
UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA REABILITAÇÃO

**CARACTERIZAÇÃO DOS PEPTÍDEOS INDICADORES DE DEGRADAÇÃO
DO COLÁGENO, *N-acetyl*-PGP e PGP, NA SALIVA E URINA DE
PACIENTES COM DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA**

SARA FERNANDA ALBUQUERQUE RODRIGUES

São Paulo, SP
2010

SARA FERNANDA ALBUQUERQUE RODRIGUES

**CARACTERIZAÇÃO DOS PEPTÍDEOS INDICADORES DE DEGRADAÇÃO
DO COLÁGENO, *N-acetyl*-PGP e PGP, NA SALIVA E URINA DE
PACIENTES COM DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA**

Dissertação apresentada à
Universidade Nove de Julho, para
obtenção do título de Mestre em
Ciências da Reabilitação.

Orientador: Prof. Dr. Carlos A. Silva.

São Paulo, SP

2010

FICHA CATALOGRAFICA

Rodrigues, Sara Fernanda Albuquerque.

Caracterização dos peptídeos indicadores de degradação do colágeno, *N-acetyl*-PGP e PGP, na saliva e urina de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica./ Sara Fernanda Albuquerque Rodrigues. 2010.

69 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Nove de Julho – UNINOVE - Ciências da Reabilitação, São Paulo, 2010.

Orientador (a): Prof. Dr. Carlos Alberto Silva.

1. DPOC. 2. *N-acetyl*-PGP. 3. Saliva. 4. Urina.

CDU 615.8

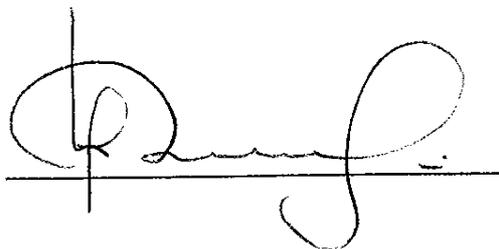
São Paulo, 10 de janeiro de 2011.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluna: SARA FERNANDA ALBUQUERQUE RODRIGUES

Título da Dissertação: "CARCTERIZAÇÃO DOS PEPTÍDEOS INDICADORES DE DEGRADAÇÃO DO COLÁGENO, N-acetyl-PGP E PGP, NA SALIVA E URINA DE PACIENTES COM DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA".

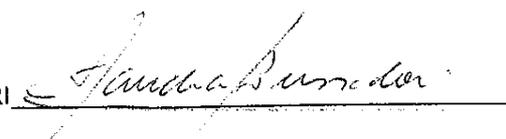
Presidente PROF. DR. CARLOS ALBERTO DA SILVA



Membro: PROFA. DRA. MARICÍLIA SILVA COSTA



Membro: PROFA. DRA. SANDRA KALIL BUSSADORI



DEDICATÓRIA

À minha família, que buscou sempre estar ao meu lado, incentivando, acreditando e respeitando minhas decisões em busca do novo e dos meus sonhos, mesmo que tudo isso implicasse estar longe deles.

À Luciana Veloso, amiga e companheira de todos os dias, pelo incentivo e encorajamento do início ao fim de toda essa trajetória. Sempre presente em qualquer situação, com sua paciência, atenção, carinho e amor. Obrigada por fazer parte da minha vida.

AGRADECIMENTOS

À fisioterapeuta Ms Aleksandra Santos e educadora física Regina Marinho que por abrirem novos caminhos em projetos iniciais, possibilitaram o desenvolvimento do presente estudo. Obrigada pela imensa contribuição científica para início e concretização deste trabalho.

Pela colaboração das professoras Dra Simone Dal Corso e Dra Carla Malaguti, da Universidade Nove de Julho (Uninove) e a Dra Fernanda C. V. Portaro, bioquímica do Instituto Butantan que contribuíram com seus conhecimentos e esforços para o desenvolvimento desta pesquisa.

À Uninove por possibilitar um aprendizado de qualidade e excelência, com um corpo docente de alta qualificação. Além do apoio de uma equipe técnica sensacional, presente e atenciosa em todos os momentos.

Pelo esforço, auxílio e disponibilidade da estudante de biomedicina Daniele Yuri Ishihara da Uninove, na busca de mais conhecimento buscou estar presente na execução de toda a pesquisa.

À Universidade Federal do AFBC e ao Instituto Butantan que disponibilizaram seu espaço, equipamento e apoio profissional para a realização deste trabalho, a partir de toda a análise das amostras estudadas.

Em ESPECIAL, ao meu orientador Prof. Dr. Carlos A. Silva pela credibilidade depositada em mim, dividindo parte do seu vasto conhecimento neste curto período de dois anos, abriu meus olhos para o mundo científico e da pesquisa. Obrigada pela paciência, compreensão e apoio, além de mostrar-me caminhos antes desconhecidos, me fez acreditar na capacidade do ser humano em superar dificuldades e conquistar novos objetivos.

SUMÁRIO

Dedicatória.....	<i>iii</i>
Agradecimentos.....	<i>iv</i>
Sumário.....	<i>vi</i>
Resumo.....	<i>vii</i>
Abstract.....	<i>viii</i>
Lista de Figuras.....	<i>ix</i>
Lista de Tabelas.....	<i>x</i>
Lista de Abreviaturas e Símbolos.....	<i>xi</i>
1. CONTEXTUALIZAÇÃO.....	13
1.1 - Introdução.....	14
1.2 - Avaliação Clínica na DPOC.....	15
1.3 - Enzimas proteolíticas e DPOC.....	17
1.4 - <i>N-acetyl</i> -PGP e PGP.....	19
2. ESTUDO.....	22
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
5. ANEXOS.....	52
- ANEXO A – Formulários de Avaliação Clínica.....	53
- ANEXO B – Questionário de atividade física Basal de Baecke.....	55
6. APÊNDICES.....	58
- APÊNDICE A – Parecer do CoEP.....	59
- APÊNDICE B – Certificados de Aprovação – CoEP.....	62
- APÊNDICE C – Termo de consentimento para participação em pesquisa clínica.....	63
- APÊNDICE D – Artigo I.....	65

RESUMO

Introdução: A doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) é caracterizada pela limitação crônica do fluxo aéreo associado a uma resposta inflamatória anormal dos pulmões a partículas ou gases nocivos. A DPOC está associada à intensa degradação dos componentes da matriz extracelular (MEC), como as fibras colágenas e elásticas, pelo desequilíbrio enzimático no parênquima pulmonar. Há relatos de que a hidrólise de colágeno produz peptídeos biologicamente ativos (*N-acetyl*-PGP e PGP) que induzem quimiotaxia de neutrófilos pela via de interação com os receptores CXCR1 e CXCR2 no lavado broncoalveolar e sangue de pacientes com DPOC. **Objetivos:** Analisar a presença dos peptídeos *N-acetyl*-PGP e PGP, como indicadores específicos da degradação do colágeno, na urina e saliva de pacientes com DPOC em comparação ao grupo de indivíduos saudáveis. **Métodos:** A amostra foi composta por 25 voluntários, agrupados em pacientes com DPOC (n=16) e indivíduos saudáveis (n=9). Após a triagem inicial, todos realizaram o teste espirométrico, TC6'e posterior a coleta de urina e saliva. A análise qualitativa e comparativa do *N-acetyl*-PGP e PGP na urina e saliva de cada indivíduo foram realizadas por sinais de massa obtidas por espectrometria de massas (MALDI-TOF/LC-MS/MS). **Resultados:** Os peptídeos de degradação do colágeno, *N-acetyl*-PGP e PGP, foram identificados nas amostras de urina de 81,2% e 68,7% dos pacientes com DPOC, respectivamente. Entretanto, verificou-se a presença de *N-acetyl*-PGP em 11,1% nas amostras de urina do grupo controle, mas ausência de PGP. Nas amostras da fração peptídica da saliva de ambos os grupos não foram identificados o *N-acetyl*-PGP e o PGP. **Conclusão:** As presenças de *N-acetyl*-PGP e PGP na urina de pacientes com DPOC contribuem com a hipótese de que existem outros produtos de degradação dos componentes da MEC, ainda não caracterizados, provavelmente, específicos da DPOC e que poderiam auxiliar ou complementar o diagnóstico da doença.

Descritores: DPOC; Peptídeo; Saliva; Urina

ABSTRACT

Introduction: The Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) is characterized by a chronic limitation of the airflow and an abnormal inflammatory lung response to particles or harmful gases. The COPD is associated with an intense degradation of the extracellular matrix components (ECM) such as the Collagen fibers and Elastin, caused by the imbalance of enzymes in the parenchymal pulmonary. Reports show that the Collagen Hydrolysis produce peptides that are biologically actives (*N-acetyl*-PGP and PGP) that induces the neutrophil chemo-taxes through the interaction among the receptors CXCR1 and CXCR2 in the bronchoalveolar lavage fluid, and in the blood of the patients with COPD. **Objective:** To analyze the presence of the *N-acetyl*-PGP and PGP peptides as specific indicators of the collagen degradation on the patients with COPD versus the healthy individuals. **Methods:** The Experiment was done with 25 individuals, grouped under patients with COPD (n=16) and healthy individuals (n=9). After the initial procedures for this experiment, all participants were submitted to the Spectrometric Test. The six-minute walking test is followed by urine and saliva gathering. The qualitative and comparative analysis of the *N-acetyl*-PGP and PGP in the saliva and urine of the participants on the experiment was made by the signals founded on the mass obtained by the MALDI-TOF/LC-MS/MS. **Results:** The degradation of the peptides of the collagen, *N-acetyl*-PGP and PGP, were identified on the samples of urine, 81.2% and 68.7% of the patients with COPD, respectively. Therefore, on the control group, the presence of 11.1% of *N-acetyl*-PGP and the absence of PGP were identified in the urine of the participants. In the samples of the peptide fractions of the saliva of both groups, the *N-acetyl*-PGP and PGP were not identified. **Conclusion:** The presence of *N-acetyl*-PGP and PGP in the urine of patients with COPD support the hypothesis of the existence of other products of degradation of the components of the ECM yet not identified. Probably only founded in patients with COPD that would help to add information on the diagnostic for the COPD. **Key words:** COPD; Peptide; Saliva; Urine.

LISTA DE FIGURAS

Contextualização

Figura 1. Efeito da fumaça do cigarro no processo inflamatório nos pulmões.....15

Figura 2. Migração de Neutrófilos. Ação das células inflamatórias na alteração estrutural causada pela DPOC [17].....18

Estudo

Figura 1. Espectro de massa dos sinais de massas obtidos na amostra na fração peptídica da urina do grupo controle (FPU-C).....40

Figura 2. Espectro de massa dos sinais de massas obtidos na amostra na fração peptídica da urina do grupo de DPOC (FPU-DPOC).....40

Figura 3. Sobreposição dos espectros de massa com análise comparativa dos sinais de massas obtidos nas amostras na fração peptídica da urina do grupo controle (FPU-C) e do grupo DPOC (FPU-DPOC).....41

LISTA DE TABELAS

Contextualização

Tabela 1. Critérios espirométricos para gravidade da DPOC [1].....17

Estudo

Tabela 1. Características dos pacientes com DPOC e do grupo controle. Dados expressos como média e desvio padrão (DP), exceto quando não foi possível.....42

Tabela 2. Avaliação clínica dos pacientes com DPOC e do grupo controle. Dados expressos com média e desvio padrão (DP), exceto quando não foi possível. As análises estatísticas foram com base no Teste t não pareado.....43

Tabela 3. Análise qualitativa dos sinais de massa. Frequência de distribuição dos produtos de hidrólise do colágeno nas amostras na fração peptídica da saliva e urina do grupo controle e do grupo DPOC.....44

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

DPOC – Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

TC6' – Teste de caminhada 6 minutos

PGP – Prolina-Glicina-Prolina

VEF₁ – Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo

CVF - Capacidade Vital Forçada

VEF₁/ CVF - Relação do volume expiratório forçado no primeiro segundo pela capacidade vital forçada

TD – Teste do Degrau

MMPs – Metaloproteinases de matriz extracelular

MEC – Matriz Extra Celular

EFs – Fragmentos de Elastina

LPS – Lipopolissacarídeo

IL-8 – Interleucina 8

FEF – Fluxo Expiratório Forçado

ATS – American Thoracic Society

% - Percentual

g – Grama

ml – Mililitro

µL - Microlitros

°C – Grau Celcius

H₂O – Água

CEM – Central de Multiusuários

KV – Kilovolt

V – Volt

DP – Desvio Padrão

FPU-C – Fração peptídica da urina do grupo controle

FPS-C – Fração peptídica da saliva do grupo controle

FPU-DPOC – Fração peptídica da urina de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica.

FPS-DPOC – Fração peptídica da saliva de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica.

COEP – Comitê de Ética em Pesquisa

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

1.1. Introdução

A Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) é a quarta principal causa de morbidade e mortalidade no mundo e com projeção de estar em terceiro lugar nas próximas décadas. A DPOC é caracterizada pela limitação crônica do fluxo aéreo, não totalmente reversível, geralmente progressiva e associada a uma resposta inflamatória anormal dos pulmões a partículas ou gases nocivos [1].

O tabagismo ou exposição contínua a fumaça de cigarro é considerado o fator de risco mais comum para DPOC. Entretanto, fatores genéticos, estresse oxidativo, infecções respiratórias, alterações nutricionais, estado sócio econômico, também são considerados para o desencadeamento da doença [1].

Um dos principais sintomas dos pacientes com DPOC é a sensação de dispnéia. O surgimento deste sintoma está ligado à interação de fatores fisiopatológicos, que levam ao desequilíbrio entre a capacidade dos músculos respiratórios e o aumento da carga mecânica imposta à respiração [2]. Alguns efeitos extra-pulmonares significantes e co-morbidades importantes podem contribuir para o agravamento em alguns pacientes [3]. Alterações nutricionais, anorexia e disfunção do músculo esquelético, são comuns nesses pacientes, sendo considerados efeitos sistêmicos da DPOC.

A DPOC tem sido caracterizada como doença inflamatória associada à intensa degradação dos componentes da matriz extracelular (MEC) e fibrose tecidual [4,5]. A resposta inflamatória do pulmão é observada pelo recrutamento de células, como linfócitos, macrófagos e neutrófilos, liberando substâncias oxidativas, antioxidativas e mediadores imunológicos, interferindo na função e estrutura das vias aéreas e parênquima pulmonar, provocando o remodelamento do parênquima e das vias aéreas (Figura 1).

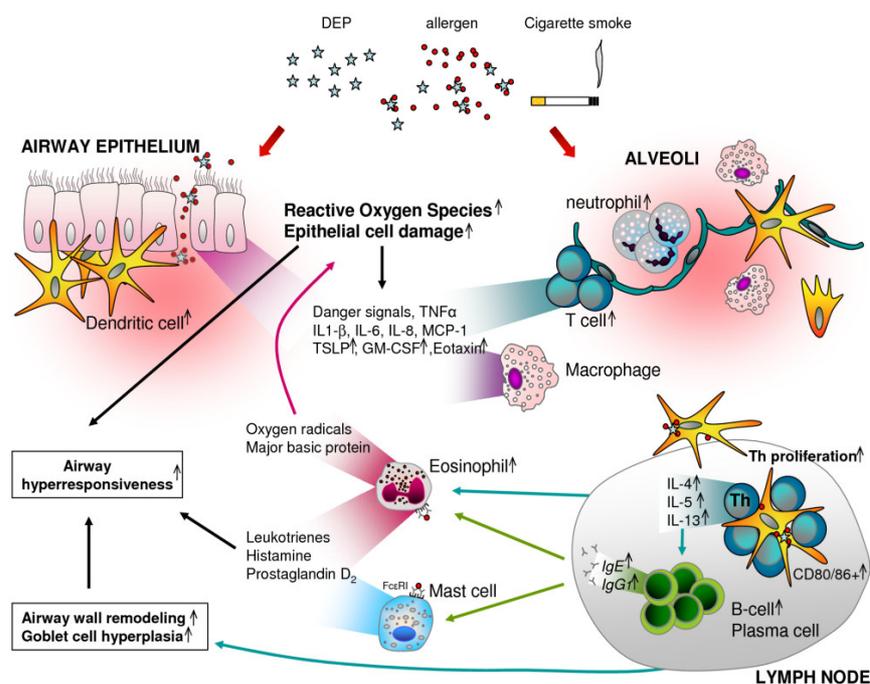


Figura 1. Efeito da fumaça do cigarro no processo inflamatório dos pulmões.

1.2. Avaliação clínica na DPOC

O diagnóstico e intervenções precoces para esta doença é de extrema relevância, pois podem ajudar a identificar o número de indivíduos que evoluem a um estágio clínico significativo da doença. É imprescindível a associação de sintomas e fatores de risco à espirometria para o diagnóstico da DPOC. Entretanto, não há evidências suficientes no momento para se recomendar testes espirométricos na comunidade para rastreamento da DPOC [1].

A Espirometria nos fornece dados da relação entre volume expiratório forçado no primeiro segundo e capacidade vital forçada (VEF_1/CVF) dos pulmões, quando este é inferior a 70% é confirmado o diagnóstico de DPOC, porém os valores obtidos devem ser comparados a valores previstos adequados para a população avaliada. A capacidade vital forçada (CVF) é o volume eliminado em manobra expiratória forçada desde a capacidade pulmonar total até o volume residual de ar que permanece nos pulmões. A quantidade de ar eliminada no primeiro segundo da manobra expiratória forçada é o volume expiratório forçado

no primeiro segundo (VEF_1) [6]. Baseado no VEF_1 , a espirometria permite classificar o grau de obstrução ao fluxo aéreo pulmonar e assim a gravidade da DPOC (Tabela 1) [1].

Uma vez que pacientes com DPOC tem manifestações sistêmicas que não são refletidas pelo VEF_1 , deve ser realizados testes de avaliação à intolerância ao exercício. A realização de testes de exercício é necessária para que auxiliem nos determinantes da incapacidade física deste paciente.

O teste da caminhada de seis minutos (TC6') contribui para quantificar a taxa de trabalho cardiopulmonar. A principal razão para uso deste teste é a mensuração da capacidade funcional mais proximamente relacionada com as atividades que são realizadas no dia-a-dia do paciente [7,8]. Andar é uma atividade realizada diariamente por todos, até mesmo pelos doentes com maior comprometimento respiratório. O TC6' é um teste simples e prático, não exige nenhum equipamento ou treinamento avançado. Sua realização consiste na medida da distância percorrida pelo paciente, de maneira rápida, em um ambiente plano, no intervalo de 6 minutos. O teste avalia as respostas globais e integradas de todos os sistemas envolvidos durante o exercício: pulmonar, cardiovascular, unidades neuromusculares e metabolismo muscular. Para a maioria dos pacientes, o teste da caminhada de 6 minutos corresponde a um nível de capacidade submáximo de esforço, sendo que a maioria dos pacientes não atinge a capacidade máxima de exercício durante o teste e acaba por escolher sua própria intensidade ao exercício. Durante o teste é permitido interromper para descanso, frente a sintomas intolerantes [9].

Tabela 1. Critérios espirométricos para gravidade da DPOC [1].

I: DPOC Leve	VEF ₁ /CVF < 0,7 VEF ₁ ≥ 80% do previsto	Neste estágio o paciente pode não estar consciente que sua função pulmonar está anormal
II: DPOC Moderada	VEF ₁ /CVF < 0,7 50% ≤ VEF ₁ < 80% do previsto	Sintomas progridem neste estágio, com falta de ar tipicamente aparecendo aos esforços.
III: DPOC Grave	VEF ₁ /CVF < 0,7 30% ≤ VEF ₁ < 50% do previsto	Falta de ar tipicamente piora neste estágio e freqüentemente limita as atividades diárias do paciente. Neste estágio começam a aparecer as exacerbações
IV: DPOC Muito Grave	VEF ₁ /CVF < 0,7 VEF ₁ < 30% do previsto ou VEF ₁ < 50% do previsto mais insuficiência respiratória Crônica	Neste estágio, a qualidade de vida está apreciavelmente alterada e as exacerbações podem levar a risco de vida.

A partir da análise do comprometimento da capacidade pulmonar e suas implicações na DPOC, observam-se a exploração de novos estudos para a fisiopatogênese destas disfunções, permitindo a mudança do enfoque quase exclusivamente relacionado à função pulmonar para o estudo celular e bioquímico da doença [10].

1.3. Enzimas proteolíticas e DPOC

Várias evidências sugerem que as enzimas proteolíticas contribuem para a progressão da DPOC, exacerbando a migração de células inflamatórias no pulmão, a remodelagem e destruição do tecido pulmonar [11]. Um grupo de enzimas responsáveis pela degradação de componentes da matriz extracelular (MEC) durante a remodelagem do tecido pulmonar são as metaloproteinases de matriz (MMPs), também conhecidas como matrixinas [12].

As MMPs degradam componentes protéicos da MEC produzindo moléculas peptídicas biologicamente ativas que participam do processo

inflamatório envolvido na DPOC [13,14]. Em alguns casos, como na infecção ou pelo uso do tabaco, os neutrófilos migram de forma exacerbada para os pulmões. Estes irão atuar nos sítios específicos de sua interação enzimática, ou seja, degradando os componentes protéicos da MEC como substratos, liberando enzimas para preservar o tecido pulmonar (Figura 2) [15,16].

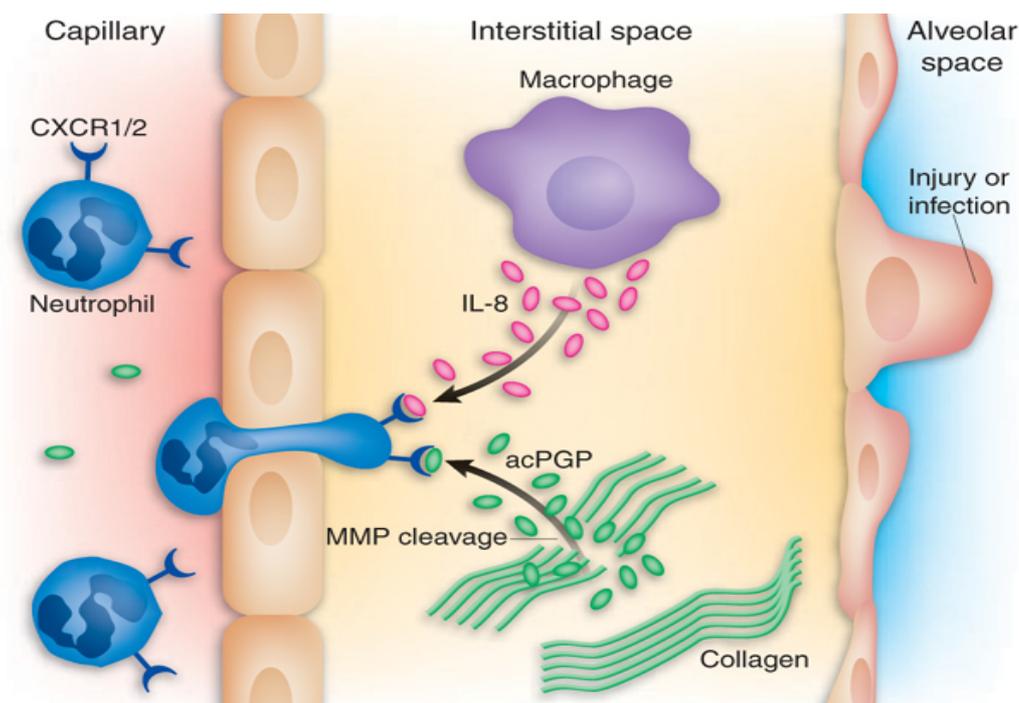


Figura 2. Migração de Neutrófilos. Ação das células inflamatórias na alteração estrutural causada pela DPOC [17].

Outros grupos de enzimas proteolíticas, além das metaloproteinases, são descritos na patogênese da DPOC, como as cisteíno-proteinases (catepsinas) e serino-proteinases (elastases) [18,19]. O papel das catepsinas na DPOC ainda não é totalmente esclarecido, entretanto, tem se detectado o aumento dos níveis de expressão da catepsina L em lavado broncoalveolar de pacientes portadores de DPOC [15] e macrófagos alveolares de fumantes [16]. Da mesma forma, os níveis de expressão da elastase de neutrófilo (elastase-2) também são maiores em DPOC [20].

A degradação das estruturas do tecido pulmonar está relacionada à hidrólise de fibras colágenas e elásticas presentes na matriz extracelular em

pacientes com DPOC [21,22]. Os níveis de degradação da elastina (fragmentos de elastina, EFs) e colágeno (hidroxiprolina) têm sido utilizados como marcador biológico, para acompanhar a progressão da DPOC [23,24]. A dosagem de hidroxiprolina em fluidos ou em tecidos biológicos já é amplamente utilizada para avaliar os níveis de degradação do colágeno em análises experimentais [25,26] ou em análises clínicas nas amostras de pacientes [27]. Porém, há relatos que essa metodologia não é tão sensível e precisa para avaliar a degradação do colágeno em pacientes com DPOC [27].

1.4. *N*-acetyl-PGP e PGP, produtos de degradação do colágeno

Estudos recentes vêm demonstrando que durante o processo inflamatório no pulmão, a degradação dos componentes da MEC, promove a liberação de peptídeos quimiotáticos que atuam sobre macrófagos e neutrófilos [28]. Weathington et al. [13] caracterizaram um peptídeo biologicamente ativo, com seqüência de aminoácidos *N*-acetyl Pro-Gly-Pro (PGP), derivado da hidrólise do colágeno em pacientes com DPOC, que induz quimiotaxia de neutrófilos pela via de interação com os receptores CXCR1 e CXCR2 (Figura 2). Da mesma forma, Houghton et al. [28] demonstraram, em um estudo análogo, que os fragmentos de elastina (EFs), resultante da degradação da elastina dependente da MMP-12, são quimiotáticos para monócitos e macrófagos. Dessa forma, o aumento da degradação do colágeno e elastina promove o aumento da liberação de PGP e EFs que estariam relacionados ao mecanismo de exacerbação na DPOC.

O *N*-acetyl-Pro-Gli-Pro (PGP) é um tripeptídeo derivado da degradação da MEC durante a inflamação das vias aéreas. Dados da literatura descrevem esse tripeptídeo como um importante ligante do receptor CXC de neutrófilos, *in vitro*, promovendo quimiotaxia e produção de superóxido, sendo que essa quimiotaxia parece estar relacionada à homologia estrutural do PGP com domínio alfa de quimiocinas [13, 29]. O PGP foi inicialmente descrito em pulmão do rato, após exposição ao lipopolissacarídeo (LPS) *in vivo* e *in vitro* [30]. Ainda, o Weathington et al.[13] demonstraram que a administração desse

peptídeo causa recrutamento de neutrófilos em pulmões de camundongos se comparado a administração de outro tripeptídeo, o PGG. Adicionalmente, o PGP foi detectado em concentrações significativas na maioria das amostras de lavado broncoalveolar de indivíduos com doença pulmonar obstrutiva crônica, mas não em indivíduos controles.

A atividade do PGP produzido pela degradação da matriz extracelular promove recrutamento de neutrófilos e posteriormente de macrófagos durante a inflamação das vias aéreas, e ainda o PGP parece ser um potencial biomarcador e alvo terapêutico para doenças inflamatórias neutrofílicas, no entanto os mecanismos que induzem essa quimiotaxia não são ainda descritos [31,13]. Em 2009, O'Reilly et al. [32] demonstraram que o N-acetyl-PGP e PGP, identificados no escarro de pacientes com DPOC, podem ser considerados possíveis biomarcadores da doença e que a geração de PGP podem ser a base para novas pesquisas direcionadas para terapêutica da DPOC neutrofílica e inflamações respiratórias.

As evidências de que os produtos de degradação da MEC do tecido pulmonar são encontrados no líquido bronco-alveolar e na corrente sanguínea de pacientes com DPOC, abrem possibilidades de estudo para a caracterização de peptídeos na saliva e urina, pois os procedimentos de coleta não-invasores apresentam vantagens em relação a outros fluidos biológicos, como por exemplo, soro ou plasma [33,34] e, tem sido foco de estudo do nosso grupo de pesquisa em bases celulares e moleculares das disfunções de órgão e sistemas do Programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação da Universidade Nove de Julho.

Em recente trabalho, Santos [35] demonstrou que o aumento dos níveis de expressão da MMP-2 na saliva está relacionado com o grau de obstrução aérea em pacientes com DPOC. Marinho et al. [26] demonstraram que as concentrações dos níveis de hidroxiprolina na urina de pacientes com DPOC não tem diferença significativa quando comparadas com indivíduos saudáveis, entretanto observou que a concentração dos fragmentos de elastina em pacientes com DPOC é significativa e que se correlacionam negativamente com o parâmetro VEF₁. Estes estudos abriram perspectivas para utilização não só da saliva, como também da urina, como fonte de material biológico para

análise em novas pesquisas, em busca de peptídicos específicos da DPOC e foi o principal alvo de estudo no presente projeto.

Nos últimos anos, o estudo de marcadores biológicos, específicos da DPOC, proteico ou peptídeos, que representam a avaliação de pacientes com DPOC tornaram-se foco de pesquisa de grandes centros de estudo, em busca de estratégias alternativas de avaliação da efetividade dos programas de reabilitação pulmonar, estabelecendo seus níveis quantitativos antes e após a intervenção terapêutica em pacientes com DPOC [33]. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo analisar a presença dos peptídeos *N-acetyl*-PGP e PGP, como indicadores específicos da degradação do colágeno, na urina e saliva de pacientes com DPOC em comparação ao grupo de indivíduos saudáveis.



2. ESTUDO

CARACTERIZAÇÃO DOS INDICADORES DE DEGRADAÇÃO DO COLÁGENO (*N-acetyl*-PGP e PGP) NA SALIVA E URINA DE PACIENTES COM DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA.

Title: Characterization of indicators of collagen degradation (*N-acetyl*-PGP and PGP) in saliva and urine of patients with chronic obstructive pulmonary disease

Título condensado: Marcadores de degradação do tecido pulmonar na urina e saliva em DPOC

Sara Fernanda Albuquerque Rodrigues¹; Alecsandra Aparecida dos Santos², Carla Malaguti³; Simone Dal Corso³ e Carlos Alberto da Silva^{4*}.

1. Enfermeira e aluna do programa de mestrado em Ciências da Reabilitação. Universidade Nove de Julho; São Paulo, SP;
2. Fisioterapeuta e mestre em Ciências da Reabilitação, Universidade Nove de Julho, São Paulo Brasil;
3. Professora doutora, Laboratório de Fisiologia do Exercício, Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brasil;
4. Professor doutor, Centro de Ciências Naturais e Humanas da Universidade federal do ABC (CCNH/UFABC), Santo André, SP, Brasil; Professor colaborador do programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação, Uninove, São Paulo, SP, Brasil.

Endereço para correspondência:

*Universidade Federal do ABC – UFABC; Centro de Ciências Naturais e Humanas (CCNH); Rua Santa Adélia, 166, Bairro Bangu - Santo André - SP 09210-170
(11) 4996-0150/4996-0149 (Secretaria)

O estudo foi desenvolvido após aprovação do comitê de ética da instituição (protocolo número 209812/08).

RESUMO

Introdução: A doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) é caracterizada pela limitação crônica do fluxo aéreo associado a uma resposta inflamatória anormal dos pulmões a partículas ou gases nocivos. A DPOC está associada à intensa degradação dos componentes da matriz extracelular (MEC), como as fibras colágenas e elásticas, pelo desequilíbrio enzimático no parênquima pulmonar. Há relatos de que a hidrólise de colágeno produz peptídeos biologicamente ativos (*N-acetyl*-PGP e PGP) que induzem quimiotaxia de neutrófilos pela via de interação com os receptores CXCR1 e CXCR2 no lavado bronco-alveolar e sangue de pacientes com DPOC. **Objetivos:** Analisar a presença dos peptídeos *N-acetyl*-PGP e PGP, como indicadores específicos da degradação do colágeno, na urina e saliva de pacientes com DPOC em comparação ao grupo de indivíduos saudáveis. **Métodos:** A amostra foi composta por 25 voluntários, agrupados em pacientes com DPOC (n=16) e indivíduos saudáveis (n=9). Após a triagem inicial, todos realizaram o teste espirométrico, TC6 e posterior a coleta de urina e saliva. As análises qualitativa e comparativa do *N-acetyl*-PGP e PGP na urina e saliva de cada indivíduo foram realizadas por sinais de massa obtidas por MALDI-TOF/LC-MS/MS. **Resultados:** Os peptídeos de degradação do colágeno, *N-acetyl*-PGP e PGP, foram identificados nas amostras de urina de 81,2% e 68,7% dos pacientes com DPOC, respectivamente. Entretanto, verificou-se a presença de *N-acetyl*-PGP em 11,1% nas amostras de urina do grupo controle, mas ausência de PGP. Nas amostras da fração peptídica da saliva de ambos os grupos não foram identificados o *N-acetyl*-PGP e o PGP. **Conclusão:** As presenças de *N-acetyl*-PGP e PGP na urina de pacientes com DPOC contribuem com a hipótese de que existem outros produtos de degradação dos componentes da MEC, ainda não caracterizados, provavelmente, específicos da DPOC e que poderiam auxiliar ou complementar o diagnóstico da doença.

Descritores: DPOC, peptídeo, saliva, urina.

ABSTRACT

Introduction: The Chronic Obstructive Pulmonary Disease(COPD) is characterized by a chronic limitation of the airflow and an abnormal inflammatory lung response to particles or harmful gases. The COPD is associated with an intense degradation of the extracellular matrix components (ECM) such as the Collagen fibers and Elastin, caused by the imbalance of enzymes in the parenchymal pulmonary. Reports show that the Collagen Hydrolysis produce peptides that are biologically actives (*N-acetyl*-PGP and PGP) that induces the neutrophil chemo-taxes through the interaction among the receptors CXCR1 and CXCR2 in the bronchoalveolar lavage fluid, and in the blood of the patients with COPD. **Objective:** To analyze the presence of the *N-acetyl*-PGP and PGP peptides as specific indicators of the collagen degradation on the patients with COPD versus the healthy individuals. **Methods:** The Experiment was done with 25 individuals, grouped under patients with COPD(n=16) and healthy individuals(n=9). After the initial procedures for this experiment, all participants were submitted to the Spectrometric Test. The six-minute walking test is followed by a urine and saliva gathering. The qualitative and comparative analysis of the *N-acetyl*-PGP and PGP in the saliva and urine of the participants on the experiment was made by the signals founded on the mass obtained by MALDI-TOF/LC-MS/MS. **Results:** The degradation of the peptides of the collagen, *N-acetyl*-PGP and PGP, were identified on the samples of urine, 81.2% and 68.7% of the patients with COPD, respectively. Therefore, on the Control Group, the presence of 11.1% of *N-acetyl*-PGP and the absence of PGP were identified in the urine of the participants. In the samples of the peptide fractions of the saliva of both groups, the *N-acetyl*-PGP and PGP were not identified. **Conclusion:** The presence of *N-acetyl*-PGP and PGP in the urine of patients with COPD support the hypothesis of the existence of other products of degradation of the components of the ECM yet not identified. Altogether, these data open new perspectives to study new COPD biomarkers in urine, specific indicators of the ECM degradation on the patients with COPD.

Key words: COPD; peptide, saliva, urine.

1. INTRODUÇÃO

A DPOC é caracterizada pela limitação crônica do fluxo aéreo, não totalmente reversível, geralmente progressiva e associada a uma resposta inflamatória anormal dos pulmões a partículas ou gases nocivos. Um dos principais sintomas dos pacientes com DPOC é a sensação de dispnéia. Alguns efeitos sistêmicos são bem reconhecidos, alterações nutricionais, anorexia e disfunção do músculo esquelético, são comuns nesses pacientes. [1,2]. É imprescindível a associação de sintomas e fatores de risco à espirometria para o diagnóstico da DPOC [1]. Nesse teste, a gravidade da DPOC é classificada com base na relação entre volume expiratório forçado no primeiro segundo e capacidade vital forçada (VEF_1/CVF) dos pulmões inferior a 70% [5]. O paciente com DPOC, além da limitação do fluxo aéreo, apresenta comprometimento da capacidade funcional, devido o caráter sistêmico da doença. A realização de testes de exercício é necessária para que auxiliem nos determinantes da incapacidade física deste paciente, como o teste da caminhada de seis minutos (TC6'). Esse teste contribui para quantificar a taxa de trabalho cardiopulmonar e a principal razão para uso deste teste é que mensurará a capacidade funcional mais proximamente relacionada com as atividades que são realizadas no dia-a-dia do paciente [6,7].

A resposta inflamatória do pulmão causada por substâncias tóxicas, principalmente relacionadas ao cigarro, é caracterizada pelo recrutamento de células, como linfócitos, macrófagos e neutrófilos, liberando substâncias oxidativas, antioxidativas e mediadores imunológicos, interferindo na função e estrutura das vias aéreas e parênquima pulmonar [3,4].

Caracterizada como doença inflamatória, a DPOC está associada à intensa degradação dos componentes da matriz extracelular (MEC) e fibrose tecidual [3,4] pela ação pelo desequilíbrio enzimático no parênquima pulmonar. Várias evidências sugerem que estas enzimas contribuem significativamente para a progressão da DPOC, exacerbando a migração de células inflamatórias no pulmão, a remodelagem e destruição do tecido pulmonar [8] por hidrólise de fibras colágenas e elásticas presentes na matriz extracelular em pacientes com DPOC [9,10]. Os níveis de degradação da elastina (fragmentos de elastina, EFs) e colágeno (hidroxiprolina) têm sido utilizados como marcadores biológicos para acompanhar a progressão da DPOC [11,12] em análises experimentais [13] ou em análises clínicas nas amostras de pacientes [14].

Alguns estudos vêm demonstrando que durante o processo inflamatório no pulmão, a degradação dos componentes da MEC, promove a liberação de peptídeos quimiotáticos que atuam sobre macrófagos e neutrófilos [15]. Weathington et al. [16] caracterizaram um peptídeo biologicamente ativo, com seqüência de aminoácidos *N-acetyl Pro-Gly-Pro* (PGP), derivado da hidrólise do colágeno em pacientes com DPOC, que induz quimiotaxia de neutrófilos pela via de interação com os receptores CXCR1 e CXCR2. Da mesma forma, Houghton et al. [15] demonstraram, em um estudo análogo, que os fragmentos de elastina (EFs), resultante da degradação da elastina dependente da MMP-12, são quimiotáticos para monócitos e macrófagos. Com isso, o aumento da degradação do colágeno e elastina promove o aumento da liberação de PGP e EFs que estariam relacionados ao mecanismo de exacerbação na DPOC. Em 2009, O'Reilly et al. [17] demonstraram que o *N-acetyl-PGP* e PGP identificados no escarro de pacientes com DPOC podem ser considerados possíveis biomarcadores da doença e que a geração de PGP poderia ser a base para novas pesquisas direcionadas para terapêutica da DPOC neutrofilica e inflamações respiratórias. Sendo assim, o presente estudo teve o objetivo

de analisar a presença dos peptídeos *N-acetyl*-PGP e PGP, como indicadores específicos da degradação do colágeno, na urina e saliva de pacientes com DPOC em comparação ao grupo de indivíduos saudáveis.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Universidade Nove de Julho – UNINOVE, apreciado e liberado pelo Comitê de Ética de Pesquisa da instituição (nº 209812/08). Participaram deste estudo, voluntários, portadores de DPOC que aguardavam ingresso no Programa de Reabilitação Pulmonar no Ambulatório de Fisioterapia da Universidade Nove de Julho – UNINOVE e indivíduos saudáveis, provenientes da Associação S.O.S. família São Geraldo, localizada à Rua Pedro Ângelo Janitelli, 72- Ponte Grande Guarulhos/SP. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido.

Pacientes com DPOC moderado à grave, doença estável, sugerida por ausência de modificação na medicação nas últimas quatro semanas e que assinaram o TCLE foram avaliados, sendo excluídos deste grupo, tabagistas, com doença cardíaca isquêmica, cirurgias recentes, que já tivessem participado em programa de reabilitação pulmonar, portadores de doenças neuromusculares, com exacerbação clínica nos últimos 30 dias ou com outras doenças limitantes que prejudicassem a realização dos testes. Para fins comparativos avaliou-se um grupo controle composto por indivíduos saudáveis, não fumantes, com espirometria normal, sedentários, na faixa etária entre 40 e 85 anos e que assinaram o TCLE. Foram excluídas as pessoas que atenderam os mesmos critérios de exclusão descritos para o grupo DPOC além da presença desta doença. Os pacientes responderam uma ficha de triagem e o questionário de atividade física

basal de Baecke, para verificar se atendem os requisitos necessários dos critérios de inclusão e exclusão.

2.1. Avaliação Clínica da população

A Prova de Função Pulmonar foi realizada através do espirômetro da marca MedGraphics®. Todos os indivíduos foram submetidos a este teste, que consiste em uma inspiração profunda, seguida de um assopro forte e rápido, sendo que este se mantém até o indivíduo não mais agüentar ou até atingir os critérios mínimos de aceitação propostos pelas diretrizes para testes de função pulmonar da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia em 2002. Através dessa manobra obtiveram-se os gráficos de fluxo-volume, volume-tempo e a análise das seguintes variáveis: Capacidade Vital Forçada (CVF), Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo (VEF₁), relação VEF₁/CVF, Fluxo Expiratório Forçado entre 25-75% da CVF (FEF 25-75 %), Fluxo Expiratório Forçado máximo (FEF Max.) [18]. Para analisar normalidade ou alterações existente no teste, foram utilizados os previstos da população brasileira.

Para avaliação da capacidade física, os grupos realizaram o Teste da Caminhada de seis minutos (TC6'). Os indivíduos realizaram dois testes, com intervalo de 1 hora, foi registrado o maior valor para análise. Realizado em um corredor com 30 metros, marcado a cada metro, a cada minuto era dado estímulo verbal, este padronizado pelo examinar conforme guia da *American Thoracic Society* [19]. Foram mensurados no repouso e ao final do teste a frequência cardíaca e respiratória, saturação de oxigênio pelo oxímetro de pulso e pressão arterial. O trabalho metabólico foi calculado pela distância percorrida em seis minutos multiplicada pelo peso corporal do paciente.

2.2. Coleta das amostras de saliva e urina

A saliva foi coletada (~5ml) diretamente em tubo apropriado (SALIVETTE®) e centrifugada ($946 \times g$) a 4°C por 10 min. As coletas foram realizadas entre 8h e 11h30 da manhã para minimizar os efeitos da variação diurna de acordo com os dados descritos na literatura [20]. Após, foi transferida com o auxílio de uma pipeta para um tubo de microcentrífuga e novamente centrifugada ($10000 \times g$) a 4°C por 10 min.. Assim como a saliva, a coleta da urina seguiu os mesmos critérios quanto ao horário para realização da coleta por semelhante razão. As amostras de urina (em torno de 100 mL) foram coletadas em frascos plásticos universais, próprios para material biológico, seguida de centrifugação a $10.000 \times g$ a 4°C por 10 min. Todas as amostras foram armazenadas em freezer -70°C até o momento da análise.

2.3. Pré-purificação da fração peptídica da saliva e urina

As amostras de urina e saliva (1 mL de cada amostra) foram submetidas a uma pré-purificação em micro-coluna de fase reversa Sep-pak C18 (Waters), previamente equilibrada com solvente A ($\text{H}_2\text{O}/\text{TFA}$ 0,1%) para retirada de sal contido nas amostras e obtenção das frações peptídicas da urina (FPU) e saliva (FPS) em ambos os grupos da população estudada. As amostras foram eluídas com 60% de solvente B (90% AcN /10% solvente A) e liofilizadas. Após, as FPU e FPSs foram dissolvidas em H_2O e 2 μL dessa solução foram misturados com 2 μL da matriz (ácido α -ciano-4-hidroxicinâmico). A mistura foi mantida a temperatura ambiente para a secagem do material e injetadas no espectrômetro de massas.

2.4. Análise por espectrometria de massas (MALDI-TOF/LC-MS/MS)

A identificação e caracterização do peptídeo PGP ou *N-acetyl*-PGP foi realizada a partir da fração peptídica da urina e saliva de indivíduos com DPOC (FPU-DPOC; FPS-DPOC) e saudáveis por espectrometria de massas, utilizando o equipamento MALDI-TOF/LC-MS/MS (Amershan Bioscience). As análises de espectrometria de massas foram conduzidas em colaboração com a Central de Multiusuários (CEM) da Universidade Federal do ABC/UFABC. As análises foram realizadas por técnicos especializados que desconheciam a identidade dos indivíduos doadores das amostras, não sendo especificado se as amostras eram de origem de pessoas portadoras de DPOC ou saudáveis. Os espectros foram obtidos em Modo Reflectron (10 KV), voltagem de operação 20 KV, supressão 500 AMU, voltagem do detector 1700 V, 5 tiros de laser por segundo, devidamente calibrados com Angiotensina I(Sigma). Em seguida, os espectros de massas provenientes das amostras (FPU-C, FPU-DPOC, FPS-C e FPS-DPOC) foram comparados para a identificação dos produtos de PGP e *N*-PGP, levando em consideração o sinal de massa dessas moléculas e a sobreposição dos perfis obtidos nos dois grupos.

2.5. Análise estatística

A distribuição paramétrica das características dos parâmetros obtidos a partir da Espirometria e TC6' foram sumarizadas por média e desvio padrão (DP). O teste de *Kolmogorov-Smirnov* foi utilizado para verificar a normalidade da variância. Para comparações entre os dois grupos foi utilizado o Teste-t não pareado. Dados não-

paramétricos foram expressos como mediana (valores máximos e mínimos). Foi considerado indicativo de significância estatística $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1. Características da população estudada

A amostra estudada foi constituída de 30 indivíduos, sendo 20 pacientes com DPOC e 10 do grupo controle. Do total, 4 do grupo DPOC e 1 do grupo controle, foram excluídos por participarem de algum programa de reabilitação pulmonar e espirometria anormal, respectivamente. A população do grupo DPOC ($n=16$) foi composta de 10 homens, média de idade de $71,4 \pm 9,47$ anos, todos ex-tabagistas, com tempo médio de fumo de $43,4 \pm 20,0$ anos. Todos do grupo controle ($n=9$), com média de idade de $70,8 \pm 10,29$ anos, relataram que nunca fumaram. A diferença entre a média de idade não foi significativa entre os grupos (Tabela 1).

3.2. Parâmetros clínicos da população

Os pacientes com DPOC apresentavam limitação do fluxo aéreo de grau moderado a grave. A espirometria possibilitou constatar que a diferença entre os grupos era extremamente significativa para o VEF_1 (% prev) e para a relação VEF_1/CVF (% prev). Porém, CVF (% prev) não houve diferença entre os grupos (Tabela 2). No TC6', os pacientes com DPOC apresentaram a média da distância percorrida inferior em relação aos indivíduos saudáveis ($p < 0,05$) (Tabela 2).

3.3. Análise qualitativa dos sinais de massa

As amostras de urina e saliva de ambos os grupos pré-purificadas totalizaram 50 amostras, 16 de saliva (FPS-DPOC) e 16 de urina (FPU-DPOC) do grupo DPOC e do grupo controle foram 9 de saliva (FPS-C) e 9 urina (FPU-C).

Os espectros de massas de todas as amostras em ambos os grupos foram obtidas, como ilustra a figura 1 e 2, que representa os sinais de massas próximos do esperado para os peptídeos PGP e *N-acetyl*-PGP de dois indivíduos (FPU-C e FPU-DPOC, respectivamente). Em seguida, todos os perfis de massas obtidos das amostras FPU e FPS do grupo DPOC e controle foram analisados e comparados com o objetivo de identificar os produtos de hidrólise do colágeno PGP e/ou *N-acetyl*-PGP. A figura 3 representa a análise comparativa por sobreposição dos espectros de massa de duas amostras (FPU-C e FPU-DPOC) e ilustra a presença de peptídeos específicos nas amostras de urina do grupo DPOC e ausência no grupo controle.

A análise de todos os espectros indicou que 81,2% dos pacientes com DPOC apresentaram sinais de massas equivalentes aos peptídeos *N-acetyl*-PGP e PGP e em 68,7%, respectivamente (Tabela 3). Entretanto, verificou-se a presença de *N-acetyl*-PGP em 11,1% nas amostras da FPU-C, mas ausência de PGP. Nas amostras da FPS de ambos os grupos não foram identificados o *N-acetyl*-PGP e o PGP (Tabela 3).

4. DISCUSSÃO

As metaloproteinases catalisam componentes protéicos da MEC produzindo moléculas peptídicas biologicamente ativas que participam do processo inflamatório envolvido na DPOC [16,21,25]. O *N-acetyl*-PGP e o PGP são produtos peptídicos da

degradação do colágeno e quimiotáticos de neutrófilos e macrófago [17]. Em 2009 foi demonstrada a presença do *N-acetyl*-PGP no escarro de pacientes com DPOC e que este pode ser um potencial biomarcador e alvo terapêutico para doenças inflamatórias neutrofílicas e que a geração de PGP pode ser a base para novas pesquisas direcionadas para terapêutica da DPOC e inflamações respiratórias [17]. No presente estudo, demonstrou-se pela primeira vez, que esses peptídeos indicadores de degradação da MEC foram identificados na urina de pacientes com DPOC. Entretanto, apesar de serem produtos da degradação do colágeno associados ao processo inflamatório na DPOC, há relatos de que a degradação do colágeno ocorre em outras disfunções, acentuando o processo inflamatório nas vias aéreas, tais como, a Fibrose Pulmonar Idiopática, o Enfisema pulmonar e a Bronquiectasia [10].

Recentemente, nosso grupo [26] demonstrou que o aumento dos níveis de expressão da MMP-2 na saliva está relacionado com o grau de obstrução aérea em pacientes com DPOC. Marinho [27] observou que as concentrações dos níveis de hidroxiprolina, um indicador inespecífico da degradação de colágeno, na urina de pacientes com DPOC não tem diferença significativa quando comparadas com indivíduos saudáveis, mas levantou fortes indícios que a concentração dos fragmentos de elastina, uma proteína abundante da MEC no tecido pulmonar, é significativa em pacientes com DPOC.

O sinal de massa do *N-acetyl*-PGP na urina foi identificado com maior frequência no grupo DPOC, mas não se identificou esses produtos de degradação do colágeno nas amostras de saliva. Entretanto, deve-se considerar que o pequeno volume da amostra durante a coleta de saliva e utilizado nos ensaios em relação a urina, a baixa concentração desses peptídeos poderia explicar a não identificação nas amostras de saliva por espectrometria de massas, apesar do equipamento apresentar sensibilidade de

detecção significativa. Apesar disso, vale salientar que a detecção dos peptídeos *N-acetyl*-PGP e PGP na urina de pacientes com DPOC apresenta grande relevância, considerando que a urina é formada por um sistema altamente especializado e que contém vários produtos de excreção, aumentando assim, as chances de identificar produtos de degradação do colágeno em amostras biológicas em que os procedimentos para a coleta são não-invasivos. Com isso, a identificação dessas moléculas nas amostras de urina do grupo DPOC e ausência em indivíduos saudáveis corroboram com a hipótese de que existem outros produtos de degradação dos componentes da MEC, ainda não caracterizados, provavelmente, específicos da DPOC, que podem ser pesquisados na urina. Entretanto, deve-se considerar que o colágeno é amplamente distribuído em vários tecidos do corpo humano e a frequência encontrada em pacientes saudáveis, apesar de baixa, deve ser investigada no futuro por análises quantitativas dos sinais de massas caracterizadas e as correlações com os parâmetros da capacidade funcional pulmonar.

O estudo de marcadores biológicos, específicos da DPOC, protéico ou peptídeos, que representem a avaliação de pacientes com DPOC segue como foco de pesquisas em busca de estratégias alternativas da efetividade dos programas de reabilitação pulmonar, a fim de possibilitar a avaliação dos seus níveis antes e após as intervenções terapêuticas [28]. Atualmente, as estratégias utilizadas podem gerar resultados controversos inviabilizando esta avaliação, pois os testes utilizados nos programas de reabilitação pulmonar como o TC6', Teste do Degrau, entre outros, exigem maior esforço por parte dos pacientes que muitas vezes estão com alto grau de comprometimento pulmonar funcional. Sendo assim, este estudo abre perspectivas para novas pesquisas em busca de peptídeos específicos para DPOC, com o uso de espectrometria de massas, a partir da análise da urina e saliva, por serem amostras

coletadas de forma minimamente invasiva e considerando que a degradação da MEC deve ocorrer em função das especificidades de hidrólise dos substratos das enzimas mais representativas relacionadas as diferentes disfunções cardiopulmonares.

Agradecimentos

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro na realização desse estudo. (FAPESP, processo nº 2008/53688-1); Universidade Federal do ABC – UFABC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] GOLD – Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. s.l.; 2009. Disponível em: <http://www.goldcopd.com>.

[2] Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. II Consenso Brasileiro de Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC). J Brasileiro de Pneumologia, 2004; 30: 1-52.

[3] Abboud RT, Vimalanathan S. Pathogenesis of COPD. The role of protease-antiprotease imbalance in emphysema. Int J Tuberc Lung Dis 2008; 12:361-7.

[4] Lagente V, Manoury B, Nénan S, Quément C L, Martin-Chouly C, Boichot E. Role of matrix metalloproteinases in the development of airway inflammation and remodeling. Brazilian J of Medical and Biological Research 2005; 38:1521-30.

[5] Celli BR, Barnes PJ. Exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. Eur Respir J 2007; 29:1224-38.

-
-
- [6] Sullivan MJ, Hawthorne MH. Exercise intolerance in patients with chronic heart failure. *Prog Cardiovasc Dis* 1995; 38:1-22.
- [7] Opasich C, Pinna GD, Mazza A, et al. Six-minute walking performance in patients with moderate-to-severe heart failure: is it a useful indicator in clinical practice? *Eur Heart J* 2001; 22:488-96.
- [8] Demedts IK, Brusselle GG, Bracke KR, Vermaelen KY, Pauwels RA. Matrix metalloproteinases in asthma and COPD. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5:257-63.
- [9] Keller S, Mandl I. Quantitative difference between normal and emphysematous human lung elastin, in: C. Mittman (Ed.) *Pulmonary Emphysema and Proteolysis*. Academic Press. New York 1974; 251-59.
- [10] Cardoso WV, Sekhon HS, Hyde DM, Thurlbek WM. Collagen and elastin in human pulmonary emphysema. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147:975-81.
- [11] Schriver EE, Davidson JM, Sutcliffe MC, Swindell BB, Bernard GR. Comparison of elastin peptide concentration in body fluids from healthy volunteers, smokers, and patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:762-66.
- [12] Frette C, Jacob MP, Defouilly C, Atassi C, Kauffmann F, Pham QT, Bignon J. Lack of a relationship of elastin peptide level to emphysema assessed by CT scan. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153:1544-47.
- [13] Mikko M, Fredriksson K, Wahström J, Eriksson P, Grunewald J, Skold CM. Human T cells stimulate fibroblast mediated degradation of extracellular matrix in vitro. *Clinical and Experimental Immunology* 2007; 151:317-25.
- [14] Buttery JE, Stuart S, Gee DJ. Urine hydroxyproline: a potential error in quantification and a proposed procedure for its measurement. *Pathology* 1991; 23:77-9.
- [15] Houghton AM, Quintero PA, Perkins DL, Kobayashi DK, Kelley DG, Marconcini LA, et al. Elastin fragments drive disease progression in a murine model of emphysema. *J Clin Invest* 2006; 116:753-9.

-
-
- [16] Weathington NM, Houwelingen AH, Noerager BD, Jackson PL, Kraneveld AD, Galin FS, et al. A novel peptide CXCR ligand derived from extracellular matrix degradation during airway inflammation. *Nat Med* (2006); 12:317-23.
- [17] O'Reilly P, Jackson PL, Noerager B, Parker S, Dransfield M, Gaggar A, et al. N- α -PGP and PGP, potential biomarkers and therapeutic targets for COPD. *Respir Research* 2009; 10:38.
- [18] Pereira, CAC, Espirometria, *J Pneumol* 2002, 29 (supl 3).
- [19] ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:111-7.
- [20] Hu S, Loo JA, Wong DT.. Human saliva proteome analysis and disease biomarker discovery. *Expert Rev Proteomics* 2007; 4:531-38.
- [21] Kang MJ, Oh YM, Lee JC et al. Lung matrix metalloproteinase-9 correlates with cigarette smoking and obstruction of airflow. *J of Korean Med Science*, 2003; 18:821-27.
- [22] Barnes J. Mediators of chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol Rev* 2004; 56: 515-48.
- [23] Chapman HA Jr, Shi GP. Protease injury in the development of COPD: Thomas A. Neff Lecture. *Chest* 2000; 117: 295S-9S.
- [24] Takeyabu K, Betsuyaku T, Nishimura M, Yoshioka A, Tanino M, Miyamoto K, et al. Cysteine proteinases and cystatin C in bronchoalveolar lavage fluid from subjects with subclinical emphysema. *Eur Respir J* 1998; 12:1033-39.
- [25] Russell RE, Thorley A, Culpitt SV, Dodd S, Donnelly LE, Demattos C, et al. Alveolar macrophage-mediated elastolysis: roles of matrix metalloproteinases, cysteine and serine proteases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 283:867-73.
- [26] Betsuyaku T, Nishimura M, Takeyabu K, Tanino M, Miyamoto K, Kawakami Y. Decline in FEV1 in community-based older volunteers with higher levels of neutrophil elastase in bronchoalveolar lavage fluid. *Respiration* 2000; 67:261–267.

[27] Santos A A, Malaguti C, Corso S D, Silva C A. Expressão das metaloproteinases da matriz 2 e 9 na saliva de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica. *Fisioterapia e Pesquisa*, 2009; 16:299-305.

[28] Marinho RH, Salani R, Santos AA, Malaguti C, Corso SD, Silva CA. Análise da degradação da matrix extracelular na urina de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica. *ConScientia e Saúde* 2009; 8(4):565-573.

[29] Soo-Quee D, Choon-Huat KG. The use of salivary biomarkers in occupational and environmental medicine. *Occup Environ Med* 2007; 64: 202-10.

FIGURAS

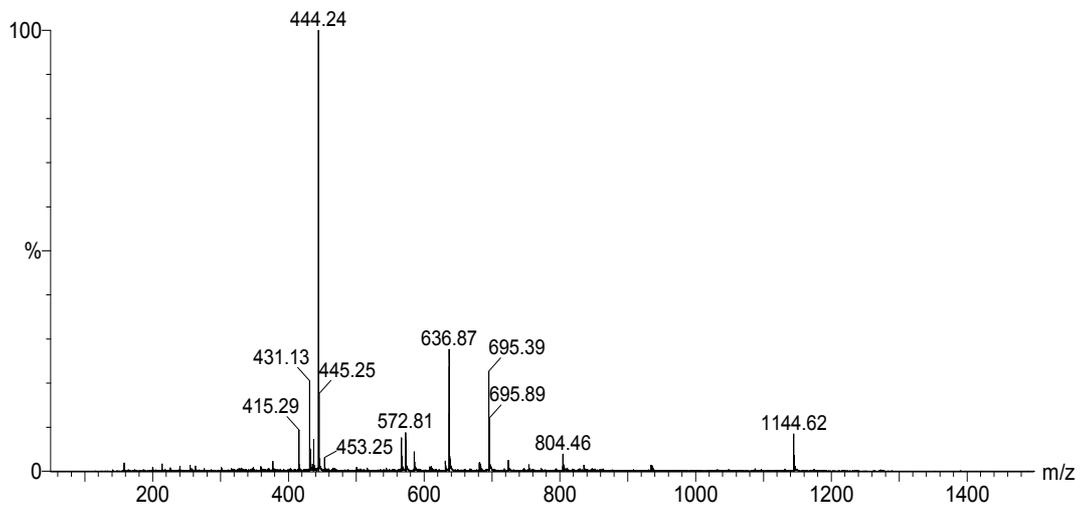


Figura 1. Espectro de massa dos sinais de massas obtidos na amostra na fração peptídica da urina de um indivíduo do grupo controle (FPU-C).

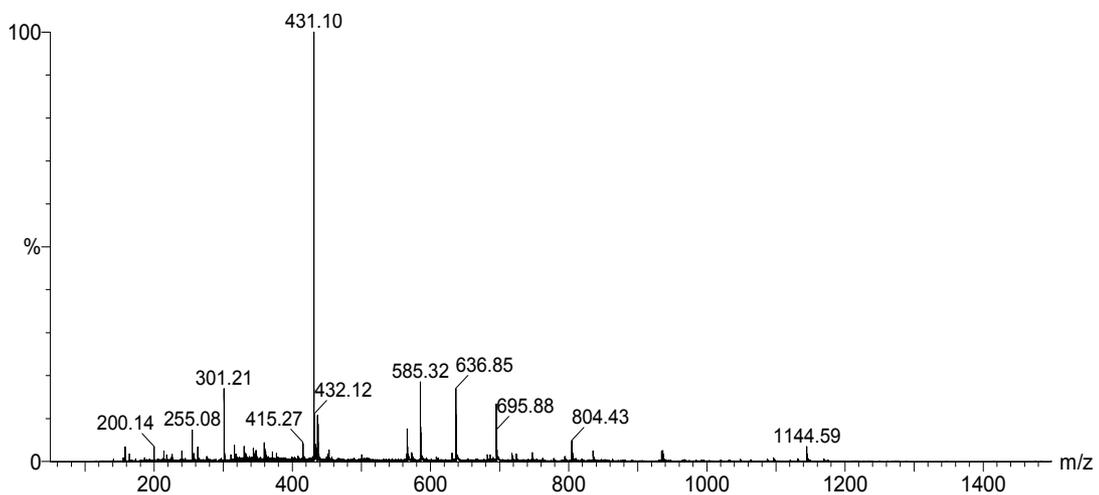


Figura 2. Espectro de massa dos sinais de massas obtidos na amostra na fração peptídica da urina de um indivíduo do grupo DPOC (FPU-DPOC).

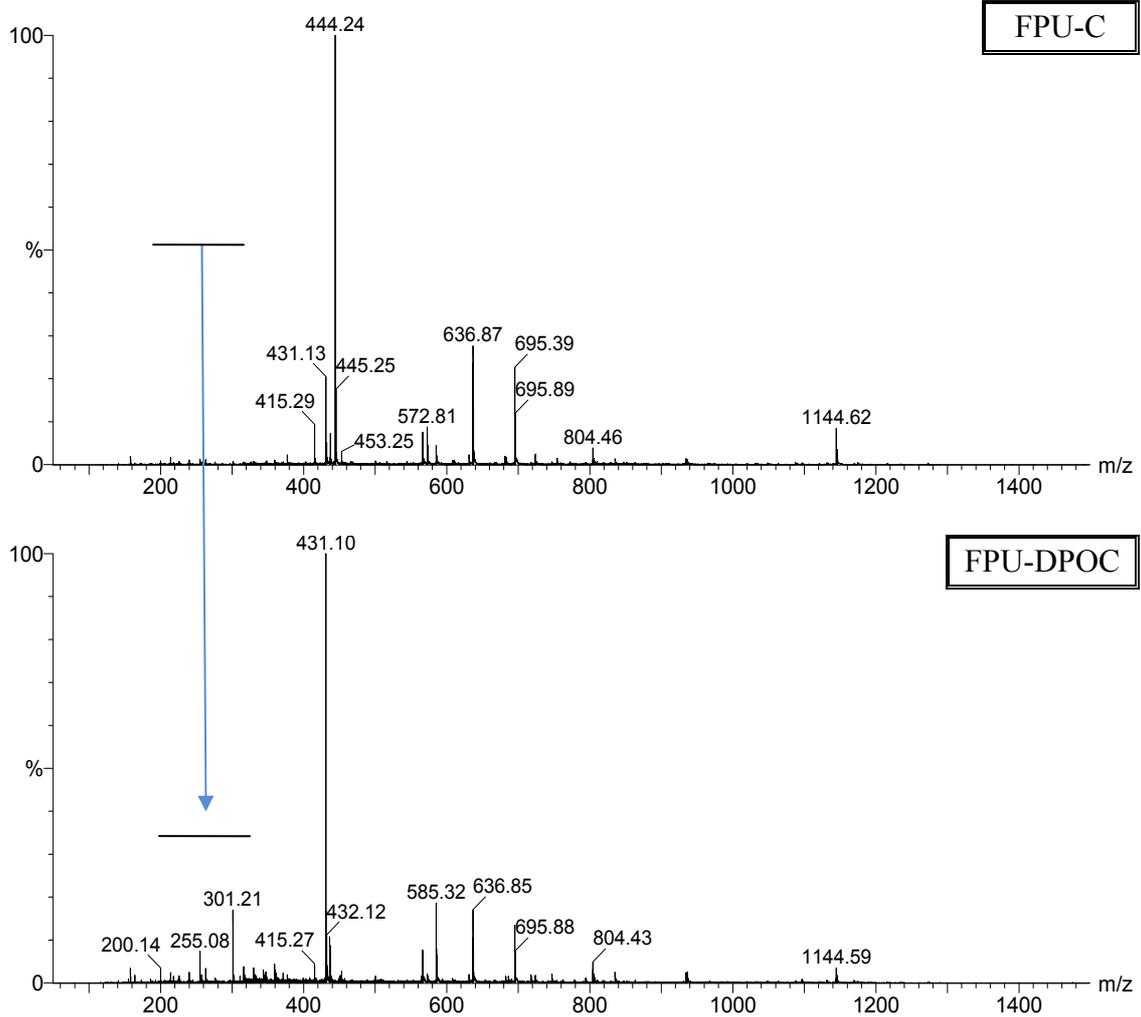


Figura 3. Sobreposição dos espectros de massa com análise comparativa dos sinais de massas obtidos nas amostras na fração peptídica da urina do grupo controle (FPU-C) e do grupo DPOC (FPU-DPOC).

TABELAS

Tabela 1. Características dos pacientes com DPOC e do grupo controle. Dados expressos como média e desvio padrão (DP), exceto quando não foi possível.

CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO			
	DPOC	Controle	Valor (p)
Indivíduos (n)	16	9	
Idade (anos)	71,4 ± 9,47	70,78 ± 10,29	0,897
Homens	10	2	
Tabagistas	0	0	-
Ex-tabagistas	16	0	-
Maços/anos	68,93±46,45	-	-
Tempo de fumo (anos)	43,43 ± 19,99	-	-

DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica; * p<0,05 (Test t não pareado)

Tabela 2. Avaliação clínica dos pacientes com DPOC e do grupo controle. Dados expressos com média e desvio padrão (DP), exceto quando não foi possível. As análises estatísticas foram com base no Teste t não pareado.

PARÂMETROS CLÍNICOS DA POPULAÇÃO			
	DPOC	CONTROLE	Valor (p)
Indivíduos (n)	16 (10 H)	9 (2 H)	-
VEF₁/CVF (% prev.)	47,53 ± 11,98	99,10 ± 7,03 **	0,001
VEF₁ (% prev.)	55,65 ± 16,27	110,00 ± 16,86**	0,001
CVF (% prev.)	94,37 ± 2,63	101,44 ± 1,02	0,48
TC6' (m)	457,6 ± 98,28	558,0 ± 140,4	0,01

DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica; H: homem; CVF: capacidade vital forçada; % prev: porcentagem do previsto; VEF₁: volume expiratório forçado no primeiro segundo; TC6': teste da caminhada de seis minutos; m: minutos; * p<0,05.

Tabela 3. Análise qualitativa dos sinais de massa. Frequência de distribuição dos produtos de hidrólise do colágeno nas amostras na fração peptídica da saliva e urina do grupo controle e do grupo DPOC.

Grupos	N	Frequência (%)	
		<i>N-Acetyl-PGP</i>	PGP
FPS-C	9	<i>Não identificado</i>	<i>Não identificado</i>
FPS-DPOC	16	<i>Não identificado</i>	<i>Não identificado</i>
FPU-C	9	11,1%*	<i>Não identificado</i>
FPU-DPOC	16	81,2% (13)*	68,7% (11)*

FPS: fração peptídica de saliva controle; FPS-DPOC: fração peptídica de saliva de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica; FPU-C: fração peptídica de urina controle; FPU-DPOC: fração peptídica de urina de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica;

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nosso estudo demonstrou pela primeira vez, que os peptídeos de degradação do colágeno (*N-acetyl*-PGP e PGP), já identificados no lavado broncoalveolar e no escarro de pacientes com DPOC, foram identificados na urina com maior frequência nos pacientes com DPOC em relação ao grupo controle. É interessante observar que a presença dessas moléculas na urina desses pacientes contribui com a hipótese de que existem outros produtos de degradação dos componentes da MEC, ainda não caracterizados, provavelmente, específicos da DPOC e que poderiam auxiliar ou complementar o diagnóstico da doença.

Ainda, deve-se considerar que o colágeno é amplamente distribuído em vários tecidos do corpo humano e a frequência encontrada em pacientes saudáveis, apesar de baixa, deve ser investigada no futuro por análises quantitativas dos sinais de massas caracterizadas e as correlações com os parâmetros da capacidade funcional pulmonar.

Não foi possível identificar esses produtos de degradação nas amostras de saliva, possivelmente, pela baixa disponibilidade do peptídeo na saliva. Além disso, a urina é formada por um sistema altamente especializado e que contém vários produtos de excreção, aumentando assim, as chances de identificar produtos de degradação do colágeno. Esses resultados abrem perspectivas para novas pesquisas em busca de peptídeos específicos para DPOC, utilizando a espectrometria de massas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-
-
- [1] GOLD – Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. s.l.; 2009. Disponível em: <http://www.goldcopd.com>.
- [2] Celli BR, Barnes PJ. Exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2007; 29:1224-38.
- [3] Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. II Consenso Brasileiro de Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC). *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, 2004; 30: 1-52.
- [4] Abboud RT, Vimalanathan S. Pathogenesis of COPD. The role of protease-antiprotease imbalance in emphysema. *Int J Tuberc Lung Dis* 2008; 12:361-7.
- [5] Lagente V, Manoury B, Nénan S, Quément C L, Martin-Chouly C, Boichot E. Role of matrix metalloproteinases in the development of airway inflammation and remodeling. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2005; 38:1521-30.
- [6] Pereira, CAC, Espirometria, *J Pneumol* 2002, 29 (supl 3).
- [7] Sullivan MJ, Hawthorne MH. Exercise intolerance in patients with chronic heart failure. *Prog Cardiovasc Dis* 1995; 38:1-22.
- [8] Opasich C, Pinna GD, Mazza A, et al. Six-minute walking performance in patients with moderate-to-severe heart failure: is it a useful indicator in clinical practice? *Eur Heart J* 2001; 22:488-96.
- [9] ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:111-7.
- [10] Hogg JC, Chu F, Utokaparch S, Woods R, Elliott WM, Buzatu L, et al. The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med*. 2004; 350:2645-53.
- [11] Demedts IK, Brusselle GG, Bracke KR, Vermaelen KY, Pauwels RA. Matrix metalloproteinases in asthma and COPD. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5:257-63.

-
- [12] Parks WC, Shapiro SD. Matrix metalloproteinases in lung biology. *Respir Res* 2001; 2: 10-19.
- [13] Weathington NM, Houwelingen AH, Noerager BD, Jackson PL, Kraneveld AD, Galin FS, et al. A novel peptide CXCR ligand derived from extracellular matrix degradation during airway inflammation. *Nat Med* (2006); 12:317-23.
- [14] Kang MJ, Oh YM, Lee JC et al. Lung matrix metalloproteinase- 9 correlates with cigarette smoking and obstruction of airflow. *J of Korean Med Science*, 2003; 18:821-27.
- [15] Takeyabu K, Betsuyaku T, Nishimura M, Yoshioka A, Tanino M, Miyamoto K, et al. Cysteine proteinases and cystatin C in bronchoalveolar lavage fluid from subjects with subclinical emphysema. *Eur Respir J* 1998; 12:1033-39.
- [16] Russell RE, Thorley A, Culpitt SV, Dodd S, Donnelly LE, Demattos C, et al. Alveolar macrophage-mediated elastolysis: roles of matrix metalloproteinases, cysteine and serine proteases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 283:867-73.
- [17] Henson PM, Vandivier RW. A peptide fragment derived from extracellular matrix collagen attracts inflammatory cells by mimicking the activity of a chemokine-potentially contributing to lung injury. *Nature Medicine* 2006; 12:317-23.
- [18] Barnes J. Mediators of chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol Rev* 2004; 56: 515-48.
- [19] Chapman HA Jr, Shi GP. Protease injury in the development of COPD: Thomas A. Neff Lecture. *Chest* 2000; 117: 295S-9S.
- [20] Betsuyaku T, Nishimura M, Takeyabu K, Tanino M, Miyamoto K, Kawakami Y. Decline in FEV1 in community-based older volunteers with higher levels of neutrophil elastase in bronchoalveolar lavage fluid. *Respiration* 2000; 67:261–267.

-
- [21] Keller S, Mandl I. Quantitative difference between normal and emphysematous human lung elastin, in: C. Mittman (Ed.) Pulmonary Emphysema and Proteolysis. Academic Press. New York 1974; 251-59.
- [22] Cardoso WV, Sekhon HS, Hyde DM, Thurlbek WM. Collagen and elastin in human pulmonary emphysema. Am Rev Respir Dis 1993; 147:975-81.
- [23] Schriver EE, Davidson JM, Sutcliffe MC, Swindell BB, Bernard GR. Comparison of elastin peptide concentration in body fluids from healthy volunteers, smokers, and patients with chronic obstructive pulmonary disease. Am Rev Respir Dis 1992; 145:762-66.
- [24] Frette C, Jacob MP, Defouilly C, Atassi C, Kauffmann F, Pham QT, Bignon J. Lack of a relationship of elastin peptide level to emphysema assessed by CT scan. Am J Respir Crit Care Med 1996; 153:1544-47.
- [25] Mikko M, Fredriksson K, Wahström J, Eriksson P, Grunewald J, Skold CM. Human T cells stimulate fibroblast mediated degradation of extracellular matrix in vitro. Clinical and Experimental Immunology 2007; 151:317-25.
- [26] Marinho RH, Salani R, Santos AA, Malaguti C, Corso SD, Silva CA. Análise da degradação da matrix extracelular na urina de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica. ConScientia e Saúde 2009; 8(4):565-573.
- [27] Buttery JE, Stuart S, Gee DJ. Urine hydroxyproline: a potential error in quantification and a proposed procedure for its measurement. Pathology 1991; 23:77-9.
- [28] Houghton AM, Quintero PA, Perkins DL, Kobayashi DK, Kelley DG, Marconcini LA, et al. Elastin fragments drive disease progression in a murine model of emphysema. J Clin Invest 2006; 116:753-9.
- [29] Lin M, Jackson P, Tester A, Diaconu E, Overall C, Blalock JE, et al. Matrix metalloproteinase-8 facilitates neutrophil migration through the corneal stromal matrix by collagen degradation and production of the chemotactic peptide Pro-Gly-Pro. Am J Pathol 2008; 173:144-53.

-
- [30] Pfister RR, Haddox JL, Sommers CI, Lam KW. Identification and synthesis of chemotactic tripeptides from alkali-degraded whole cornea. A study of N-methyl-proline-glycine-proline. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36:1306-16.
- [31] Gaggar A, Jackson PL, Noerager BD, O'Reilly PJ, McQuaid DB, Rowe SM, et al. A novel proteolytic cascade generates an extracellular matrix derived chemoattractant in chronic neutrophil inflammation. *J Immunol* 2008;80:5662-69
- [32] O'Reilly P, Jackson PL, Noerager B, Parker S, Dransfield M, Gaggar A, et al. N- α -PGP and PGP, potential biomarkers and therapeutic targets for COPD. *Respiratory Research* 2009; 10:38.
- [33] Soo-Quee D, Choon-Huat KG. The use of salivary biomarkers in occupational and environmental medicine. *Occup Environ Med* 2007;64:202-10.
- [34] Hu S, Loo JA, Wong DT.. Human saliva proteome analysis and disease biomarker discovery. *Expert Rev Proteomics* 2007; 4:531-38.
- [35] Santos A A, Análise da viabilidade de utilização da saliva como fonte de material biológico para o estudo de biomarcadores na doença pulmonar obstrutiva crônica(DPOC). Dissertação (Mestrado). Universidade Nove de Julho, São Paulo, 2008.



5. ANEXOS



Formulários de Avaliação Clínica

FICHA DE TRIAGEM

DATA: ____/____/____

1) IDENTIFICAÇÃO	
NOME:	
IDADE:	SEXO: <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F
ETNIA: <input type="checkbox"/> branca <input type="checkbox"/> negra <input type="checkbox"/> amarela <input type="checkbox"/> vermelha	
NACIONALIDADE:	NATURALIDADE:
ENDEREÇO:	
CIDADE:	UF:
PROFISSÃO:	
ESCOLARIDADE:	
NÃO ALFABETIZADO	<input type="checkbox"/>
1º GRAU	<input type="checkbox"/> COMPLETO <input type="checkbox"/> INCOMPLETO
2º GRAU	<input type="checkbox"/> COMPLETO <input type="checkbox"/> INCOMPLETO
SUPERIOR	<input type="checkbox"/> COMPLETO <input type="checkbox"/> INCOMPLETO
ACOMPANHANTE:	
FONE CONTATO:	

2) HISTORIA TABAGICA	
<input type="checkbox"/> NÃO TABAGISTA	_____ MAÇOS POR _____ ANOS
<input type="checkbox"/> TABAGISTA	_____ MAÇOS POR DIA
<input type="checkbox"/> EX-TABAGISTA	FUMA HA _____ MESES
	FUMOU POR _____ MESES
	PAROU HA _____ MESES

CONVIVENCIA COM FUMANTES:	<input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO
---------------------------	---

HMP:

HMA:

MEDICAÇÃO EM USO:

NOME	INDICAÇÃO	DOSE

DIAGNOSTICO:

ASSINATURA DO PACIENTE

ASSINATURA DO AVALIADOR

Questionário de atividade física Basal de Baecke

QUESTIONÁRIO DE ATIVIDADE FÍSICA

BASAL

Baecke, JAH – 1982

NOME: _____

ID: _____

SEXO: _____ IDADE: _____

A) OCUPAÇÃO

P1) Qual sua principal ocupação (descrever):

1 Trabalho em escritório, motorista, vendas, lecionando, estudando, em casa, médico/paramédico, outra de nível universitário, segurança

3 Trabalho fabril, encanador, carpinteiro, serralheiro, mecânica

5 Construção civil, pedreiro, marceneiro, carregador

P2) No trabalho, o sr(a) senta-se

1 nunca

2 raramente

3 algumas vezes

4 freqüentemente

5 sempre

P3) No trabalho, o sr(a) fica de pé

1 nunca

2 raramente

3 algumas vezes

4 freqüentemente

5 sempre

P4) No trabalho, o sr(a) anda

1 nunca

2 raramente

3 algumas vezes

4 freqüentemente

5 sempre

P5) No trabalho, o sr(a) carrega objetos pesados:

1 nunca

2 raramente

3 algumas vezes

4 freqüentemente

5 muito freqüentemente

P6) Depois do trabalho, o sr(a) sente-se fisicamente cansado:

1 nunca

2 raramente

3 algumas vezes

4 freqüentemente

5 muito freqüentemente

P7) No trabalho, o sr(a) sua:

1 nunca

2 raramente

3 algumas vezes

4 freqüentemente

5 muito freqüentemente

P8) Em comparação com outras pessoas do seu convívio e com a mesma idade, o sr(a) acha que seu trabalho é fisicamente:

1 muito mais leve

2 mais leve

3 da mesma intensidade

4 mais intenso

5 muito mais intenso

ÍNDICE OCUPACIONAL = [P1 + (6-P2) + P3 + P4 + P5 + P6+ P7 + P8] ÷ 8
= _____ =

B) ESPORTES

P9) O sr(a) pratica alguma esporte:

SIM NÃO

P9a) Caso sim:

INTENSIDADE

Qual esporte você pratica mais freqüentemente:

0,76 bilhar, boliche, vela, outro esporte sem deslocamento corporal ativo

1,26 ciclismo, dança, natação, tênis, vôlei, caminhada

1,76 basquete, boxe, futebol, canoagem, ginástica, corrida, musculação

TEMPO

Quantas horas por semana:

0,5 < 1

1,5 1-2

2,5 2-3

3,5 3-4

4,5 > 4

PROPORÇÃO

Quantos meses por ano:

0,04 < 1

0,17 1-3

0,42 4-6

0,67 7-9

0,92 > 9

P9a = INTENSIDADE x TEMPO x
PROPORÇÃO = _____

P9b) O sr(a) pratica um segundo esporte:

0,76 bilhar, boliche, vela, outro esporte
sem deslocamento corporal ativo

1,26 ciclismo, dança, natação, tênis,
vôlei, caminhada

1,76 basquete, boxe, futebol,
canoagem, ginástica, corrida, musculação

TEMPO

Quantas horas por semana:

0,5 < 1

1,5 1-2

2,5 2-3

3,5 3-4

4,5 > 4

PROPORÇÃO

Quantos meses por ano:

0,04 < 1

0,17 1-3

0,42 4-6

0,67 7-9

0,92 > 9

P9b = INTENSIDADE x TEMPO x
PROPORÇÃO = _____

P9 = P9a + P9b = _____

1 0

2 0,01-<4

3 4-<8

4 8-<12

5 = ou > 12

P10) Em comparação com outras pessoas
de seu convívio e de mesma idade, o sr(a)
acha que sua atividade durante seu lazer é:

1 muito menor

2 menor

3 da mesma intensidade

4 maior

5 muito maior

P11) Durante seu lazer, o sr(a) sua:

1 nunca

2 raramente

3 algumas vezes

4 freqüentemente

5 muito freqüentemente

P12) Durante o seu lazer, o sr(a) pratica
esportes:

1 nunca

2 raramente

3 algumas vezes

4 freqüentemente

5 muito freqüentemente

ÍNDICE DE ATIVIDADE ESPORTIVA = [P9 + P10 + P11 + P12] ÷ 4 =
_____ = _____

C) LAZER

P13) Durante o seu lazer, o sr(a) assiste
TV:

1 nunca

2 raramente

3 algumas vezes

4 freqüentemente

5 muito freqüentemente

P14) Durante o seu lazer, o sr(a) anda a
pé:

1 nunca

2 raramente

3 algumas vezes

4 freqüentemente

5 muito freqüentemente

P15) Durante o seu lazer, o sr(a) anda de
bicicleta:

1 nunca

2 raramente

3 algumas vezes

4 freqüentemente

5 muito freqüentemente

P16) Quantos minutos habitualmente o sr(a) anda a pé ou de bicicleta por dia, indo e voltando do trabalho, escola ou compras:

- 1 < 5
2 5-15
3 15-30
4 30-45
5 > 45

ÍNDICE DE ATIVIDADE NO LAZER = [(6-P13) + P14 + P15 + P16] ÷ 4 = _____ = _____

SUMÁRIO

ÍNDICE	VALOR
a) OCUPACIONAL	
b) ATIVIDADE ESPORTIVA	
c) ATIVIDADE NO LAZER	
TOTAL ABSOLUTO (a+b+c)	
TOTAL MÉDIO (a+b+c / 3)	

Tabela 1 - Fórmulas para cálculo dos escores do questionário Baecke* de atividade física habitual (AFH).

Atividades físicas ocupacionais (AFO)

Escore AFO= $\frac{\text{questão 1} + \text{questão 2} + \text{questão 3} + \text{questão 4} + \text{questão 5} + \text{questão 6} + \text{questão 7} + \text{questão 8}}{8}$

Cálculo da primeira questão referente ao tipo de ocupação:

* Intensidade (tipo de ocupação)=1 para profissões com gasto energético leve ou 3 para profissões com gasto energético moderado ou 5 para profissões com gasto energético vigoroso (**determinado pela resposta do tipo de ocupação: o gasto energético da profissão deve ser conferido no compêndio de atividades físicas de Ainsworth**)

Exercícios físicos no lazer (EFL)

Cálculo da questão 9 referente à prática de esportes/exercícios físicos:

*Intensidade (tipo de modalidade)=0,76 para modalidades com gasto energético leve ou 1,26 para modalidades com gasto energético moderado ou 1,76 para modalidades com gasto energético vigoroso (**determinado pela resposta do tipo de modalidade: o gasto energético da modalidade deve ser conferido no compêndio de atividades físicas de Ainsworth**)

*Tempo (horas por semana)=0,5 para menos de uma hora por semana ou 1,5 entre maior que uma hora e menor que duas horas por semana ou 2,5 para maior que duas horas e menor que três horas por semana ou 3,5 para maior que três e até quatro horas por semana ou 4,5 para maior que quatro horas por semana (**determinado pela resposta das horas por semana de prática**)

*Proporção (meses por ano)=0,04 para menor que um mês ou 0,17 entre um a três meses ou 0,42 entre quatro a seis meses ou 0,67 entre sete a nove meses ou 0,92 para maior que nove meses (**determinado pela resposta dos meses por ano de prática**)

***Para o cálculo dessa questão, os valores devem ser multiplicados e somados:**

[Modalidade 1=(Intensidade*Tempo*Proporção)+Modalidade 2=(Intensidade*Tempo*Proporção)]

***Após o resultado desse cálculo, para o valor final da questão 9, deverá ser estipulado um escore de 0 a 5 de acordo com os critérios especificados abaixo:**

[0 (sem exercício físico)=1/ entre 0,01 até <4=2/ entre 4 até <8=3/ entre 8 até <12=4/12,00=5]

Os escores das questões dois a quatro serão obtidos de acordo com as respostas das escalas de Likert

O escore final de EFL deverá ser obtido de acordo com a fórmula especificada abaixo:

Escore de EFL= $\frac{\text{questão 9} + \text{questão 10} + \text{questão 11} + \text{questão 12}}{4}$

Atividades físicas de lazer e locomoção (ALL)

Os escores das questões cinco a oito serão obtidos de acordo com as respostas das escalas de Likert

O escore final de ALL deverá ser obtido de acordo com a fórmula especificada abaixo:

Escore de ALL = $\frac{(6 - \text{questão 13}) + \text{questão 14} + \text{questão 15} + \text{questão 16}}{4}$

Escore total de atividade física (ET)= AFO+EFL+ALL

*Baecke et al² (1982).



6. APÊNDICES



Parecer do Comitê



Comitê de Ética em Pesquisa – CoEP – UNINOVE
 Av. Francisco Matarazzo, 612 – Prédio C – Térreo
comitedeetica@uninove.br

Protocolo de Pesquisa referente ao Projeto nº número da folha de rosto 209812/08

Título do Projeto: **Caracterização enzimática da saliva de pacientes portadores de Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) e sua correlação clínico-funcional pelo índice BODE.**

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto da Silva

Aluno: Alecsandra Aparecida dos Santos
 Curso: Fisioterapia

Objetivo: Identificar e avaliar possivelmente biomarcadores enzimáticos na saliva de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) que participarão do Programa de Reabilitação Pulmonar no Ambulatório de Fisioterapia do Centro Universitário Nove de Julho e correlacioná-los com o índice BODE.

Método: Participarão deste estudo, voluntários, portadores de DPOC que aguardam ingresso no Programa de Reabilitação Pulmonar no Ambulatório de Fisioterapia da Universidade Nove de Julho – UNINOVE/Memorial da América Latina e indivíduos saudáveis, provenientes da Associação S.O.S. família São Geraldo, localizada à Rua Pedro Ângelo Janitelli, 72- Ponte Grande Guarulhos - SP. Inicialmente, os pacientes responderão a uma ficha de triagem e ao questionário de atividade física basal de Baecke , a fim de correlacionar dados específicos da população estudada com os resultados dos testes e verificar se preenchem os requisitos dos critérios de inclusão, que serão: assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, indivíduos com DPOC moderada à grave ($VEF_1 < 60\%$ do previsto) e doença estável, sugerida por ausência de modificação na medicação nas últimas 4 semanas. Por outro lado, serão excluídos do estudo, pacientes com doença cardíaca isquêmica, cirurgias recentes, participação em programa de reabilitação pulmonar, doenças neuro-musculares, exacerbação clínica nos últimos 30 dias ou outras doenças limitantes que possam prejudicar a realização dos testes. Para análise comparativa, incluiremos no estudo um grupo controle, que deverá ter o seguinte perfil: indivíduos com espirometria normal, sedentários, faixa etária entre 40 e 85 anos e permissão para realização do estudo. Os critérios de exclusão serão os mesmos descritos para o grupo DPOC além da presença desta doença.

Crítérios de participação dos sujeitos (recrutamento, critérios de inclusão/exclusão, interrupção da pesquisa): critérios de inclusão, que serão: assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, indivíduos com DPOC moderada à grave ($VEF_1 < 60\%$ do previsto) e doença estável, sugerida por ausência de modificação na medicação nas últimas 4 semanas. Por outro lado, serão excluídos do estudo, pacientes com doença cardíaca isquêmica, cirurgias recentes, participação em programa de reabilitação pulmonar, doenças neuro-musculares, exacerbação clínica nos últimos 30 dias ou outras doenças limitantes que possam prejudicar a realização dos teste.

Identificação dos riscos e possíveis benefícios aos sujeitos: Não há despesas, ou riscos pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, assim como não há compensação financeira relacionada a sua participação.

Pertinência e valor científico do estudo proposto; o estudo e a identificação de marcadores biológicos de doenças, protéicos ou peptídicos, que representem a avaliação de pacientes portadores de DPOC tornou-se foco de estudo por grupos altamente capacitados nessa área de conhecimento. Além disso, a caracterização dos componentes da saliva tem aberto perspectivas para a identificação de biomarcadores de diferentes alterações morfofisiológicas, pois a coleta de saliva é um método não invasivo, tem várias vantagens com relação a outros fluidos biológicos, como por exemplo, urina, soro

ou plasma (SOO-QUEE col., 2007). Assim, o monitoramento dessas possíveis moléculas auxiliaria as estratégias de avaliação e intervenção terapêutica na DPOC.

Adequação da metodologia aos objetivos perseguidos; A metodologia se encontra adequada aos objetivos propostos.

Grau de vulnerabilidade dos sujeitos e medidas protetoras propostas; Não se aplica

Avaliação do binômio risco-benefício; Não se aplica a riscos.

Relação com o sujeito e/ instituição:

Identificação dos responsáveis pelo atendimento, acompanhamento e recebimento dos sujeitos encaminhados, quando for o caso: Essas informações estão sendo fornecidas pela fisioterapeuta Aleksandra A. dos Santos (aluna do mestrado em Ciências da Reabilitação da Universidade Nove de Julho) e pelo Prof. Dr. Carlos A. Silva, para sua participação voluntária neste estudo, que visa correlacionar a atividade enzimática das MMPs na saliva de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) antes de ingressarem no Programa de Reabilitação Pulmonar. Esta pesquisa contribuirá para avaliação da DPOC a partir da identificação de moléculas indicadoras da disfunção, presentes na saliva, permitindo melhor avaliar a efetividade dos programas de reabilitação.

Em qualquer etapa deste estudo você terá acesso aos profissionais responsáveis para o esclarecimento de suas dúvidas quanto aos procedimentos realizados. Os pesquisadores assumem o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando. Os principais responsáveis são os pesquisadores Prof. Dr. Carlos A. Silva e a fisioterapeuta Aleksandra A. dos Santos, os quais podem ser encontrados nos telefones: 3665-9000 ou 9104-0992.

Garantia dos direitos fundamentais do sujeito de pesquisa (informação, privacidade, recusa inócua, desistência, indenização, ressarcimento, continuidade do atendimento, informação dos resultados, acesso ao pesquisador e CEP etc); Em qualquer etapa deste estudo você terá acesso aos profissionais responsáveis para o esclarecimento de suas dúvidas quanto aos procedimentos realizados. Os pesquisadores assumem o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando. É garantida a liberdade da retirada do consentimento a qualquer momento deste estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento.

Tratamento adequado dos dados e materiais biológicos; Não se aplica

Termo de consentimento livre e esclarecido:

Concisão e objetividade: correlacionar a atividade enzimática das MMPs na saliva de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) antes de ingressarem no Programa de Reabilitação Pulmonar

Linguagem adequada ao nível sociocultural dos sujeitos de pesquisa; Se aplica.

Descrição suficiente dos procedimentos: O ambulatório de fisioterapia da Universidade Nove de Julho tem como um dos objetivos a assistência à saúde, com um programa de reabilitação pulmonar para pacientes com doença pulmonar crônica, e também de fazer pesquisa.

Ao entrar em nosso estudo, você será avaliado, realizando inicialmente uma entrevista, para coletarmos seus dados pessoais, hábitos de vida, medicações que utiliza e a história de sua doença. Após esta entrevista, você será levado para uma sala onde iremos pesá-lo e medi-lo, em seguida, você realizará uma avaliação do ponto de vista respiratório. Você deverá soprar e puxar o ar com toda a força num aparelho através de um bucal para medir a sua capacidade pulmonar. Para avaliarmos sua capacidade física, você realizará o teste da caminhada dos seis minutos. Neste exame você deverá andar o mais rápido possível, sem correr, em um corredor plano, com 30 metros. Uma fisioterapeuta irá medir seu batimento cardíaco, quantas vezes você está respirando em um minuto, a pressão arterial e o oxigênio, antes, durante e ao final do teste (através de um aparelho posicionado em seu dedo indicador). Durante o teste você vai sentir um aumento na capacidade de respirar e poderá sentir

cansaço nas pernas. Estes sintomas vão melhorando e desaparecem depois que o teste termina. A última etapa da avaliação é a coleta da saliva. Para coletar a saliva você será orientado a realizar um enxágüe na boca, com água, e em seguida deverá acumular saliva na boca e cuspir em um tubo apropriado para o exame. Tal procedimento não causa quaisquer riscos ou desconforto.

Identificação dos riscos e desconfortos esperados Os voluntários não serão submetidos a riscos durante o período experimental, pois não utilizaremos nenhum tipo de atividade, que comprometa a segurança dos voluntários.

Explicitação das garantias acima referidas; Os pesquisadores asseguram a privacidade dos voluntários quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

Apresentado a este Comitê para análise ética, segundo normas da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (10/10/96), foi considerado:

Aprovado, sendo que este projeto deverá permanecer arquivado por 05 (cinco) anos nesta Secretaria.

Aprovado com sugestões, devendo o Pesquisador encaminhar as modificações sugeridas.

Com pendência (Descrever a metodologia, Rever o Termo de consentimento livre e esclarecido), devendo o Pesquisador encaminhar as modificações sugeridas, e iniciar a coleta de dados somente após a aprovação do projeto por este Comitê.

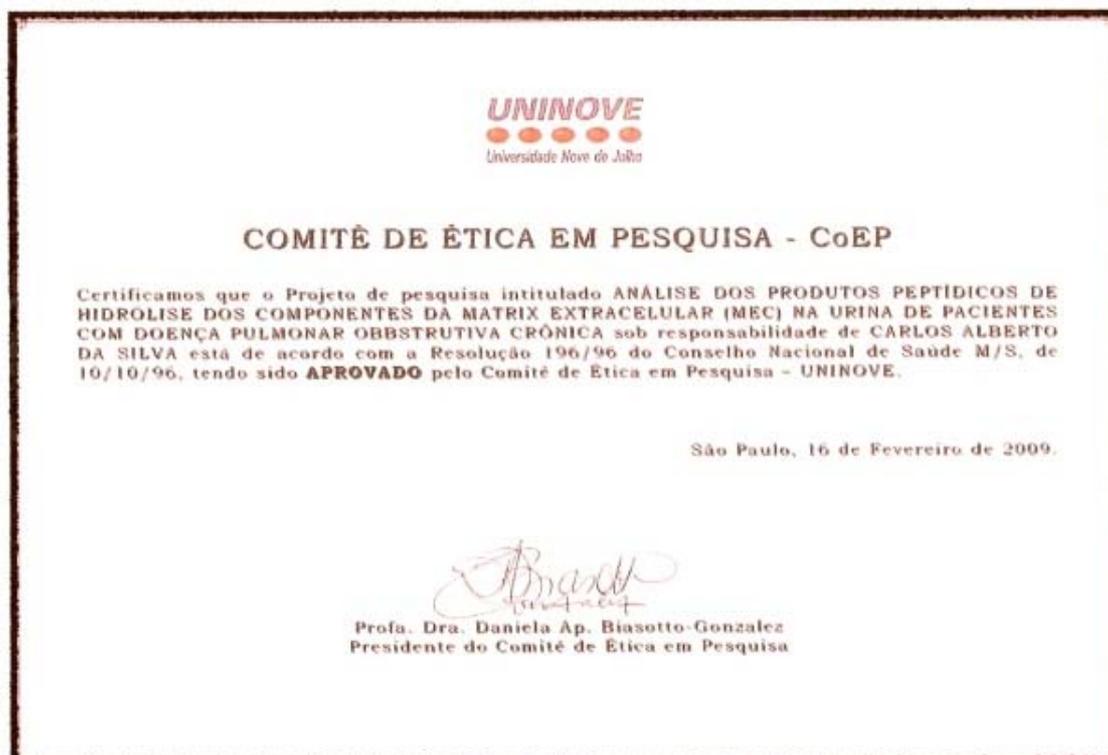
Reprovado.

São Paulo, 04 de Agosto de 2008.



Prof. Dra. Daniela Ap. Biasotto-Gonzalez
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa
Universidade Nove de Julho

Certificado CoEP



Termo de Consentimento para Participação em Pesquisa Clínica

Título do projeto de pesquisa: *CARACTERIZAÇÃO DOS PEPTÍDEOS INDICADORES DE DEGRADAÇÃO DO COLÁGENO, N-acetyl-PGP e PGP, NA SALIVA E URINA DE PACIENTES COM DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA.*

Essas informações estão sendo fornecidas pela enfermeira Sara Fernanda A. Rodrigues (aluna do mestrado em Ciências da Reabilitação da Universidade Nove de Julho) e pelo Prof. Dr. Carlos A. Silva, para sua participação voluntária neste estudo, que visa caracterizar os peptídeos indicadores de degradação do colágeno, *N-acetyl-PGP* e *PGP*, na saliva e urina de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC). Esta pesquisa contribuirá para avaliação da DPOC a partir da identificação de moléculas indicadoras da disfunção, presentes na saliva e urina, permitindo melhor avaliar a efetividade dos programas de reabilitação.

- I- O ambulatório de fisioterapia da Universidade Nove de Julho tem como um dos objetivos a assistência à saúde, com um programa de reabilitação pulmonar para pacientes com doença pulmonar crônica, e também de fazer pesquisa.
- II- Ao entrar em nosso estudo, você será avaliado, realizando inicialmente uma entrevista, para coletarmos seus dados pessoais, hábitos de vida, medicações que utiliza e a história de sua doença. Após esta entrevista, você será levado para uma sala onde iremos pesá-lo e medi-lo, em seguida, você realizará uma avaliação do ponto de vista respiratório. Você deverá soprar e puxar o ar com toda a força num aparelho através de um bucal para medir a sua capacidade pulmonar. Para avaliarmos sua capacidade física, você realizará o teste da caminhada dos seis minutos. Neste exame você deverá andar o mais rápido possível, sem correr, em um corredor plano, com 30 metros. Uma fisioterapeuta irá medir seu batimento cardíaco, quantas vezes você está respirando em um minuto, a pressão arterial e o oxigênio, antes, durante e ao final do teste (através de um aparelho posicionado em seu dedo indicador). Durante o teste você vai sentir um aumento na capacidade de respirar e poderá sentir cansaço nas pernas. Estes sintomas vão melhorando e desaparecem depois que o teste termina. A última etapa da avaliação é a coleta da saliva. Para coletar a saliva você será orientado a realizar um enxágüe na boca, com água, e em seguida deverá acumular saliva na boca e cuspir em um tubo apropriado para o exame. Tal procedimento não causa quaisquer riscos ou desconforto.
- III- Os dados destas avaliações serão analisados e utilizados para estudos/pesquisa, não sendo divulgada a sua identificação.
- IV- Em qualquer etapa deste estudo você terá acesso aos profissionais responsáveis para o esclarecimento de suas dúvidas quanto aos procedimentos realizados. Os pesquisadores assumem o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando. Os principais responsáveis são os pesquisadores Prof. Dr. Carlos A. Silva e a enfermeira Sara Fernanda A. Rodrigues, os quais podem ser encontrados nos telefones: 5575-1182 ou 6744-3314.
- V- É garantida a liberdade da retirada do consentimento a qualquer momento deste estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento.

-
-
- VI- Os dados obtidos em suas avaliações serão mantidos em sigilo, isto é, em segredo.
- VII- Os resultados obtidos, tanto positivos quanto negativos, serão discutidos com você.
- VIII- Não haverá despesas pessoais em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação, incluindo despesas com eventuais deslocamentos.
- IX- A pesquisa será desenvolvida no Ambulatório de Fisioterapia da Universidade Nove de Julho – UNINOVE/ Memorial da América Latina, localizada à Avenida Doutor Adolfo Pinto, 109. São Paulo-SP.
- X- CONSENTIMENTO PÓS – INFORMAÇÃO:

Eu _____, acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo: “*Caracterização dos Peptídeos Indicadores de Degradação do Colágeno, N-acetyl-PGP e PGP, na saliva e urina de pacientes com Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica*”. Eu discuti com a enfermeira Sara Fernanda A. Rodrigues sobre a minha decisão em participar deste estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do trabalho, os exames que serão realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos constantes. Ficou claro também que a minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante a realização do mesmo, sem penalidades prejuízo ou perda de qualquer benefício que possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste serviço.

_____ Data: __/__/__
Assinatura do (a) paciente/ representante legal

_____ Data: __/__/__
Assinatura da testemunha

Declaro que obtive, de forma apropriada e voluntária, o Consentimento Livre e Esclarecido do (a) paciente _____ ou do seu representante legal Sr (a) _____ para a participação dele (a) neste estudo.

Prof. Dr. Carlos A. Silva/ Enf. Sara Fernanda A. Rodrigues

Qualidade de vida dos idosos que praticam atividades culturais e desportivas

Quality of life in elderly people who practice sports and cultural activities

Sara Fernanda Albuquerque Rodrigues¹; Érica Carla Leme Arruda²; Michele Maria A. Constantino²; Carlos Alberto Silva³

¹ Enfermeira e mestranda do programa de pós-graduação em Ciências da Reabilitação – Uninove. São Paulo, SP - Brasil.

² Graduanda em Enfermagem – Uninove. São Paulo, SP - Brasil

³ Professor Doutor do mestrado em Ciências da Reabilitação – Laboratório de Aplicações Moleculares e Celulares – Uninove. São Paulo, SP - Brasil

Endereço para correspondência

Carlos Alberto Silva
Centro de Pós-Graduação. Depto. Ciências da Reabilitação. Mestrado em Ciências da Reabilitação
Av. Francisco Matarazzo, 612 – Água Branca
05001-100 – São Paulo, SP [Brasil]
lescovar@uninove.br

Resumo

Objetivos: Neste estudo, investigou-se a importância das práticas culturais e desportivas em relação à qualidade de vida do idoso. **Método:** Foram selecionados 50 idosos atendidos em programas de práticas culturais e desportivas no SESC Santana, na cidade de São Paulo. A qualidade de vida da população foi avaliada a partir do questionário SF-36, instrumento de avaliação genérico relacionado à saúde, validado para a população brasileira. **Resultados:** A análise dos resultados indicou que 90% dos idosos reportam ter capacidade funcional entre muito boa e excelente. Apenas 10% têm limitações físicas; 72% apresentam episódios dolorosos; 90% têm estado geral de saúde entre muito bom e excelente; 72%, vitalidade preservada; 20%, limitações nos aspectos emocionais, e 90% evidenciam ter saúde mental entre muito boa e excelente. **Conclusão:** Concluiu-se que a participação em práticas culturais e desportivas aumenta a qualidade de vida do idoso, pois promove o bem-estar físico e mental dessa população, além de garantir equilíbrio social e emocional.

Descritores: Nível de saúde; Qualidade de vida; Saúde do idoso.

Abstract

Objectives: The aim of this paper was to investigate the importance of cultural and sportive practices in relation to the quality of life of the elderly. **Methods:** The research involved 50 elderly served in programs of cultural and sportive practices developed in SESC Santana, located in São Paulo. The population's quality of life was evaluated by the SF-36 questionnaire, a general instrument to measure the quality of life related to health that is valid for Brazilian population. **Results:** Analyzing the results, it was possible to conclude that 90% of them affirm to have between a very good and excellent functional capacity, 10% have physical limitations, 72% relate some painful episodes, 90% have a general health state between very good and excellent, 72% have preserved their vitality, 20% present limitations of emotional aspects and 90% have an evident state of mental health between very good and excellent. **Conclusions:** This study indicates that the participation in cultural and sportive practices increases the quality of life of the elderly because it promotes their physical and mental well being, besides guaranteeing social and emotional balance.

Key words: Quality of life; Elderly health; Health care.

Introdução

No Brasil, haverá aproximadamente 32 milhões de pessoas com mais de 60 anos até 2025, contribuindo com o aumento significativo de doenças crônicas. A maior sobrevivência da população produz prevalência de incapacidades desencadeadoras de dependência física e psíquica, comprometendo a autonomia dos idosos e, conseqüentemente, piorando sua satisfação com a própria saúde¹.

O envelhecimento não implica necessariamente doença e afastamento do contexto social e de vida. O idoso tem potencial para mudar as situações de sua vida e a si mesmo, e tem muitas reservas inexploradas. Os idosos podem se sentir felizes, realizados e atuantes em seu meio social. Muitos estudiosos de diversas áreas e as pessoas, de um modo geral, têm-se interessado por buscar formas de chegar a um envelhecimento bem sucedido e satisfatório².

Muitas pessoas procuram associar a qualidade de vida (QV) com o fator saúde. Nesse sentido, saúde, independe de qualquer definição idealista que lhe possa ser atribuída, é produto das condições objetivas de existência. Resulta das condições de vida biológica, social e cultural e, particularmente, das relações que os homens estabelecem entre si e com a natureza por meio do trabalho^{3,4}. A QV boa ou excelente é aquela que oferece um mínimo de condições para que os indivíduos possam desenvolver ao máximo suas potencialidades, vivendo, amando e trabalhando. Todos são seres vivos que procuram se realizar⁴.

A Política Nacional do Idoso constitui em um marco na trajetória das propostas que envolvem esse segmento da população, que há muito vem demandando por serviços básicos, que envolvem desde a questão das aposentadorias até os programas voltados para o lazer⁵. O decreto-lei nº 1.948 apresenta claramente as competências do Ministério da Saúde no que se refere à assistência ao idoso, das quais destacamos: “[...] elaboração de uma política preventiva, visando ao envelhecimento saudável; estimular o autocuidado e o cuidado informal; produzir e difun-

dir material educativo sobre saúde do idoso; [...] realizar e apoiar pesquisas de caráter epidemiológico que visem dar subsídios às ações de prevenção, tratamento e reabilitação do idoso”^{6,7}.

A amplitude desse tema merece interesse, considerando a relevância das práticas de enfermagem voltadas para assistir e acompanhar atividades culturais e desportivas que possibilitam oferecer qualidade de vida ao idoso. O enfermeiro é um dos elos de maior relevância na equipe cuidadora (multidisciplinar). Cabendo-lhe aplicar seus conhecimentos que abrange do estado de saúde ao de doença, da prevenção ao tratamento, dotada pela criatividade, sensibilidade, observação aguçada e improvisação, com coordenação assumida, atuando como assistencialista, cuidando e orientando, independentemente de ser um especialista, um profissional consciente de seu papel como cuidador.

Atualmente, observa-se que há interesses nos estudos que buscam fornecer subsídios para que a população idosa no Brasil tenha melhor QV, ou seja, envelhecimento saudável, melhor capacidade funcional, lazer, saúde e integração com uma sociedade que respeite o idoso e suas limitações. Dessa forma, o objetivo neste estudo foi avaliar a QV de uma população idosa que pratica periodicamente atividades culturais e desportivas.

Material e métodos

Delineamento do estudo

Realizou-se um estudo epidemiológico qualitativo, descritivo com abordagem sobre o perfil socioeconômico de uma população idosa, em que é permitido ao pesquisador de campo investigar e coletar informações no local em que ocorrem os fenômenos estudados, tendo contato direto com as variáveis interferentes e com o fenômeno como um todo⁸. A pesquisa foi realizada no SESC Santana, localizado na Avenida Luis Dumont Villares, 579 – Santana, São Paulo (SP), CEP 02085-100, no decorrer das atividades de la-

zer e cumprindo os horários estabelecidos pela entidade, no mês de fevereiro de 2009.

A população estudada foi constituída por indivíduos idosos, ingressos na faixa etária padrão (OMS) de 60 anos, que concordaram em participar da pesquisa e não apresentaram alterações cognitivas, físicas ou psicológicas, que impedissem sua participação. O instrumento para coleta de dados foi o questionário SF-36, versão em português do *Medical Outcomes Study 36*, traduzido e validado por Ciconelli⁹. O SF-36 é um questionário genérico, com conceitos não específicos para uma determinada idade, doença ou grupo de tratamento e considera a percepção dos indivíduos quanto ao seu próprio estado de saúde e contempla os aspectos mais representativos da saúde¹⁰.

A pesquisa seguiu os princípios dispostos na Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, garantindo aos participantes seu consentimento livre e esclarecido, sigilo das informações e privacidade, entre outros direitos. O estudo foi realizado mediante a prévia aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Nove de Julho e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos participantes. Foi assegurado ao participante, o esclarecimento de todas as dúvidas que surgissem sobre a pesquisa, assim como a possibilidade de desistir dela sem prejuízo algum.

Análise da QV da população

A abordagem dos entrevistados foi de forma individualizada onde os idosos eram convidados a participar da pesquisa. O questionário foi entregue a cada participante e aguardada sua devolução para eventuais esclarecimentos de dúvidas. Após a coleta, as informações sobre os indivíduos que praticam atividades desportivas e culturais foram analisadas. Os dados foram organizados em tabelas para melhor compreensão, sendo avaliados a partir da transformação das respostas em escores da escala de 0 a 100, de cada componente, não havendo um único valor que resuma toda a avaliação, resultando em um estado geral de saúde melhor ou pior.

Análise estatística

Os dados foram agrupados e tratados estatisticamente, utilizando-se sistema computacional, por meio do programa *Graph Pad Prism*[®] – versão 3.1.1. A idade da população foi resumida por média e desvio-padrão. As comparações entre a idade dos indivíduos do sexo masculino e feminino foram realizadas pelo teste “t” Student não pareado. O nível de significância estatística foi superior a $p < 0,05$.

Resultados

A amostra foi constituída por 50 indivíduos idosos que participavam das práticas culturais e desportivas do SESC Santana, no mês de fevereiro de 2009. Quanto ao gênero, do total de indivíduos entrevistados, 26 pertenciam ao sexo masculino. A média de idade foi de $64,32 \pm 11,23$ anos, sem diferenças estatísticas quanto à idade entre homens e mulheres ($p > 0,05$).

A distribuição do número de indivíduos em relação aos domínios do questionário SF-36 demonstrou que a maioria apresentou escores entre 61 a 90 na capacidade funcional, limitações por aspectos físicos, estado geral de saúde, limitações por aspectos emocionais e saúde mental (Tabela 1). A análise da capacidade funcional indicou que mais de 80% dos idosos declararam ter muito boa a excelente; 10%, boa, e não houve relatos de ruim ou muito ruim (Tabela 2).

O estado geral de saúde, 80% dos idosos indicaram como muito bom (Tabela 2). A pontuação aferida para a avaliação da vitalidade dos voluntários foi na maioria muito boa, assim como, o aspecto social foi categorizado como excelente, seguido do conceito bom e ruim (Tabela 2). Observou-se ainda, que a saúde mental foi classificada como muito bom a excelente na maioria dos entrevistados.

A tabela 3 indica que 90% dos idosos não apresentam limitações por aspectos físicos, mas verificou-se que mais de 70% dos entrevistados apontaram episódios de dor. A presença de limitações emocionais foi relatada em 28% dos idosos entrevistados (Tabela 3).

Tabela 1: Distribuição do número de idosos (n=50) em cada domínio do questionário SF-36

Escore*	Domínios do questionário SF-36							
	CF	LAF	D	EGS	V	AS	LAE	SM
0 a 15	0	0	0	0	0	0	0	0
16 a 30	0	2	12	0	0	5	4	5
31 a 60	5	3	24	5	14	0	10	0
61 a 90	27	41	14	40	36	14	26	31
91 a 100	18	4	0	5	0	31	10	14

*: Escore final de 0 a 100 do SF-36, no qual zero corresponde ao pior estado e 100 ao melhor estado em cada domínio.**: Capacidade funcional (CF); Limitação por aspectos físicos (LAF); Dor (D); Estado geral de saúde (EGS); Vitalidade (V); Aspectos sociais (AS); Limitações por aspectos emocionais (AE); Saúde mental (SM).

Tabela 2: Porcentagem dos idosos em 5 domínios analisados no questionário SF-36

Domínios do SF-36		CF	EGS	V	AS	SM
Escore*	Conceito	Indivíduos (%)				
0 a 15	Muito Ruim	0	0	0	0	0
16 a 30	Ruim	0	0	0	10	10
31 a 60	Boa	10	10	28	0	0
61 a 90	Muito boa	54	80	72	28	62
91 a 100	Excelente	36	10	0	62	28

*Escore final de 0 a 100 do SF-36, no qual zero corresponde ao pior estado e 100 ao melhor estado em cada domínio. Capacidade funcional (CF); Estado geral de saúde (EGS); Vitalidade (V); Aspectos sociais (AS); Saúde mental (SM)

Tabela 3: Distribuição da porcentagem dos idosos em 3 domínios analisados no questionário SF-36

Domínios do SF-36		LAF	D	LAE
Escore*	Conceito	Indivíduos (%)		
00 a 50	Sim	10,00	72,00	28,00
51 a 100	Não	90,00	28,00	72,00

*Escore final de 0 a 100 do SF-36, no qual zero corresponde ao pior estado e 100 ao melhor estado em cada domínio. Limitação por aspectos físicos (LAF); Dor (D); Limitações por aspectos emocionais (AE).

Discussão

Este estudo mostrou que a maioria dos indivíduos idosos que pratica atividades desportivas e culturais possui boa a muito boa capacidade funcional, sem limitações com relação aos aspectos físicos. Esses resultados sugerem que o programa de atividade física desenvolvido atendeu às expectativas esperadas, demonstrando que a atividade física contribui para a melhora da capacidade funcional dos idosos, consequentemente a QV.

Entre os fatores que provocam sofrimento e acometem grande número de indivíduos, destaca-se a dor, de acordo com o estudo aqui apresentado. Costa e Duarte¹¹ relatam que o alívio da dor, na maioria das vezes, influencia muito na QV e, na maior parte dos casos, é o fator que impõe a própria deficiência. A minimização dos problemas com a dor pode ter relação direta com a natureza dos exercícios realizados, principalmente ao recomendar as atividades na água, pois há o aproveitamento das propriedades de sustentação e relaxamento com a manutenção do movimento ativo regular, proporcionando alívio no processo doloroso.

Com o instrumento SF-36 é possível avaliar não somente a presença e tempo de fadiga, mas também a de vitalidade e de energia. A vitalidade dos indivíduos entrevistados foi aferida entre boa a muito boa. Esses resultados corroboram o estudo realizado por Nakagava¹², em que se verificou que no grupo de vinte e duas mulheres idosas, inseridas em um programa de atividade física regular, o domínio da vitalidade apresentou o escore médio de 75,4%¹². Esse percentual indica que a vitalidade das mulheres idosas praticantes de hidroginástica foi preservada com o uso regular dessa atividade física.

Nos resultados apresentados, observou-se que mais de 70% dos idosos relataram que o aspecto social foi excelente, a saúde mental muito boa e sem limitações no aspecto emocional. Com isso, constatou-se que os praticantes de esporte, apresentam maior sociabilidade, principalmente no que se refere aos vínculos relativos à família, vizinhos, amigos. Nesse sentido, Brito¹³ afirma que a atividade física sistemática exerce uma ação

positiva no aspecto psicológico dos indivíduos, o que lhes proporciona uma nova postura em relação à sua autoimagem, autopercepção e autoestima, ou seja, uma mudança no seu estado de espírito e uma forma mais segura para lidar com as atividades do seu dia a dia.

A prática regular de atividade física adequada não basta para melhorar a saúde, faz-se necessário criar também oportunidade de constituir um espaço para o desenvolvimento pessoal e interpessoal^{14, 15}. Destaca-se que são claros os benefícios surgidos por meio da atividade física que é garantida pelo uso de estratégias vinculadas à prevenção, tais como exercícios regulares e de programas de incentivo às atividades de reabilitação, que é garantido ao idoso pela legislação, Decreto nº 1.948, de 4 de julho de 1996⁶, que dispõe sobre a Política Nacional do Idoso.

Conclusões

Neste estudo, sugere-se que as atividades desportivas e culturais podem contribuir com o bem-estar físico e emocional, aumentando a QV dos indivíduos idosos. Assim, a prática regular de atividade física adequada não basta para uma melhoria da saúde, faz-se necessário criar também oportunidade de constituir um espaço para o desenvolvimento pessoal e interpessoal.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Juliana Eugenia Ribeiro e Camila Camarão Esteves pelos serviços prestados na secretaria do programa de mestrado em Ciências da Reabilitação da Universidade Nove de Julho, Uninove.

Referências

1. Brasil. Constituição da República Federativa do Brasil. Brasília: Imprensa Oficial; 1999.
2. Camacho ACLF. A Gerontologia e a interdisciplinaridade: aspectos relevantes para a enfermagem. *Rev Latinoam Enferm*. 2002;10(2).

3. Freitas CMSM. Aspectos motivacionais que influenciam a adesão e manutenção de idosos a programas de exercícios físicos. *Pernambuco. Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano*. 2007;9(1):92-100.
4. Ruffino AN. Qualidade de vida: compromisso histórico da epidemiologia. *Saúde em Debate*. 1992;35:63-7.
5. Silva L, Bocchi SCM. A sinalização do enfermeiro entre os papéis de familiares visitantes e acompanhante de adulto e idoso. *Rev Latinoam Enferm*. 2005;13(2):180-7.
6. Brasil. Decreto nº 1.948, de 4 de julho de 1996. Regulamenta a lei nº 8.842, que dispõe sobre a Política Nacional do Idoso Regulamenta, a lei nº 8.842, que dispõe sobre a Política Nacional do Idoso. Brasília, DF.
7. Brasil. Lei nº 8.842, de 4 de janeiro de 1994. Dispõe sobre a política nacional do idoso, cria o Conselho Nacional do Idoso e dá outras providências. Brasília, DF.
8. Severino AJ. *Metodologia do Trabalho Científico*. 21ª ed. São Paulo: Cortez; 2003.
9. Ciconelli RM (1997). Tradução para o português e validação do Questionário Genérico de Qualidade de Vida "Medical outcomes study 36 - item short-form health survey (SF-36)". Tese de Doutorado em Medicina. Universidade Federal de São Paulo (Escola Paulista de Medicina); 1997.
10. Martinez MC. As relações entre a satisfação com aspectos psicossociais no trabalho e a saúde do trabalhador. São Paulo; 2002.
11. Costa AM, Duarte E. Atividade física e a relação com a qualidade de vida, de pessoas com seqüelas de acidente vascular cerebral isquêmico (AVCI). *Rev Bras Ciênc e Mov*. Brasília, DF. 2002;10(1):23-9.
12. Nakagava BKC. Perfil da qualidade de vida de mulheres idosas praticantes de hidroginástica. *Movimentum Revista Digital de Educação Física*. Ipatinga, MG. 2007;2(1):1-14.
13. Brito AP. Psicologia do idoso e exercício. In: Marques A, Gaya A, Constantino J. *Physical activity and health in the elderly. Proceedings of the 1st Conference of EGREPA (European Group for Research into Elderly and Physical Activity)*, Oeiras; 1993 Oct 26-30, Faculty of Sports Sciences and Physical Education. Porto; 1994.
14. Anderson MIP, Assis M, Carvalho L. Saúde e qualidade de vida na terceira idade. *Textos Envelhecimento*. 1998;1(1):47-9.
15. Cerqueira ATAR, Oliveira NIL. de. Programa de apoio a cuidadores: uma ação terapêutica e preventiva na atenção à saúde dos idosos. São Paulo: *Psicol. USP*. 2002; 13(1):133-50.