath
Questionnaire ©1995 The Regents of the University of California

Instruções: Para cada atividade listada abaixo, por favor classifique sua falta de ar em uma escala entre zero a cinco, onde 0 significa estar sem falta de ar e 5 significa estar com muita falta de ar e sem fôlego ou muito ofegante para fazer a atividade.

Se a atividade for uma que você não realiza, por favor dê sua melhor estimativa de falta de ar.

Suas respostas devem ser referentes a qualquer dia da semana passada. Por favor responda todos os itens.

Veja os exemplos abaixo e então vire a página e comece o questionário.

0. sem falta de ar

1

2

3

4. Muita falta de ar

5. Muito (fortemente) sem fôlego ou muito ofegante para fazer a atividade.

Exemplo 1: Quanto de falta de ar você sente quando:

1. Escovando os dentes 0 1 2 **3** 4 5

Harry sentiu moderadamente falta de ar enquanto escovava os dentes na semana passada e circulou o número 3 para essa atividade.

Example 2: Quanto de falta de ar você sente quando:

2. Cortando o gramado 0 1 2 3 4 **5**

Anne nunca cortou o gramado antes, mas estima que ela teria se sentindo muito sem fôlego para fazer esta atividade durante a semana passada. Ela circula o cinco para esta atividade.

0 sem falta de ar

1

2

3

4. Muita falta de ar

5. Muito (fortemente) sem fôlego ou muito ofegante para fazer a atividade.

Quanto de falta de ar você sente quando:

1	Em repouso	0	1	2	3	4	5
2	Andando em um nível em seu próprio ritmo	0	1	2	3	4	5
3	Caminhando em um nível com outros da sua idade	0	1	2	3	4	5
4	Subindo uma rampa, ladeira	0	1	2	3	4	5
5	Subindo escadas	0	1	2	3	4	5
6	Enquanto come	0	1	2	3	4	5
7	Levantando de uma cadeira	0	1	2	3	4	5
8	Escovando os dentes	0	1	2	3	4	5
9	Barbeando e/ou lavando os cabelos	0	1	2	3	4	5
10	Tomando banho ou fazendo necessidades no banheiro	0	1	2	3	4	5
11	Vestindo-se	0	1	2	3	4	5
12	Levantar-se e endireitar-se	0	1	2	3	4	5
13	Lavar louças	0	1	2	3	4	5
14	Varrendo e aspirando	0	1	2	3	4	5
15	Arrumar a cama	0	1	2	3		5
16	Fazer compras	0	1	2	3	4	5
17	Lavar roupas	0	1	2	3	4	5
18	Lavar o carro	0	1	2	3	4	5
19	Cortar gramas	0	1	2	3	4	5
20	Regar o gramado (jardim)	0	1	2	3	4	5
21	Atividades sexuais Quanto sua falta de 1ar limita você realizar suas atividades de vida?	0	1	2	3	4	5
22	Falta de ar (dispneia)	0	1	2	3	4	5
23	Medo de "machucar a mim mesmo" por excesso de esforço	0	1	2	3	4	5
24	Medo ter falta de ar	0	1	2	3	4	5

Anexo 3 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos.

COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNICAMP -
CAMPUS CAMPINAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Segurança e tolerabilidade da inalação de bicarbonato de sódio em pacientes com fibrose cística.

Pesquisador: CARLA CRISTINA SOUZA GOMEZ

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 51819915.4.0000.5404

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.398.956

Apresentação do Projeto:

Estudo piloto que irá recrutar 10 pacientes com fibrose cística (FC). Trata-se de um estudo aberto, ("open-label") com escalonamento de doses, com foco na segurança e na tolerabilidade do bicarbonato de sódio em aerossol inalado.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

. Avaliar a segurança e a tolerabilidade da inalação com bicarbonato de sódio em pacientes com Fibrose Cística.

Objetivos Secundários:

1. Avaliar a função pulmonar antes e após a inalação com bicarbonato de sódio;
2. Avaliar a viscosidade, pH e microbiologia do escarro antes e após inalação com bicarbonato de sódio;
3. Avaliar o fluxo respiratório por meio de medidas do dispositivo peak flow antes, durante e após as inalações de bicarbonato de sódio;
4. Avaliar o desempenho físico e volume de oxigênio consumido por meio do teste Harvard de

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.083-887

UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.398.956

degrau nas visitas 1, 2, 3, 4 e 5;

5. Avaliar qualidade de vida por meio de dois questionários, antes, durante e após o tratamento de inalações com bicarbonato de sódio.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Para minimizar o desconforto causado pela inalação com bicarbonato, o teste será feito pelo médico pneumologista e será utilizado inicialmente dose mínima e auxílio de broncodilador para evitar possíveis broncoespasmos, o médico irá respeitar o nível de tolerância do participante. Caso a coleta dos dados desta pesquisa gere constrangimentos aos pacientes eles poderão se recusar a responder e/ou solicitar sair do grupo de estudo sem nenhum prejuízo ou consequência ao mesmo. Isso será informado na assinatura do termo de assentimento e reforçado para o paciente ao longo do estudo. Para evitar as infecções cruzadas os indivíduos realizarão as sessões individualmente, tomando as precauções universais de higiene, ou seja, lavar as mãos antes e após as sessões, limpar os equipamentos com álcool antes e após o uso e nos equipamentos que são levados a boca do paciente serão esterilizados com detergente enzimático. Durante todo o teste de degrau de Havard os pacientes serão monitorados e acompanhados pelo pesquisador e mais dois profissionais para auxiliar na observação do mesmo. Os pacientes serão orientados a relatarem qualquer queixa de desconforto durante a realização do teste e ao menor sinal ou alteração hemodinâmica o mesmo será suspenso e o paciente assistido nas suas necessidades pelos profissionais presentes médico orientador responsável pela pesquisa ou encaminhado a um serviço de urgência pelo HC/UNICAMP. Para minimizar os riscos da espirometria não ser confiável, há necessidade de: utilizar um equipamento de boa qualidade e devidamente calibrado antes de cada exame, dar orientação clara ao paciente antes e durante o exame quanto à posição e execução dos procedimentos para evitar o vazamento de ar pelo nariz. Certificar de que o indivíduo não fez uso de medicação broncodilatadora nas 24h que antecedem o horário do exame. Os exames serão realizados por profissionais experientes do laboratório de espirometria da UNICAMP seguindo as normas da American Thoracic Society (ATS) ou da British Thoracic Society (BTS), que estabelece que cada teste espirométrico.

. Não haverá benefícios diretos ao participante.

. Os benefícios oferecidos por esta pesquisa são aplicáveis à comunidade científica, por meio da publicação e divulgação dos resultados, tornando possível elucidar sobre os efeitos da inalação com o bicarbonato em pacientes com fibrose cística o que poderá favorecer novas orientações e

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.083-887

UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.398.956

opções para o tratamento melhorando assim o prognóstico.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Critérios de Inclusão:

- 1) Diagnóstico da FC baseado em sintomas clínicos e confirmação laboratorial de duas dosagens de cloro no suor acima de 60 mEq/L, ou duas mutações do gene CFTR.
- 2) Idade superior a 10 anos,
- 3) Capacidade de concluir todas as avaliações de segurança e eficácia,
- 4) Estabilidade clínica, sem qualquer alteração em terapias crônicas por 28 dias antes da visita 1.
- 5) Pacientes que fazem uso de antibiótico inalado ou oral, devem estar em regime contínuo, de modo estável a serem incluídos no estudo. De preferência os pacientes entrarão no estudo no dia 15±5 dias de uso de antibióticos inalatórios.

Critérios de exclusão.

- 1) Incapacidade de entender o consentimento informado, ou o assentimento informado, se menor de 18 anos.
- 2) Gravidez ou amamentação.
- 3) Uso concomitante de antibióticos oral, intravenosa, ou recém-prescritos antibióticos inalatórios no prazo de 28 dias de inscrição (Visita 1).

Uso profilático crônico de antibióticos, incluindo os antibióticos inalados, por mais de 28 dias, será permitida no estudo.

- 4) Condições médicas, psicológicas ou sociais que, na opinião do pesquisador não permita o paciente de concluir com segurança o estudo.
- 5) Incapacidade do sujeito a aderir às terapias e avaliações diárias, conforme descrito no protocolo.
- 6) Incapacidade do indivíduo para manter seu regime médico durante o período de estudo.
- 7) Participação em outro ensaio clínico terapêutico no prazo de 28 dias da visita de seleção.
- 8) Incapacidade de completar os critérios de segurança e eficácia do estudo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados:

- . Folha de rosto.
- . projeto detalhado.
- . Formulário de informações básicas do projeto.
- . TCLE destinado aos pais dos participantes menores de idade e TCLE para participantes maiores

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.083-887

UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.398.956

de idade.

Adicionalmente, pesquisadores anexaram um Termo de Assentimento para participantes maiores de 12 anos.

. Carta resposta a este CEP, em atendimento Às pendências emitidas em parecer anterior.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências foram satisfatoriamente atendidas.

Projeto atende aos preceitos da Res. CNS 466-2012 e sistema CEP-CONEP.

Considerações Finais a critério do CEP:

- O sujeito de pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado.

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado.

- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.

- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.083-887

UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.398.956

projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.

- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

-Lembramos que segundo a Resolução 466/2012 , item XI.2 letra e, “cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento”.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_622786.pdf	11/01/2016 15:40:15		Aceito
Outros	Carta_resposta.pdf	11/01/2016 15:39:39	CARLA CRISTINA SOUZA GOMEZ	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE_assentimento_corrigido.pdf	11/01/2016 15:35:42	CARLA CRISTINA SOUZA GOMEZ	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_maiores_de_18_anos_corrigido.pdf	11/01/2016 15:35:19	CARLA CRISTINA SOUZA GOMEZ	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_PAIS_corrigido.pdf	11/01/2016 15:35:05	CARLA CRISTINA SOUZA GOMEZ	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_cep.pdf	11/12/2015 13:33:36	CARLA CRISTINA SOUZA GOMEZ	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	CARLA_Bicarbonato_CEP_10122015.pdf	10/12/2015 22:19:23	CARLA CRISTINA SOUZA GOMEZ	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.083-887

UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNICAMP -
CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.398.956

CAMPINAS, 01 de Fevereiro de 2016

Assinado por:
Renata Maria dos Santos Celeghini
(Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.083-887

UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br