



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
APLICADAS A PRODUTOS PARA SAÚDE**

YASMIM QUEIROZ SANTOS

**Complexidades Clínico-Laboratoriais e a Perspectiva da
Medicina de Precisão como Inovação Terapêutica na Fibrose Cística**

Anápolis

2019

YASMIM QUEIROZ SANTOS

**Complexidades Clínico-Laboratoriais e a Perspectiva da
Medicina de Precisão como Inovação Terapêutica na Fibrose Cística**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde da Universidade Estadual de Goiás para obtenção do Título de Mestre em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres

Anápolis

2019

**Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para
Saúde da Universidade Estadual de Goiás**

**BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE
MESTRADO**

Aluno (a): Yasmim Queiroz Santos

Orientador (a): Flávio Monteiro Ayres

Membros:

1. Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres

2. Profa. Dra. Cibelle Kayenne Martins Roberto Formiga

3. Prof. Dr. Marc Alexandre Duarte Gigonzac

OU

4. Profa. Dra. Eliete Souza Santana

5. Profa. Dra. Thaís Cidália Vieira Gigonzac

Data: 28/02/2019

Dedico este trabalho aos meus pais, sem eles nada seria possível. Dedico também aos pacientes que conheci durante minha trajetória como pesquisadora e fisioterapeuta, eles foram minha inspiração e motivação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me sustentado e acolhido em todos os momentos que precisei. Durante esse período de aprendizado, ter Você ao meu lado me transformou enquanto pessoa, pesquisadora, mulher, cidadã e cristã. Obrigada por seu amor incansável... Não sou merecedora, mas sou eternamente grata.

Agradeço aos meus pais, Losângela Recimar Queiroz Santos e Lourivaldo Ferreira dos Santos, por terem me apoiado em todos os momentos. Agradeço por tudo que abriram mão em nome dos meus estudos... Por terem abraçado junto comigo esse projeto, mesmo com todas as conseqüências. Agradeço a minha irmã Taynara Queiroz Santos Maia, por indiretamente ter me levado para o caminho da ciência e da pesquisa.

“Merci à Cédric Lefebvre pour tout son amour et sa patience. Merci de comprendre la valeur de la recherche et de la science dans ma vie. Merci pour avoir fait de mes choix les tien aussi.”

Agradeço ao Prof. Flávio Monteiro Ayres, pela oportunidade e parceria ao longo desses cinco anos de trabalho juntos. Obrigada por me fazer apaixonar pela pesquisa, pela docência, e em especial, pela ciência. Sem sua orientação e, claro, mentoria, eu não chegaria até aqui. Agradeço também a todos os professores que estiveram presentes ao longo da minha vida estudantil, acreditem... Vocês ainda mudarão o mundo.

Agradeço aos amigos que a ciência me proporcionou. Obrigada a Dona Neuza Maria Braga, por toda ajuda de laboratório, vida e cafés (seu café é aconchego). Minha amiga Kássia Roberta, sua amizade fez minha trajetória ser mais feliz. Agradeço aos meus amigos de turma do mestrado. Sou muito feliz por ter conhecido vocês! Agradeço às alunas de Iniciação Científica do Laboratório de Pesquisa em Genética, pelo auxílio e a pela oportunidade de ter contribuído no início da formação de vocês enquanto cientistas e pesquisadoras.

Agradeço ao Caio Bruno, um verdadeiro cientista. Você pensa fora do comum, do normal, do esperado e... O mundo precisa de mais pesquisadores assim. Obrigada por tamanha generosidade, por ter me ajudado tanto. Aprendi muito em um pequeno tempo. Obrigada!

Agradeço à equipe multiprofissional do ambulatório de Fibrose Cística do HC/UFG, em especial à Dra. Lusmaia Costa e Dra Lorena Prado pela atenção, paciência e solicitude. Obrigada pelas correções e considerações, vocês são inspiração para busca constante de conhecimento e prática clínica responsável! A minha amiga Lucieli Vinhal e Christiane Santo pela ajuda, parceria e apoio, muito obrigada!

Aos pais e pacientes que confiaram em mim ao participarem desse estudo. Obrigada por acreditarem na ciência! Espero um dia conseguir retribuir... Vocês são a minha motivação, agradeço muitíssimo por tudo. Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização de mais essa etapa! Muito, muito obrigada!

SUMÁRIO

TABELAS, FIGURAS E ANEXOS.....	10
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS.....	12
RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
1.INTRODUÇÃO.....	16
1.1. FIBROSE CÍSTICA.....	16
1.2. EPIDEMIOLOGIA.....	17
1.3. GENÉTICA DA FC.....	17
1.4. MUTAÇÕES NO GENE <i>cftr</i>	18
1.5. PROTEÍNA CFTR.....	19
1.6. DIAGNÓSTICO DA FC.....	20
1.7. TRATAMENTO FC.....	22
2.OBJETIVOS.....	24
2.1 OBJETIVO GERAL.....	24
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
3.MÉTODOS.....	26
3.1 ASPECTOS ÉTICOS.....	26
3.2 COLETA DE DADOS.....	26
3.2.1 Coleta de dados dos pacientes.....	26
3.2.2 Questionário de Qualidade de Vida.....	27
3.2.3 Dados bibliográficos de fármacos para FC.....	28

3.2.4 Dados bibliográficos de exercícios para FC	28
3.3 ANALISE DE DADOS	29
3.3.1 Artigo “Early diagnosis of cystic fibrosis is a more relevant factor on Shwachman Kulczycki score than highly increased values of sweat test”	29
3.3.2 Artigo “The role of <i>cftr</i> mutation classes in the age of diagnosis in cystic fibrosis patients”	30
3.3.3 Artigo “Health-related quality of life: clinical data associations in cystic fibrosis patients”	30
4. PUBLICAÇÕES	31
4.1 ARTIGO 1. Aspectos genéticos e clínicos da Fibrose Cística.....	33
4.2 ARTIGO 2. Early diagnosis of cystic fibrosis is a more relevant factor on Shwachman-Kulczycki score than highly increased values of sweat test.....	48
4.3 ARTIGO 3. The role of <i>cftr</i> mutation classes in the age of diagnosis in Cystic Fibrosis patients.....	59
4.4 ARTIGO 4. Health-related quality of life: clinical data associations in Cystic Fibrosis patients.....	78
4.5 ARTIGO 5. Genotypic analysis of the gene <i>cftr</i> in midwest region of Brazil and precision medicine: New Possibilities	93
4.6 ARTIGO 6. Benefits of aerobic exercise and strength training in Cystic Fibrosis patients – a Systematic Review of Literature	116
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	130
6. REFERÊNCIAS.....	132
7. ANEXOS	137
7.1 ANEXO 1 – Parecer do Comitê de Ética	137
7.2 ANEXO 2 – Normas de publicação do periódico Enciclopédia Biosfera	142
7.3 ANEXO 3 – Normas de publicação do periódico FASETE RIOS	144
7.4 ANEXO 4 – Normas de publicação do periódico Ciência & Saúde Coletiva.....	148

7.5 ANEXO 5 - Normas para submissão Jornal Brasileiro de Pneumologia	157
7.6 ANEXO 6 – Normas para submissão Journal Pulmonology	164
7.7 ANEXO 7 – Normas de publicação do periódico Fisioterapia e Pesquisa	184
7.8 ANEXO 8 – Questionários de Qualidade de vida	188
7.9 ANEXO 9 – Questionários de estabilidade clínica	215
8. APÊNDICE.....	216
8.1 APÊNDICE 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	216
8.2 APÊNDICE 2 - Termo de Assentimento Livre e Esclarecido	218
8.3 APÊNDICE 3 - TCLE para o Responsável	219
8.4 APÊNDICE 4 – Ficha para análise de prontuários	221

“A razão é o passo, o aumento da ciência o caminho, e o benefício da
humanidade é o fim.”

Thomas Hobbes

TABELAS, FIGURAS E ANEXOS

Figura 1. Localização do gene <i>cftr</i> no cromossomo 7.....	18
Figura 2. Classes das mutações no gene <i>cftr</i>	18
Figura 3. Conduta para triagem neonatal para fibrose cística	21
Figura 4. Mapa mental cujo diagrama representa todas as abordagens mencionadas no estudo.....	24
Figura 5. Percurso da composição das amostras dos estudos.....	27
Figura 6. Representação da ordem dos estudos realizados.....	31

Artigo 1. Aspectos genéticos e clínicos da Fibrose Cística

Figura 1. Ilustração esquemática da proteína CFTR, indicando os domínios membranares 1e 2 (MDS1 e MDS2), domínios de ligação-(ATP) de nucleotídeos (NBD1 e NBD2), domínio regulador (R), extremidade amino terminal (NH ₂) e extremidade carboxi terminal (COOH).....	36
Figura 2. Cascata de patogênese da Fibrose Cística.....	38
Figura 3. Relação entre microrganismos colonizadores e a idade dos pacientes.....	39

Artigo 2. *Early diagnosis of cystic fibrosis is a more relevant factor on Shwachman-Kulczycki score than highly increased values of sweat test*

Table 1. Demographic and clinical-laboratory characteristics of patients.....	57
Table 2. Comparison between groups of patients on SK and Sweat Test.....	58

Artigo 3. *The role of *cftr* mutation classes in the age of diagnosis in cystic fibrosis patients*

Table 1. Profile of CF I and CF II patients.....	74
Table 2. Correlation data of CF patients.....	75
Table 3. Profile of patients without <i>cftr</i> mutation.....	76
Figure 1. Difference among groups analyzed.....	77

Artigo 4. *Health-related quality of life: clinical data associations in cystic fibrosis patients*

Table 1. Clinical data of CF patients by age groups.....	90
Table 2. HRQoL domain scores in CF patients questionnaires.....	91
Table 3. Correlation between clinical data and HRQoL of CF patients.....	92
Artigo 5. Genotypic analysis of the gene <i>cftr</i> in midwest region of Brazil and precision medicine: new possibilities	
Table 1. Genetic data of patients, mutation characteristics and drug eligibility.....	115
Artigo 6. Benefits of aerobic exercise and strength training in cystic fibrosis patients – a systematic review of literature	
Figure 1. Diagram of selection of articles for systematic review.....	127
Table 1. Selected articles after relevance tests I and II.....	128
Table 2. Methodologies of the selected articles.....	129
ANEXO.....	137
Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética.....	137
Anexo 2 – Normas de publicação do periódico Enciclopédia Biosfera.....	142
Anexo 3 – Normas de publicação do periódico RIOS FASETE.....	144
Anexo 4 – Normas de publicação do periódico Ciência & Saúde Coletiva.....	148
Anexo 5 – Normas de publicação Jornal Brasileiro de Pneumologia.....	157
Anexo 6 – Normas de publicação Journal Pulmonology.....	164
Anexo 7 – Normas de publicação do periódico Fisioterapia e Pesquisa.....	184
Anexo 8 – Questionários de Qualidade de Vida.....	188
Anexo 9 – Questionário de estabilidade clínica.....	215
APÊNDICE.....	216
Apêndice 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	216
Apêndice 2 – Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE).....	218
Apêndice 3 – TCLE para o Responsável.....	219
Apêndice 4 – Ficha para análise de prontuários.....	221

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

FC – Fibrose Cística

CF – do inglês “*Cystic Fibrosis*”

SK – Shwachman-Kulczycki

cftr – gene *cftr*

CFTR – proteína CFTR (*Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*)

TIR – tripsina imunorreativa

IRT – tripsina imunorreativa, do inglês “*Imunoreactive Trypsin*”

BMI – índice de massa corporal, do inglês “*Body Mass Index*”

FEV₁%pred – Volume expiratório máximo no 1º segundo, do inglês “*predict forced expiratory volume in the first second*”

FVC – do inglês “*forced vital capacity*”

IMT – do inglês “*Inspiratory Muscle Training*”

VO₂max – do inglês “*Maximum Oxygen Volume*”

QOF – qualidade de vida, do inglês “*Quality of Life*”

PEF – do inglês “*peak expiratory flow*”

CFQ-R – questionário de fibrose cística, do inglês “*Cystic Fibrosis Questionnaire - Revised*”

QWB scale – do inglês “*Quality of Well-Being*”

CFTR1 – banco de dados de mutações no gene *cftr*

CFTR2 – banco de dados de mutações no gene *cftr*

REBRAFC – Registro Brasileiro de Fibrose Cística

FDA – do inglês “*Food and Drug Administration*”

P. Aeruginosa – bactéria *Pseudomonas Aeruginonas*

B. cenocepacia – bactéria *Burkholderia cenocepacia*

B. multivorans – bactéria *Burkholderia multivorans*

MRSA – do inglês “*Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus*”

WT – do inglês “*wild type*”

sGC – do inglês “*guanylate cyclase*”

NO – do inglês “*nitric oxide*”

NPD – do inglês “*nasal potential difference*”

LCI – do inglês “*Lung Clearance Index*”
ARNm – Ácido Ribonucleico Mensageiro
COX – do inglês “*cyclooxygenase*”
Ibu-NPs – do inglês “*ibuprofen-encapsulating polymer nanoparticles*”
RE – do inglês “*endoplasmic reticulum*”
SERCA – do inglês “*Sarco endoplasmic reticulum calcium ATPase*”
PLGA – do inglês “*poly(lactic-co-glycolic acid)*”
SAHA – do inglês “*Suberoylanilide hydroxamic acid*”
HDAC – do inglês “*Histone acetyl deacetylases*”
EGCG – do inglês “*epigallocatechin-gallate*”
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TALE – Termo de Assentimento Livre e Esclarecido
HRQOL – Qualidade de Vida Relacionada à Saude, do inglês “*Health Related Quality of Life*”.
QVRS – Qualidade de Vida Relacionada à Saude.

RESUMO

A Fibrose Cística (FC) é uma doença genética resultante da inativação completa ou parcial da proteína CFTR, geralmente, em decorrência de mutações no gene *cftr*. As mutações do gene *cftr* possuem incidência variável de acordo com grupos étnicos e localização geográfica. O fenótipo da FC é parcialmente definido pelo genótipo do paciente. O diagnóstico precoce e o estudo genético estão associados com inúmeros benefícios no quadro clínico e prognóstico do paciente. O objetivo inicial desse estudo foi analisar as complexidades clínico-laboratoriais de pacientes com FC, atendidos em Goiânia. Para tal objetivo, inicialmente, 66 pacientes com fibrose cística foram analisados com base na mutação mais freqüente F508del. Em seguida, 51 pacientes foram analisados conforme a classe mutacional e ausência de mutação *cftr*. A qualidade de vida foi analisada em 24 pacientes com FC e 12 pais e/ou cuidadores com a aplicação do *Cystic Fibrosis Questionnaire-Revised* (CFQ-R). Outro objetivo foi identificar, com base na literatura, as inovações nas estratégias de tratamento direcionadas aos nossos pacientes com FC. Assim, as mutações encontradas em pacientes tratados em Goiânia foram analisadas sob a perspectiva da medicina de precisão. Os exercícios físico aeróbico e de força foram abordados como forma de tratamento para pacientes com FC por uma revisão sistemática de literatura. Nossos resultados demonstram que pacientes com FC homozigotos e heterozigotos F508del tiveram diferença nos valores de cloro no teste do suor e o diagnóstico precoce esteve associado ao melhor quadro clínico. Os pacientes analisados com mutações classes IV/V tiveram diagnóstico mais tardio comparado aos pacientes com mutações classes I/II. Os pacientes sem mutação no gene *cftr* apresentaram menor valor de cloro no teste do suor, quando comparado a pacientes com mutações classe I/II, e melhor quadro clínico comparado a pacientes com mutações no gene *cftr*. Aproximadamente 22,2% dos pacientes com FC atendidos em Goiânia são elegíveis para tratamentos da medicina de precisão. De acordo com a literatura, os exercícios aeróbicos e de força demonstraram ser benéficos para pacientes com FC, desde que o tipo de exercício seja prescrito de forma personalizada, quanto à modalidade e as necessidades do paciente.

Palavras-chave: Mucoviscidose; *cftr*; Genótipo; Fenótipo; Proteína CFTR

ABSTRACT

Cystic fibrosis is a genetic disease resulted by the CFTR complete or partially inactivation, usually due to mutations in the *cftr* gene. The incidence of the *cftr* gene mutations ranges according to ethnic groups and geographic location. The CF phenotype is partially defined by patient's genotype. Early diagnosis and genetic study are associated with many benefits in the patient's clinical and prognostic aspects. The initial aim of this study was to analyze the clinical-laboratory complexities of CF patients attended in Goiânia. For this purpose, initially, 66 CF patients were analyzed based on the most frequent mutation F508del. After that, 51 patients were re-analyzed according to their respective mutation classes and absence of *cftr* mutation. We also analyzed quality of life in 24 CF patients and 12 parents and / or caregivers with the application of Cystic Fibrosis Questionnaire-Revised (CFQ-R). Another aim was to identify, based on the literature, innovations in treatment strategies targeted to our CF patients. Thus, the mutations found in patients treated in Goiânia were analyzed from the perspective of precision medicine. Our data show a review of literature with potential mutation specific drugs which target our patient's genotype. We also investigated aerobic physical exercise and strength as a form of treatment for CF patients by a systematic literature review. Our results demonstrated that CF patients homozygous and heterozygotes F508del had a difference in the chloride values in the sweat test, and early diagnosis was associated with better clinical status. The CF patients analyzed with class IV / V mutations had a later diagnosis compared to patients with class I / II mutations. While wild type *cftr* patients had a lower chloride value in the sweat test compared to patients with class I / II mutations, and a better clinical picture compared to patients with mutations in the *cftr* gene. Approximately 22.2% of the CF patients attended in Goiânia that we analyzed are eligible for precision medicine treatments. According to the literature, aerobic and strength exercises have been shown to be beneficial for CF patients, provided that the type of exercise is prescribed in a personalized manner, regarding the modality and needs of the patient.

Keywords: Mucoviscidosis; *cftr*; Genotype; Phenotype; CFTR protein

1. INTRODUÇÃO

1.1. FIBROSE CÍSTICA

Os primeiros relatos da Fibrose Cística (FC) foram no século XX. Em 1905, o patologista Landsteiner realizou uma descrição anatomopatológica da FC em recém-nascidos falecidos por íleo meconial (CAMPOS et al., 1996). Depois disso, outros pacientes foram descritos com doença celíaca atípica associada ao comprometimento pulmonar. Em 1938, Dorothy Andersen formulou a hipótese de uma doença com herança familiar, autossômica, sistêmica, com lesões pancreáticas, pulmonares e sintomatologia inicial marcada pelo íleo meconial. A FC começou a ser conhecida como “fibrose cística do pâncreas” (ANDERSEN, 1938). O dano pulmonar causado pela obstrução através do muco anormal viscoso, falha da função mucociliar e das infecções crônicas e recorrentes, foram relatados em 1943 dando origem ao nome “mucoviscidose” (CAMPOS et al., 1996; LITTLEWOOD, 2002).

Após uma onda de calor em Nova Iorque, na década de 1940, Di Sant'Agnese et al. (1953) identificaram que alguns pacientes com FC tinham como característica o suor salgado. Posteriormente, relataram também que todos os pacientes com FC possuíam elevados níveis de cloro e sódio no suor. Entretanto, essa relação já havia sido constatada como um antigo dito popular europeu “Pobre criança cuja testa ao beijo é salgada. Está enfeitiçada e logo morrerá” (WELSH; SMITH, 1995). Atualmente, a FC é conhecida como “a doença do beijo salgado”.

O defeito do íon cloro nas células epiteliais das glândulas sudoríparas foi elucidado em 1983 por Quinton e Bijman, que correlacionaram a desidratação das secreções com a disfunção sistêmica (FARIA, 2007). Finalmente, em 1989, o papel do gene *cftr* foi descoberto, e se tornou evidente que a mutação gerava alterações na proteína CFTR. O gene *cftr* foi, posteriormente, clonado e foi confirmado que se tratava de um canal de cloro defeituoso localizado na membrana epitelial apical (BEAR et al., 1992; KEREM et al., 1989; RIORDAN, 1989; ROMMENS; IAMUZZI; KEREM, 1989).

1.2. EPIDEMIOLOGIA

A FC é mais comum em caucasianos, com prevalência estimada de 1/2.500 nascidos vivos (RATJEN et al., 2015). A prevalência é variável de acordo com a geografia e etnia (ROWNTREE; HARRIS, 2003). Estima-se que cerca de 70.000 indivíduos no mundo todo são afetados pela FC (CORVOL et al., 2015).

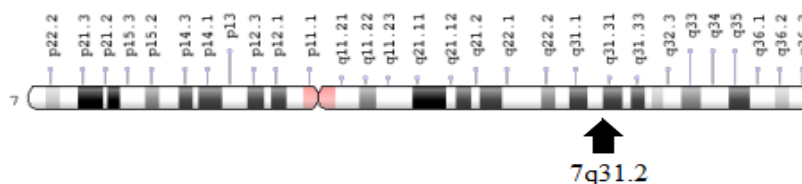
A prevalência da FC em afro-americanos é de aproximadamente 1/17.000, menor que em outros grupos populacionais (JORDE et al., 2000). Em negros africanos, a prevalência da FC é de aproximadamente 1/12.000, porém esses valores podem estar subestimados (FEUILLET-FIEUX et al., 2004). Na Ásia, a prevalência da FC é ainda menor, de aproximadamente 1/90.000. A baixa prevalência em países tropicais foi associada à dificuldade de sobrevivência devido ao risco de desidratação dos pacientes com FC, especialmente em lugares mais quentes. Por esse motivo, as frequências alélicas teriam sido mantidas em proporções características. Não obstante, a incidência da FC reduz conforme as regiões mais quentes são analisadas, como por exemplo: África, sul da Ásia, sul da Europa (PIER et al., 1998; STREIT et al., 2003).

No Brasil, a incidência da FC varia entre as regiões. A incidência no sul do país é próxima da encontrada na Europa, em outras regiões é consideravelmente menor. No RS, PR, SP, SC e MG a incidência varia entre 1/1.587, 1/6.803, 1/7.358, 1/12.048 e 1/20.408, respectivamente (ASSAEL et al., 2002; DAVIS; DRUMM; KONSTAN, 1996; RASKIN et al., 1993; RIBEIRO; RIBEIRO; RIBEIRO., 2002).

1.3. GENÉTICA DA FC

A FC é causada pela mutação no gene *cftr* que se localiza no braço longo do cromossomo 7, região 7q3.1 (Figura 1) (KNOWLTON et al., 1985). O gene contém aproximadamente 250kb de ácido desoxirribonucléico (DNA) genômico com 27 exões e codifica um ácido ribonucléico mensageiro de 6,5kb (COLINS, 1992). O RNA é transcrito na proteína transmembrana reguladora do transporte iônico, *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance* (CFTR), composta por 1.480 aminoácidos (DEVLIN, 1998).

Figura 1 – Localização do gene *cftr* no cromossomo 7.

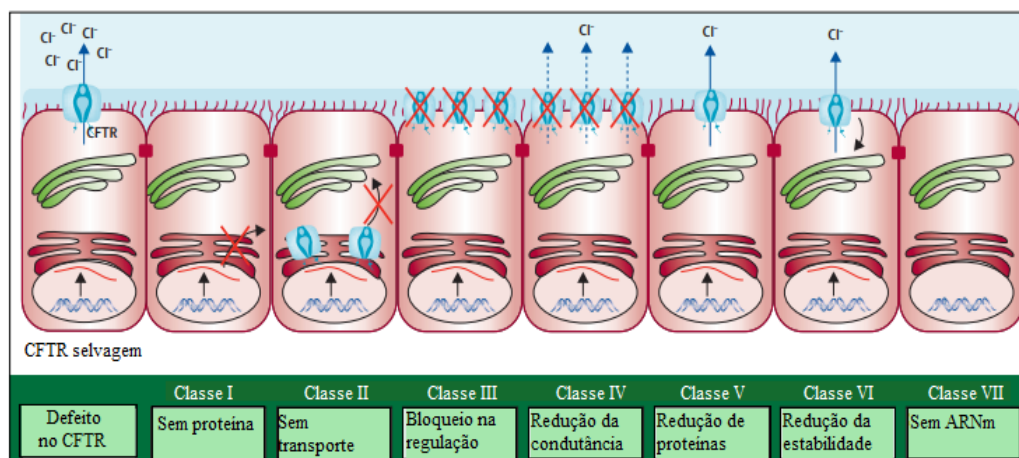


Adaptado de: GENETICS HOME REFERENCE, 2018.

1.4. MUTAÇÕES NO GENE *cftr*

Mais de 2.000 mutações são descritas no gene *cftr* (CFTR1). As mutações variam de acordo com a etnia e localização geográfica dos pacientes (SINGH et al., 2015). A primeira mutação conhecida é a F508del, que é a mutação mais comum em todo o mundo, especialmente na população caucasiana (OTTO; NETO; OTTO, 2013). O alelo F508del é responsável por 70% do fenótipo de pacientes com FC (BORTHWICK, 2011), porém, possui frequência variável em países com alta miscigenação como o Brasil. Trata-se de uma mutação no éxon 10, que consiste na deleção de 3pb (ATT) na posição 508, resultando na perda do aminoácido fenilalanina (NUSSBAUM et al., 2002; SELIMOVIC et al., 2015). As mutações do gene *cftr* são divididas em VII classes de acordo com o mecanismo interrompido e função residual da proteína (Figura 2).

Figura 2 – Classes das mutações no gene *cftr*



Adaptado de: DE BOECK; AMARAL, 2016

As mutações de classe I são *nonsense*, *frameshift*, *splicing* aberrante, grandes deleções ou inserções que criem um códon de parada prematura, consequentemente gerando uma proteína truncada que são rapidamente degradadas (FRISCHMEYER; DIETZ, 1999; HENTZE; KULOZIK, 1999). Essas mutações afetam a síntese da proteína e estão relacionadas a fenótipos mais graves (HAARDT et al., 1999).

A classe II é o grupo da mutação mais comum, F508del. Essas mutações afetam a maturação da proteína e como resultado, pequenas quantidades de proteína parcialmente funcionais chegam à superfície da membrana apical (BOYLE; DE BOECK, 2013). Dessa forma, as mutações da classe II em geral estão associadas a fenótipos mais graves (HAARDT et al., 1999).

As mutações de classe III resultam em uma quantidade normal de proteína, em contrapartida, o tempo de abertura do canal CFTR é extremamente reduzido (SCHWIEBERT et al., 1995). As mutações de classe IV afetam a condutividade do canal CFTR. A quantidade de proteína é normal, porém, apenas com função residual (AKABAS et al., 1994; SHEPPARD et al., 1993). A classe IV está relacionada a fenótipos mais brandos (BOMBIERI; SEIA; CASTELLANI, 2015).

As mutações de classe V levam a diminuição de proteínas na membrana epitelial apical afetando o ARNm ou aumentando o *turnover* da proteína CFTR. Também, está relacionada a fenótipos mais brandos (HIGHSMITH et al., 1994). As mutações classe VI afetam a estabilidade da proteína funcional, relacionada a fenótipos mais graves (ZIELENSKI, 2000), a proteína CFTR possui meia vida reduzida em até seis vezes (HAARDT et al., 1999).

Classe VII são mutações em que não ocorre transcrição de ARNm (DE BOECK; AMARAL, 2016). Essa classe pode ser descrita como classe Ib, e a classe I é referida como Ia. A classe Ia resulta na ausência de proteína e a classe Ib consiste na ausência de ARNm (MARSON; BERTUZZO; RIBEIRO, 2016).

1.5. PROTEÍNA CFTR

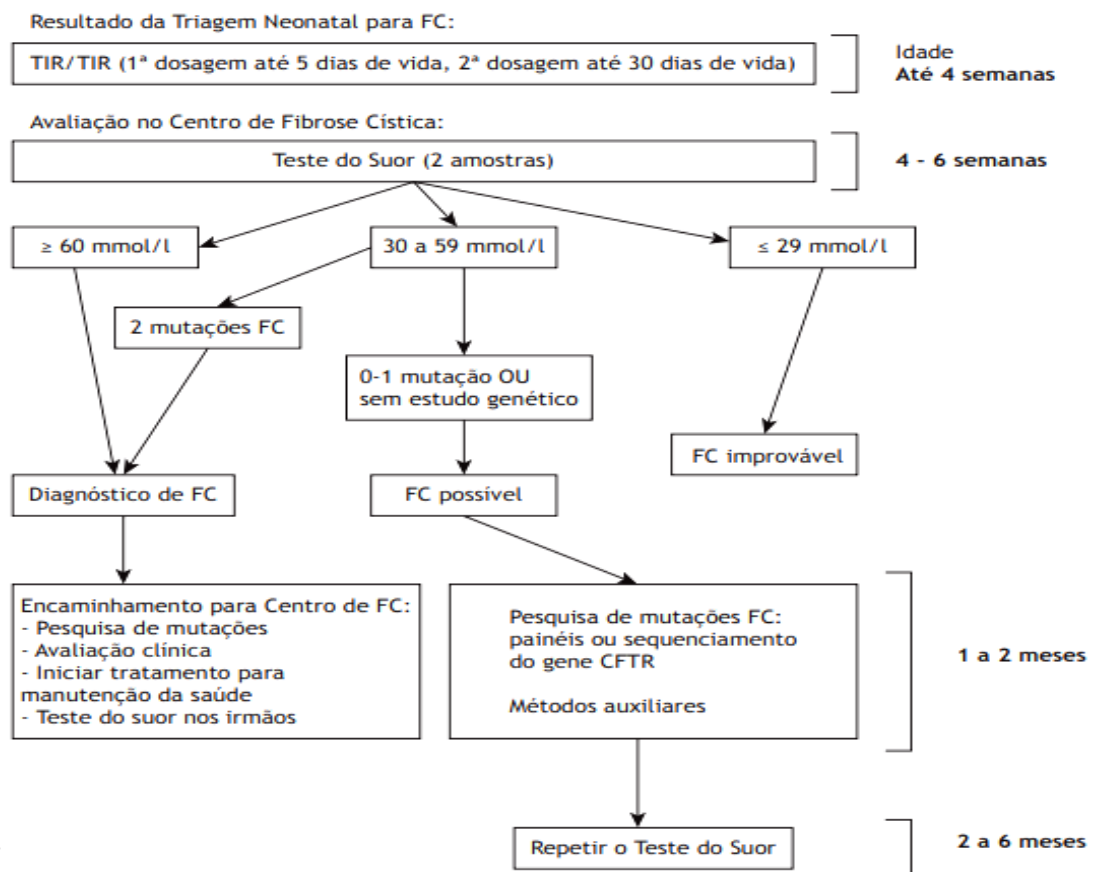
A proteína CFTR é formada por uma parte hidrofóbica, uma hidrofílica e uma polar. A região hidrofóbica possui dois domínios membranares com seis segmentos transmembrana. A região hidrofílica possui dois domínios NFB's (nucleotide-ATP-

binding folds) que se liga a ATP e um domínio polar R que possui sítios para fosforilação pelas proteínas quinase A e C e N-glicosilase (DEVLIN, 1998; RIORDAN, 1989). Os domínios membranares são o poro do canal CFTR (WELSH; SMITH, 1993; ZIELENSKI; TSUI, 1995), enquanto os domínios de ligação controlam a atividade do canal pela hidrólise de ATP. Cada domínio NFB possui uma função, o NBF1 é responsável pela abertura do canal e codificado por sequências encontradas do exon 9 ao 12, e o NBF2 é responsável pelo fechamento do canal, codificado por sequências do exon 19 ao 23.

1.6. DIAGNÓSTICO DA FC

O diagnóstico da FC pode ser realizado pela triagem neonatal que verifica a dosagem da tripsina imunoreativa (TIR). A TIR é uma enzima pancreática que, em decorrência da obstrução dos ductos, geralmente, é detectada em altas concentrações em pacientes com FC (ADDE et al., 2002; ANDRADE; ABREU; SILVA, 2001; CASTELANNI et al., 2016). No Brasil, o Ministério da Saúde tornou obrigatória a triagem da FC no “teste do pezinho”. A abrangência de estados e a realização do teste de maneira apropriada no Brasil é alvo de questionamento de alguns autores (CABELLO et al., 2003). A Fundação de Fibrose Cística, em 2008, recomendou um protocolo para diagnóstico e triagem de pacientes, posteriormente adaptado pelas Diretrizes Brasileiras de Diagnóstico e Tratamento da Fibrose Cística (Figura 3). Alguns estados do Brasil, como Rio Grande do Sul, estão desenvolvendo uma triagem neonatal específica para FC envolvendo a genotipagem baseada em mutações locais mais frequentes (RISPOLI et al., 2018).

Figura 3 – Conduta de triagem neonatal para Fibrose Cística



FC = fibrose cística; TIR = tripsina imunoreativa. Fonte: Diretrizes brasileiras de diagnóstico e tratamento da fibrose cística.

Sinais clínicos indicam a FC como uma hipótese diagnóstica, dentre eles: doença pulmonar crônica por patógenos comuns na FC; tosse e expectoração crônica; anormalidades persistentes na radiografia de tórax; pólipos nasais; baqueteamento digital; alterações gastrointestinais, pancreáticas, hepáticas e/ou nutricionais; síndromes de perda de sal, entre outras (ROSENSTEIN; CUTTING, 1998). O teste do suor é um parâmetro importante para o diagnóstico da fibrose cística. Os valores de referência do cloro no suor são: normal <30mmol/L; 30 – 59mmol/L intermediário; alterado ≥ 60mmol/L. O teste do suor deve ser realizado duas vezes, em dias diferentes (DIRETRIZES BRASILEIRAS DE DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA FIBROSE CÍSTICA, 2017). O estudo de mutações também é recomendado e possui inúmeros benefícios (Quadro 1).

Quadro 1- Benefícios do estudo de mutações no gene *cftr*

1. Pacientes com diagnóstico estabelecido de FC:
 - Para indicação de terapia mutação-específica
 - Para determinação de prognóstico (correlação genótipo-fenótipo)
2. Investigação de formas atípicas de FC.
3. Aconselhamento genético:
 - Indivíduos assintomáticos e sem histórico familiar de FC, quando o cônjuge tem FC ou é portador assintomático de mutação no gene *cftr* (heterozigoto)
 - Indivíduos assintomáticos quando são parentes de primeiro, segundo ou terceiro graus de caso de FC na família
4. Diagnóstico pré-natal/pré-implantação de FC:
 - Em futura gestação ou na gestação atual, em casais que já tem um filho com FC
 - Em casais heterozigotos, se o teste não pode ser feito em um filho com FC
 - Em embriões de casais heterozigotos
 - Quando o feto apresentar intestino hiperecogênico, dilatação de alças intestinais, retardo de crescimento ou supercrescimento sugestivo de dissomia uniparental

FC: Fibrose Cística. Adaptado de: Diretrizes brasileiras de diagnóstico e tratamento da fibrose cística.

1.7. TRATAMENTO FC

O tratamento de pacientes com FC é direcionado a uma equipe multidisciplinar devido o carácter multisistêmico da doença. O tratamento anteriormente era baseado em reduzir os sintomas, retardar os acometimentos progressivos, melhorar a qualidade de vida e o prognóstico dos pacientes (ALVAREZ et al., 2004). Com o avanço das pesquisas envolvendo o aspecto genético da FC, uma nova era de tratamento para o defeito genético do gene *cftr* e com carácter individualizado tem obtido resultados promissores.

Os estudos da farmacogenética deram início a uma nova compreensão sobre a associação genética e fármaco. Inicialmente descrita por Voguel, trata-se de uma ciência que estuda as influencias genéticas, de genes isolados, nas respostas a medicamentos específicos. De maneira complementar, a farmacogenômica é uma ciência que envolve o estudo de vários genes e as respectivas interações (CHOWBAY; ZHOU; LEE, 2005). A farmacogenética e a farmacogenômica contribuíram para a medicina de precisão, anteriormente conhecida pelo termo medicina personalizada. Esses estudos são primordiais para prática clínica,

inicialmente utilizados na oncologia e, atualmente, aplicáveis a diversas doenças genéticas, como a FC (PINHO; SITNICK; MANGUEIRA, 2014).

A medicina de precisão é um termo mais recente, amplamente utilizado após o discurso de lançamento da “*Precision Medicine Initiative*” pelo então presidente Barack Obama em 2015. Trata-se de uma abordagem sistêmica com integração da ciência, tecnologia e pesquisa. As condutas são baseadas em características individuais e em estratégias preventivas visando à melhora do paciente (COLINS; VARMUS, 2015). Dentre as individualizadas levadas em consideração na abordagem, cita-se a genética, o estilo de vida e o ambiente (HODSON, 2016).

Atualmente, com base na medicina de precisão, a terapia mutação específica têm sido utilizada para alguns genótipos, apresentando melhora significativa da função pulmonar e níveis de cloro no teste do suor em pacientes com FC (BOYLE; DE BOECK, 2013; RAMSEY et al., 2011). As terapias já disponíveis possuem ação de potencializar ou corrigir a função CFTR, apenas em classes mutacionais específicas (ANDERSON; WELSH, 1992).

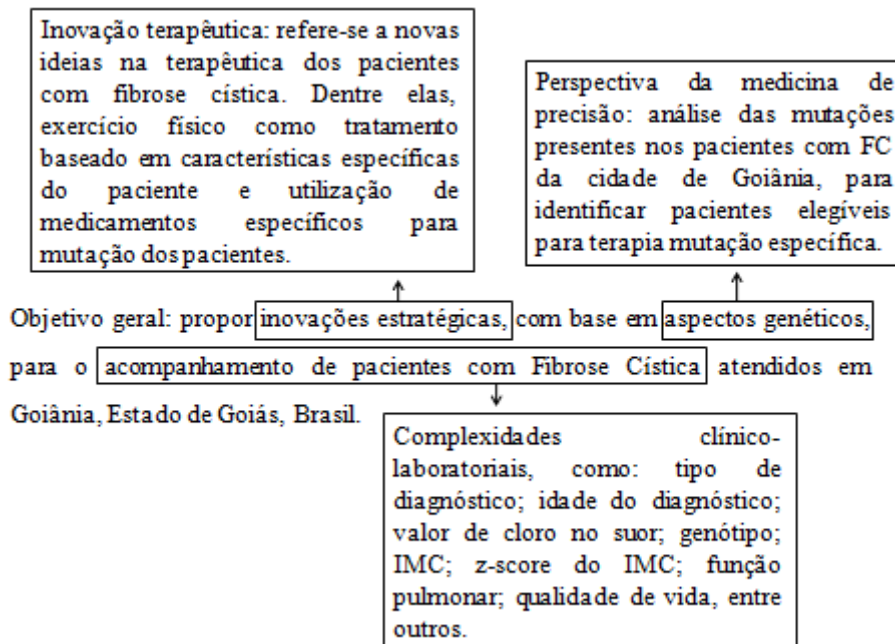
No Brasil, dois novos medicamentos para terapia mutação específicos foram aprovados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária em 2018. Apesar da abrangência da medicina de precisão, esse estudo foi realizado com base nas complexidades clínicas e características genéticas apresentadas pelos pacientes com FC. No que concerne à medicina de precisão, nosso objetivo foi contribuir com inovações elegíveis para o tratamento da FC, bem como, fornecer subsídios para criação de ferramentas específicas para o diagnóstico precoce na cidade de Goiânia, Goiás, Brasil.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral foi propor inovações estratégicas, com base em aspectos genéticos, para o acompanhamento de pacientes com Fibrose Cística atendidos em Goiânia, Estado de Goiás, Brasil (Figura 4).

Figura 4 – Mapa mental cujo diagrama representa todas as abordagens mencionadas no estudo.



2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

O alcance do objetivo geral foi planejado para ser gradualmente atingido mediante os objetivos específicos abaixo propostos:

Estudo: *“Early diagnosis of cystic fibrosis is a more relevant factor on Shwachman-Kulczycki score than highly increase values of sweat test”*

Objetivo específico 1: Analisar as complexidades clínico-laboratoriais de pacientes com FC atendidos em Goiânia.

Estudo: *“The role of cftr mutation classes in the age of diagnosis in cystic fibrosis patients”*

Objetivo específico 2: Analisar a relação entre genótipo e fenótipo de pacientes com FC atendidos em Goiânia.

Estudo: *“Health-related quality of life: clinical data associations in cystic fibrosis patients”*

Objetivo específico 3: Avaliar a qualidade de vida dos pacientes com FC. atendidos em Goiânia.

Estudo: *“Genotypic analysis of the gene cftr in midwest region of Brazil and precision medicine: new possibilities”*

Objetivo específico 4: Identificar pacientes geneticamente elegíveis às terapias medicamentosas atuais.

Objetivo específico 5: Descrever o “Estado da Arte” em terapias medicamentosas baseadas no genótipo de pacientes com FC.

Estudo: *“Benefits of aerobic exercise and strength training in cystic fibrosis patients – A systematic review of literature”*

Objetivo específico 6: Revisar de forma sistemática o treinamento aeróbico e resistido para pacientes com FC.

3. MÉTODOS

3.1 ASPECTOS ÉTICOS

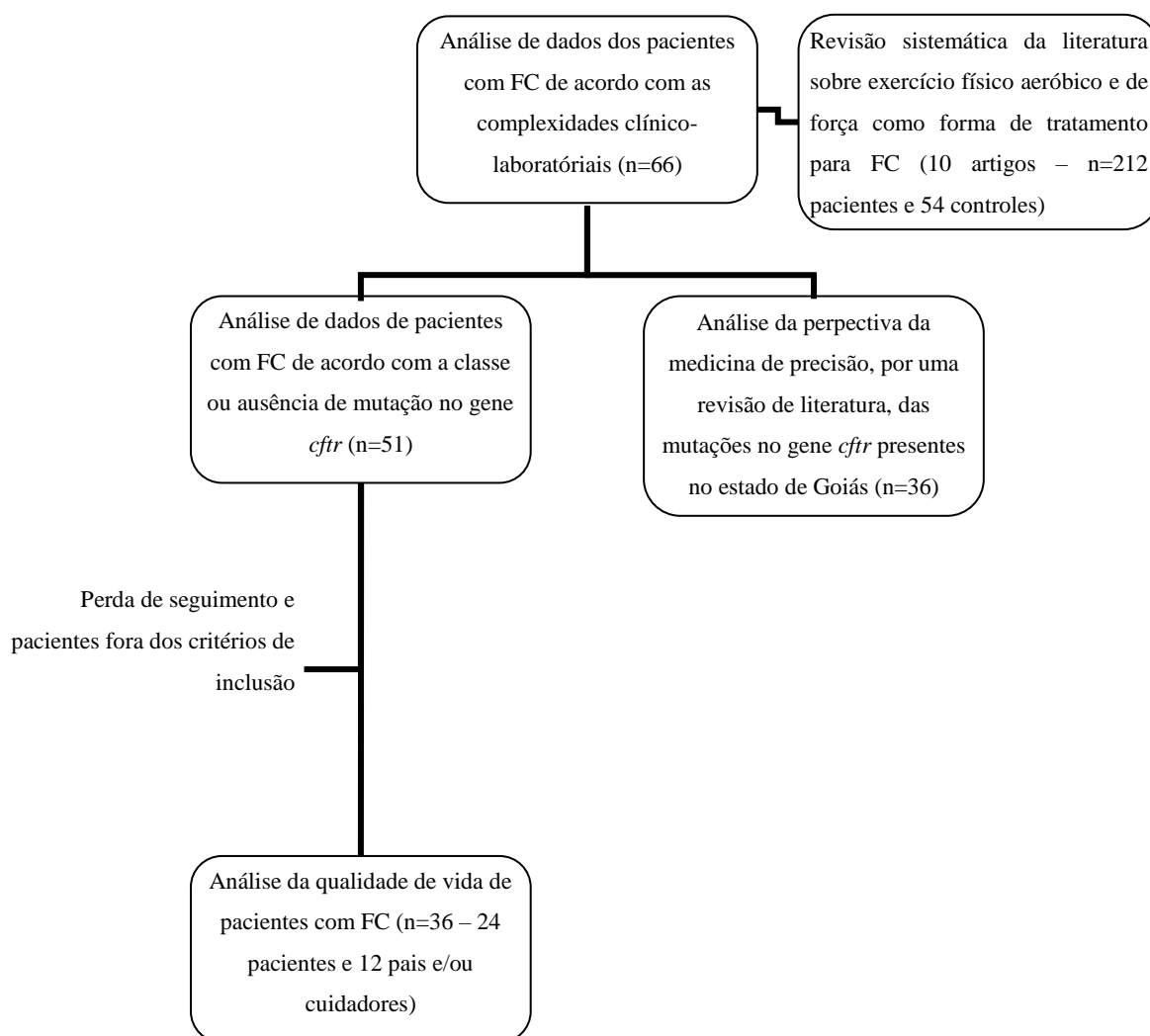
O protocolo do estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Goiás – UFG, número do parecer 2.017.126 (Anexo 1). Os aspectos éticos da resolução nº466/12 foram levados em consideração durante a coleta e exposição dos dados. O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndice 1), termo de assentimento (TALE) (Apêndice 2) e o TCLE para responsável (Apêndice 3) foram devidamente utilizados.

3.2 COLETA DE DADOS

3.2.1 *Coleta de dados dos pacientes*

Os dados de prontuários foram coletados de pacientes com FC atendidos no ambulatório de FC do Hospital das Clínicas de Goiânia. A coleta foi realizada no período de outubro de 2016 a outubro de 2018. A coleta de dados abrangeu aspectos demográficos, clínicos e laboratoriais. Analisamos, em especial, as seguintes variáveis: idade do paciente ao diagnóstico, valor do cloro no teste do suor, escore clínico SK, IMC (para pacientes com menos de 20 anos e para pacientes acima de 20 anos), escore z do IMC, insuficiência pancreática (IP), volume expiratório forçado no primeiro segundo predito (VEF₁%). O instrumento utilizado para coleta de dados dos prontuários está disponível no Apêndice 4. Os dados genotípicos também foram coletados dos registros médicos do paciente, a maioria deles detectados usando a plataforma Illumina HiSeq. O número de pacientes cujos dados foram coletados foi variável ao longo da pesquisa (Figura 5).

Figura 5 – Percurso da composição das amostras dos estudos



FC = fibrose cística. Modelo extraído de: FORMIGA, 2009.

3.2.2 Questionários de Qualidade de Vida

A qualidade de vida dos pacientes foi avaliada utilizando quatro versões de questionários de Qualidade de vida em Fibrose Cística (CFQ - R) (Anexo 8) traduzidos e validados em português (ROZOV et al., 2006). Os critérios de inclusão foram: pacientes com estudo de mutações *cfr*; e assinar o TCLE, TALE e TCLE para responsáveis. Os critérios de exclusão foram: pacientes com acometimento neurológico que impedisse a compreensão dos questionários; pacientes com dois ou mais sinais de clínicos de exarcebação. Os questionários contemplam os pacientes, pais e/ou cuidadores distribuídos conforme: pacientes com 6 a 11 anos; pacientes

entre 11 e 12 anos; pacientes maiores de 14 anos e; pais e/ou cuidadores. As coletas dos questionários foram realizadas durante a consulta dos pacientes. Os questionários dos pacientes entre 6 e 11 anos foram aplicados pelo pesquisador responsável, os demais questionários foram respondidos pelo paciente/responsável de forma individual, com auxílio somente quando solicitado pelo indivíduo. Previamente, os pacientes responderam um questionário de estabilidade clínica (Anexo 9).

A análise da HRQoL do genótipo do paciente com FC foi realizada organizando os pacientes em dois grupos genéticos: pacientes com mutações de classe I ou II; e pacientes com mutações de classe IV ou V. Pacientes heterozigotos que tinham mutações de classe IV ou V e outra classe de mutação I ou II foram alocados na classe IV e V. Caso de heterozigose composta, mutações mais leves são prevalentes no fenótipo. Pacientes com mutação de classe desconhecida tiveram dados analisados de acordo com a classe do segundo alelo, quando aplicável.

3.2.3 Dados bibliográficos de fármacos para FC

Os dados foram coletados no período de janeiro a setembro de 2018, utilizando as seguintes bases de dados eletrônicas: PubMed, LILACS, MEDLINE, CAPES e SciELO. Os descritores utilizados na busca foram selecionados por meio de Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) e *Medical Subject Headings* (MeSH): regulador da condutância transmembrana da fibrose cística; terapia medicamentosa; ensaio clínico. Os descritores foram utilizados em português, inglês e espanhol. Além disso, termos sinônimos foram aplicados para aumentar a recuperação de dados. Os dados dos ensaios clínicos foram pesquisados no ClinicalTrials.gov, EudraCT ou site da respectiva empresa, usando o número do estudo clínico ou o nome do medicamento.

3.2.4 Dados bibliográficos de exercícios para FC

Os dados foram coletados de janeiro a fevereiro de 2018. A revisão sistemática foi realizada utilizando as seguintes bases de dado: PEDro (Base de Dados de Evidência em Fisioterapia), LILACS, MEDLINE, PubMed, SCIELO, BIREME e Portal de Periódicos da CAPES. Os DECS utilizados foram: fibrose cística; exercício aeróbico; treinamento resistido. O DECS foi usado em três idiomas diferentes para os estudos selecionados, português, inglês e espanhol. Os critérios de inclusão foram: estudos primários com exercício físico e pacientes com FC; artigos

publicados em português, espanhol e inglês, no período de 1983 a abril de 2017; e estudos que avaliassem os efeitos do exercício físico aeróbico e do treinamento de força como possibilidade de melhorar o prognóstico de pessoas com FC, considerando que o indivíduo aderiu ao programa de exercícios de forma regular e contínua. Como critério de exclusão: artigos com dados secundários; artigos de revisão de literatura; e artigos não disponíveis na íntegra.

Em seguida, aplicou-se o teste de relevância proposto por Pereira e Bachion (2006). Para o teste de relevância I, os resumos foram registrados para posterior avaliação de acordo com os critérios de inclusão e exclusão. Para o teste de relevância II, manuscritos completos selecionados pela triagem do teste de relevância I foram avaliados para coleta e análise de dados. Os artigos selecionados pelos testes de relevância I e II foram avaliados por dois pesquisadores diferentes. Em caso de discordância, uma reunião de consenso foi realizada com um terceiro pesquisador. A concordância entre os pesquisadores nos testes de relevância foi avaliada pelo coeficiente kappa (k) que garantiu a confiabilidade e a precisão da análise (PERROCA; GAIDZINSKI, 2003). Além disso, uma avaliação qualitativa usando a escala PEDro foi realizada de forma independente pelos pesquisadores, seguida de um teste de concordância usando o coeficiente k.

3.3 ANÁLISE DE DADOS

Todos os dados foram tabulados no Excel e analisados no SPSS (Statistical Package For Social Sciences) versão 23.0. A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk (n válido <49). Análise descritiva foi realizada com cálculo de média, desvio padrão, valores mínimos e máximos para as variáveis absolutas e de frequência e porcentagem para as relativas. Foi adotado $p < 0,05$.

3.3.1 Artigo “Early diagnosis of cystic fibrosis is a more relevant factor on Shwachman-Kulczycki score than highly increased values of sweat test”

O teste Kruskal Wallis com correção de Bonferroni foi utilizado para análise de escore clínico SK e One Way ANOVA com Tukey Post Hoc para os testes de suor na primeira e segunda dosagem, entre os grupos genéticos: F508del positivo; F508del negativo; outras mutações; genótipo desconhecido. O teste Mann Whitney U foi utilizado para comparar as variáveis referentes à pacientes que faziam fisioterapia

ou não fisioterapia; e Spearman para correlações entre escore clínico SK, idade de diagnóstico e número de internações.

3.3.2 Artigo “The role of cftr mutation classes in the age of diagnosis in cystic fibrosis patients”

O teste t de amostras independentes foi realizado para comparar as médias entre os grupos genéticos, classes I / II e classes IV / V. Utilizou-se o One Way ANOVA com Tukey Post Hoc para comparação do escore clínico de SK e cloreto de suor entre os grupos das classes I / II, IV / V e sem mutação de *cftr*. A correlação de Spearman foi realizada entre a idade do diagnóstico e o IMC de pacientes com menos de 19 anos e Pearson para correlação entre: escore de SK e VEF1%, IMC <19 anos, escore z de IMC; VEF1% e idade, IMC <19 anos, z-escore do IMC. A regressão linear foi realizada para associação entre variáveis contínuas VEF1% e escore SK.

3.3.3 Artigo “Health-related quality of life: clinical data associations in cystic fibrosis patients”

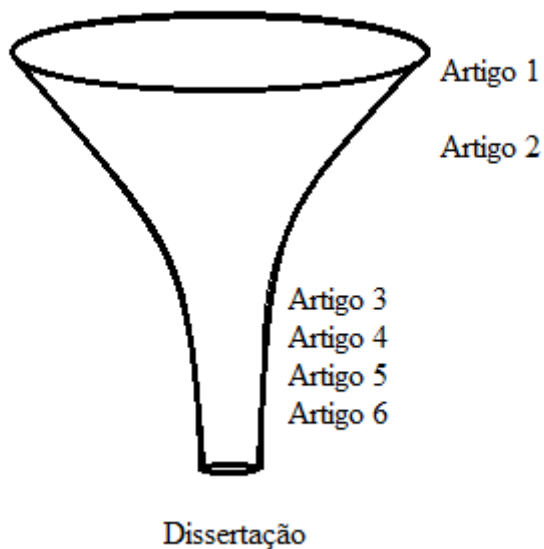
O Teste Independente de Amostras foi realizado com o objetivo de comparar as médias entre os grupos genéticos, pacientes com idade entre 6 e 13 anos e acima de 14 anos, entre 6 e 13 anos e pais e / ou cuidadores, e entre pacientes do sexo masculino e feminino.

A correlação de Spearman foi utilizada para associações entre: índice de cloro no suor e domínios respiratório, imagem corporal, emocional e escore total do CFQ-R, em pacientes de 6 a 13 anos; cloreto de suor e domínio digestivo, em pacientes com mais de 14 anos; IMC e domínio de peso, em pacientes com mais de 20 anos; idade e domínios imagem corporal, alimentação, tratamento, escore total do CFQ-R; cloro e tratamento do suor, em todos os pacientes com FC. A correlação de Pearson foi utilizada para associações entre: idade do diagnóstico e domínios respiratórios e digestivos; Escore SK e domínio da imagem corporal; IMC e domínio digestivo; VEF1% e escore total do CFQ-R, todos em pacientes com mais de 14 anos; idade e domínio respiratório; diagnóstico de idade e domínio respiratório; Escore do SK e domínio do tratamento, em todos os pacientes com FC.

4. PUBLICAÇÕES

A ordem dos artigos foi baseada no grau de aprofundamento e especificidade dos dados, independente da ordem cronológica em que os estudos foram realizados ou em relação a impacto da publicação. Dessa forma, os artigos estão dispostos de uma abrangência mais ampla do conteúdo para o conteúdo mais específico, como apresentado na Figura 6.

Figura 6. Representação da ordem dos estudos realizados.



Artigo 1 – Aspectos genéticos e clínicos da Fibrose Cística

Yasmim Queiroz Santos; Lucieli Boschetti Vinhal; Cristiane Alves da Fonseca do Espírito Santo; Flávio Monteiro Ayres.

Revista Enciclopédia Biosfera (Publicado) Qualis B3 - Interdisciplinar

Artigo 2 – *Early diagnosis of cystic fibrosis is a more relevant factor on Shwachman-Kulczycki score than highly increased values of sweat test*

Yasmim Queiroz Santos; Cristiane Alves da Fonseca do Espírito Santos; Lucieli Boschetti Vinhal; Lusmaia Damaceno Camargo Costa; Marília da Silva Garrote; Flávio Monteiro Ayres.

Revista Rios (Submetido) Qualis B2 – Interdisciplinar

Artigo 3 – *The role of cftr mutation classes in the age of diagnosis in cystic fibrosis patients*

Yasmim Queiroz Santos; Cristiane Alves da Fonseca do Espírito Santos; Lucieli Boschetti Vinhal; Lusmaia Damaceno Camargo Costa; Lorena Junqueira Almeida Prado; Flávio Monteiro Ayres.

Revista Ciência & Saúde Coletiva Qualis B2 – Interdisciplinar

Artigo 4 – *Health-related quality of life: clinical data associations in cystic fibrosis patients*

Yasmim Queiroz Santos; Clarissa Dal Molin dos Santos; Lorrany Martins da Silva; Lucieli Boschetti Vinhal; Lusmaia Damasceno Camargo Costa; Cibelle Kayenne Martins Roberto Formiga; Flávio Monteiro Ayres.

Journal Brasileiro de Pneumologia Qualis B1 - Interdisciplinar

Artigo 5 – *Genotypic analysis of the gene cftr in midwest region of Brazil and precision medicine: new possibilities*

Yasmim Queiroz Santos; Marc Alexandre Gigonzac; Flávio Monteiro Ayres.

Journal Pulmonology Qualis B1 - Interdisciplinar

Artigo 6 – *Benefits of aerobic exercise and strength training in cystic fibrosis patients – a systematic review of literature*

Yasmim Queiroz Santos; Clarisse Dal Molin; Gleici Mendonça; Flávio Monteiro Ayres.

Revista Fisioterapia e Pesquisa Qualis B1 – Interdisciplinar

4.1 Artigo 1. Aspectos genéticos e clínicos da Fibrose Cística



ASPECTOS GENÉTICOS E CLÍNICOS DA FIBROSE CÍSTICA

Yasmim Queiroz Santos¹, Lucieli Boschetti Vinhal²; Cristiane Alves da Fonseca do Espírito Santo³; Flávio Monteiro Ayres⁴.

1. Bacharel em Fisioterapia e discente no Programa de Mestrado em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde pela Universidade Estadual de Goiás, Goiânia - Goiás yasmimqsantos@gmail.com
2. Mestre Profissional em Fisioterapia Intensiva e docente do curso de Fisioterapia da Universidade Estadual de Goiás.
3. Mestre em Biologia e docente dos cursos de Ciências Biológicas e Farmácia da Universidade Estadual de Goiás.
4. Doutor em Controle de Funções Biológicas e docente dos cursos Fisioterapia, Mestrado em Ciências Moleculares e Mestrado em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde da Universidade Estadual de Goiás.

Recebido em: 08/04/2017 – Aprovado em: 10/06/2017 – Publicado em: 20/06/2017
DOI: 10.18677/EnciBio_2017A122

RESUMO

A Fibrose Cística (FC) é um distúrbio de herança autossômica recessiva causada por milhares de mutações no gene CFTR, cuja gravidade correlaciona-se com a atividade protéica remanescente. A doença ocorre em 1/2.000 a 1/4.000 caucasianos, sendo rara entre africanos e asiáticos. As complicações envolvem o bloqueio de ductos e vias aéreas, além de pneumopatia grave, insuficiência pancreática digestiva com potencial subnutrição crônica, obstrução do cólon pelo íleo meconial e inflamação dos seios nasais. Entre as doenças raras, a FC é a segunda mais prevalente, atrás apenas da anemia falciforme. O tratamento da FC é multidisciplinar baseado em sintomatologia e prevenção sendo importante o conhecimento atualizado da doença por parte de todos os profissionais da área da saúde. Nesse sentido, selecionados os trabalhos científicos mais relevantes na literatura em relação ao tema, e elaborado uma revisão sobre Fibrose Cística abordando os seguintes tópicos: introdução, genética, fisiopatogenia, microbiologia das infecções pulmonares, manifestações clínicas, diagnóstico, tratamento e prognóstico.

PALAVRAS-CHAVE: doenças raras, genética, mucoviscosidade

GENETICS AND CLINICAL APPROACH ON CYSTIC FIBROSIS – A LITERATURE REVIEW

ABSTRACT

Cystic Fibrosis (CF) is an autosomal recessive disorder caused by thousands of mutations in the CFTR gene, whose severity correlates with the remaining protein

activity. The disease occurs in 1 / 2,000 to 1 / 4,000 Caucasians, is rare among Africans and Asians. Complications involving the blocking ducts and airways, as well as severe lung disease, digestive pancreatic insufficiency with potential chronic malnutrition, colon obstruction by meconium ileus and inflammation of the sinuses. Among the rare diseases, FC is the second most prevalent, behind sickle cell anemia. The treatment of CF is multidisciplinary based on symptoms and prevention is important to the current knowledge of the disease by all health professionals. In this sense, we selected the most relevant scientific papers in the literature regarding the subject and prepared a review of Cystic Fibrosis addressing the following topics: introduction, genetics, pathophysiology, microbiology of lung infections, clinical manifestations, diagnosis, treatment and prognosis.

KEYWORDS: Mucoviscosity, genetics, rare diseases.

INTRODUÇÃO

A Fibrose Cística (FC), ou doença do beijo salgado, é um distúrbio genético autossômico recessivo (NUSSBAUM et al., 2002), causado por mutações no gene *cftr*, com uma incidência de aproximadamente 1 em 2.500 caucasianos e uma frequência de portadores de 1 em 25 (DORNELAS et al., 2000; NUSSBAUM et al., 2002; SARAIVA-PEREIRA et al., 2011). Esse gene codifica a proteína CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*, do inglês Reguladora de Condutância Transmembrana de Fibrose Cística) (YOUNG, 2007; FARIA et al., 2009).

Em 2014, estima-se que cerca de 2.000 mutações já haviam sido encontradas (MARSON et al., 2015). Há correlação entre as frequências das mutações no gene *cftr* com a origem étnica e região demográfica dos pacientes com FC. Devido à alta taxa de miscigenação, a população brasileira possui uma grande heterogeneidade alélica do gene *cftr*, sendo variável também de estado para estado (SARAIVA-PEREIRA et al., 2011).

O comprometimento gastrointestinal e pancreático é comum, especialmente, em recém-nascidos com FC. Mais recentemente, o comprometimento respiratório em crianças com FC tem recebido enfoque observacional com intensa discussão sobre a avaliação prognóstica de progressão precoce da doença. Vale ressaltar, que os sinais e sintomas de progressão são individuais e variáveis (VANDEVANTER et al., 2015).

O diagnóstico pelo teste de suor é considerado padrão ouro. O exame realizado duas vezes em momentos diferentes, com dosagens de cloreto maior que 60 mEq/L, são tidos como determinantes na detecção da FC (DAL'MASO et al., 2013). Este artigo tem como objetivo revisar os mecanismos moleculares e os aspectos clínicos concernentes à FC.

GENÉTICA

O gene *cftr*, identificado em 1989 (VOGEL & MOTULSKY, 2000; NUSSBAUM et al., 2002), possui 27 éxons distribuídos em 250 kb entre as bandas cromossômicas 7q31-2 (YOUNG, 2007). Ao todo, milhões de polimorfismos foram descobertos nesse gene pelo estudo do genoma humano em busca de alterações genéticas com expressão fenotípica de FC (CORVOL et al., 2015). Concomitante com a identificação do gene *cftr*, também foi descoberta a primeira mutação relacionada à FC (VOGEL & MOTULSKY, 2000; NUSSBAUM et al., 2002), que se trata de uma deleção de três nucleotídeos que compõe o códon para fenilalanina na

posição 508 ($\Delta F508$), conforme descrito no Quadro 1 (NUSSBAUM et al., 2001; SELIMOVIC et al., 2015).

Essa mutação é responsável por 66% a 80% dos fenótipos de FC em todo o mundo (BORTHWICK, 2011; SARAIVA-PEREIRA et al., 2011; PEREIRA et al., 2012), sendo também a mutação mais frequente na população caucasiana com a FC (CARAKUSHANSKY, 2001; FARIA et al., 2009; OTTO, 2013). Segundo a versão provisória do Relatório Brasileiro de Fibrose Cística do ano 2014 – RBFC/2014 (REGISTRO BRASILEIRO DE FIBROSE CÍSTICA, 2014), essa porcentagem no Brasil é estimada em 47,48%, podendo variar conforme as regiões do país.

QUADRO 1 – Descrição dos alelos selvagem e mutado $\Delta F508$ no gene *cftr*.

Alelo Selvagem								
Códon #	504	505	506	507	508	509	510	511
Sequência	GA	AAT	ATC	ATC	<u>TTT</u>	GGT	GTT	TCC
Aminoácido	Glu	Asn	Ile	Ile	Phe	Gly	Val	Ser
Alelo Mutado $\Delta F508$								
Sequência	GA	AAT	ATC	AT-	- - T	GGT	GTT	TCC
Aminoácido	Glu	Asn	Ile	Ile	-	Gly	Val	Ser

Fonte: adaptada de NUSSBAUM et al. (2001) e SELIMOVIC et al. (2015).

A maioria das quase 2.000 mutações restantes do gene *cftr* são raras (MARSON et al., 2015), sendo quatro mutações com frequência alélica acima de 1% entre os indivíduos afetados: p.Gly542X, p.Gly551Asp, p.Asn1303Lys e p.Trp1282X em estatística mundial (SARAIVA-PEREIRA et al., 2011). A frequência e a distribuição das mutações no *cftr* variam de acordo com a origem étnica e a localização geográfica dos pacientes com FC (SINGH et al., 2015). A população brasileira, devido à alta taxa de miscigenação, possui uma relevante heterogeneidade alélica do gene, variável também de estado para estado (SARAIVA-PEREIRA et al., 2011).

Até 2001, inexistiam estudos epidemiológicos ou de *screening* neonatal que reportassem a real frequência dos alelos mutados causadores da FC nas diversas regiões do Brasil (CARAKUSHANSKY, 2001). Mais recentemente, houve um crescimento acelerado e benéfico sobre as informações da FC no país. Um exemplo importante desse crescimento é o RBFC/2014 (REGISTRO BRASILEIRO DE FIBROSE CÍSTICA, 2014), com dados relativos às estimativas das frequências genotípicas, descrição das mutações e demais dados de relevância clínica.

O *cftr* codifica uma proteína de 170 kDa composta por 1.480 aminoácidos (YOUNG, 2007) com função de canal direto para transporte íon cloro através da membrana apical ao interior da célula (PASTERNAK, 2002; SARAIVA-PEREIRA et al., 2011). Não obstante, a sequência primária de aminoácidos dessa proteína indica

ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.14 n.25; p. 1462 2017

que esta pertence à família ABC (*ATP-binding cassette*, do inglês cassete ligante de ATP) de proteínas de transporte (NUSSBAUM et al., 2002), cuja função característica é o transporte de moléculas como: glicídios, peptídeos, fosfato inorgânico, cloreto e cátions de metais (LIMA, 2012). A CFTR é processada no retículo endoplasmático e Golgi por reação de glicosilação e transportada, já dobrada, como proteína glicosilada de membrana (SARAIVA-PEREIRA et al., 2011). Estruturalmente, a proteína é formada por dois domínios repetidos e simétricos, que são compostos por uma região hidrofóbica transmembrana e uma região hidrofílica que possui uma zona de união com ATP (CARAKUSHANSKY, 2001; SARAIVA-PEREIRA et al., 2011).

Funcionalmente, a proteína CFTR possui cinco domínios: dois domínios membranares (MSDs), cada um com seis sequências membranares; dois domínios de ligação-(ATP) de nucleotídeos (NBDs); e um domínio regulador (R) com múltiplos sítios de fosforilação. O poro do canal de cloro (Cl⁻) é formado por 12 segmentos transmembranares. A energia utilizada para transporte de íons é resultante da hidrólise de ATP ligado aos domínios NBDs, sendo que a regulação do canal é mediada, pelo menos em parte, pela fosforilação do domínio R (NUSSBAUM et al., 2002). As mutações do gene *cftr* são classificadas em diferentes grupos, de acordo com o mecanismo interrompido pela mutação na proteína CFTR (Figura 1).

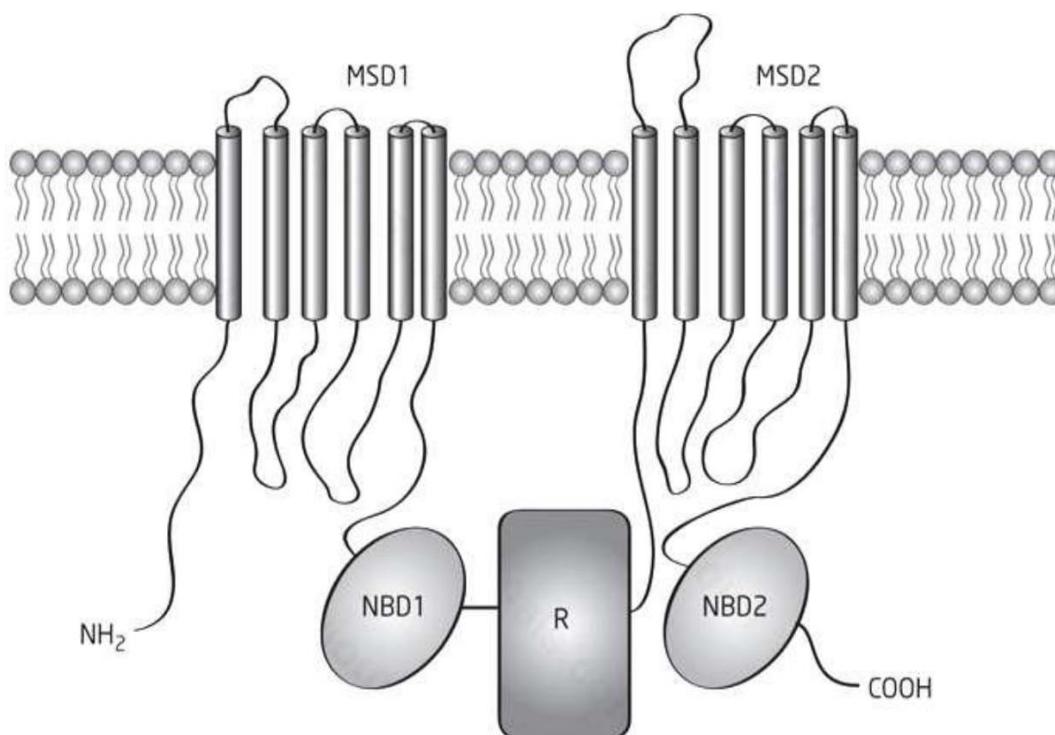


FIGURA 1 – Ilustração esquemática da proteína CFTR, indicando os domínios membranares 1e 2 (MDS1 e MDS2), domínios de ligação-(ATP) de nucleotídeos (NBD1 e NBD2), domínio regulador (R), extremidade amino terminal (NH₂) e extremidade carboxi terminal (COOH).

Fonte: imagem modificada de <http://www.remedicajournals.com/ijcr/BrowseContent/August-2011/ImageOpen.axd?aaid=7624>, acesso em 03.10.2016.

Clinicamente, a mutação $\Delta F508$ é um marcador genético de relevante valor diagnóstico na população do sudeste brasileiro. Entretanto, essa mutação é menos frequente no Brasil que nos EUA, França e Argentina, porém mais frequente que entre mexicanos (MIRANDA et al., 1993; CABELLO et al., 2003; ALVARES et al., 2004). Essas diferenças ocorrem, pois, a frequência relativa da mutação $\Delta F508$ tem considerável variabilidade entre diferentes regiões geográficas e grupos étnicos distintos (CABELLO et al., 2003). Esses resultados suportam que os pacientes brasileiros são tratados conforme os dados divulgados internacionalmente, apesar de apresentarem um perfil étnico e biológico próprio. A implementação de serviços de diagnóstico multidisciplinar é uma das recomendações para que o devido atendimento seja oferecido aos indivíduos acometidos pela FC (Quadro 2) (ALVARES et al., 2004; DALCIN & SILVA, 2008).

QUADRO 2 – Classes de mutações do gene *cftr* e as alterações decorrentes.

Classe da mutação	Evento mutacional	Alteração bioquímica	Fenótipo de FC
I ^{1,2,3,4}	Mutações sem sentido Mudança no quadro de leitura Alteração no processamento de RNA	Defeito de síntese	Severo
II ^{1,2,3,4}	$\Delta F508$ Mutações de sentido trocado	↓ glicosilação, dobramento incorreto e ausência na membrana celular ↑ degradação	Clássico
III ^{1,3,5}	G551D	Resistência ao AMP cíclico ↓ abertura do canal de cloro Resposta incorreta ao ATP	-
IV ^{1,4}	-	↓ 1/3 o fluxo de íons por defeito de condução	Brando
V ⁵	-	↓ síntese ↓ CFTR na membrana	Brando
VI ⁵	-	↑ degradação	-

Fontes: ¹CARAKUSHANSKY, 2001; ²NUSSBAUM et al., 2002; ³CABELLO, 2011; ⁴SARAIVA-PEREIRA et al., 2011; ⁵DAL'MASO et al., 2013.

Diante do que foi exposto sobre a genética da FC, se a frequência de $\Delta F508$ entre pacientes com fibrose cística brasileiros é inferior ao observado no padrão europeu (MIRANDA et al., 1993; CABELLO et al., 2003; ALVARES et al., 2004), logo a FC entre brasileiros é causada por outras mutações, cujo significado prognóstico é variável e requer medidas de acompanhamento compatíveis.

FISIOPATOGÊNIA

A FC é classificada como uma doença multissistêmica, crônica e progressiva, evidenciando complexidades no âmbito social, emocional e médico (REIS et al., 2000; SELIMOVIC et al., 2015) que afetam cerca de 70.000 indivíduos no mundo (CORVOL et al., 2015). A identificação da FC foi feita entre 1930 e 1940 quando foi descrita como uma doença da infância, com taxa de mortalidade de 80% no primeiro ano de vida (ANDERSEN, 1938; REIS et al., 2000).

A FC é caracterizada por um aumento do nível de sódio (Na^+) e cloreto (Cl^-) (SELIMOVIC et al., 2015). Esse aumento gera uma alteração no transporte, e nos fluxos de cloro e água, realizado através das membranas epiteliais apicais de eletrólitos, ocorrendo desidratação extracelular (MARSON et al., 2015). Como consequência de todo mecanismo patológico, há manifestações no funcionamento das estruturas revestidas por essas membranas, sendo estas: pulmões, pâncreas, intestino, árvore hepatobiliar e no trato genital masculino (NUSSBAUM et al., 2002; TRUJILLANO et al., 2015). A cascata de patogênese pulmonar da FC, para melhor entendimento do processo, está ilustrada na Figura 2.

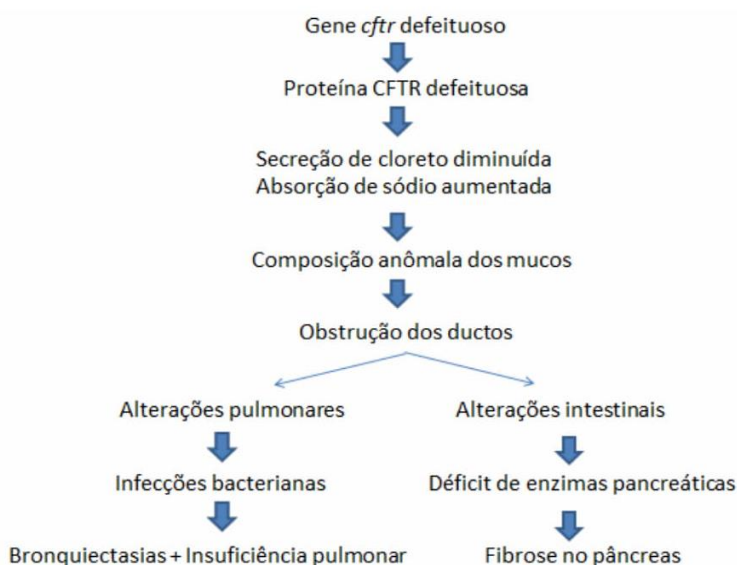


FIGURA 2 – Cascata de patogênese da Fibrose Cística.

Fonte: adaptada de Amaral & Kuzelmann, 2007; Firmida et al., 2011; Vandevanter et al., 2015

As alterações fisiológicas foram melhor descritas para as glândulas sudoríparas, onde o Cl^- no ducto da glândula não poderá alcançar a corrente sanguínea, fluindo pela luz através das células do ducto. Portanto, o gradiente que ativaria a entrada de Na^+ pela membrana apical estará ausente ou diminuído, levando ao aumento da concentração de Na^+ na luz do ducto sudoríparo, em consequência da perda de função da proteína CFTR (NUSSBAUM et al., 2002).

Nas glândulas exócrinas pulmonares, o interior dos canais exócrinos ficam desidratados, como consequência da alteração do fluxo de cloro e de água. Em conjunto, as secreções possuem aspecto viscoso, que favorecem infecções persistentes, comumente por *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. É

possível que a alteração iônica dessas secreções reduza a resistência a patógenos bacterianos e a função antimicrobiana, sendo uma versão para justificar a colonização crônica bacteriana (ANDRADE et al., 2001; FREIRE, 2008).

MICROBIOLOGIA DAS INFECÇÕES PULMONARES

É possível que a alteração iônica das secreções reduza a resistência a patógenos bacterianos e a função antimicrobiana, sendo uma versão para justificar a alta incidência de colonização crônica bacteriana (ANDRADE et al. 2001; FREIRE, 2008). No ano de 1938, quando a FC foi considerada doença, as infecções eram primariamente associadas a *Staphylococcus aureus*, eram tratadas com penicilina e reagiam bem clinicamente, emergindo nos anos 50 e sendo considerado o patógeno mais importante na FC.

Apesar da susceptibilidade às frequentes infecções, os pacientes com FC são predispostos a um número limitado de micro-organismos, permanecendo sem explicações para o que de fato determina essa predileção. Sabe-se, no entanto, que existe uma correlação entre a idade do paciente e a predisposição a colonização por um micro-organismo em particular, como ilustrado na Figura 3 (MARQUES, 2011).

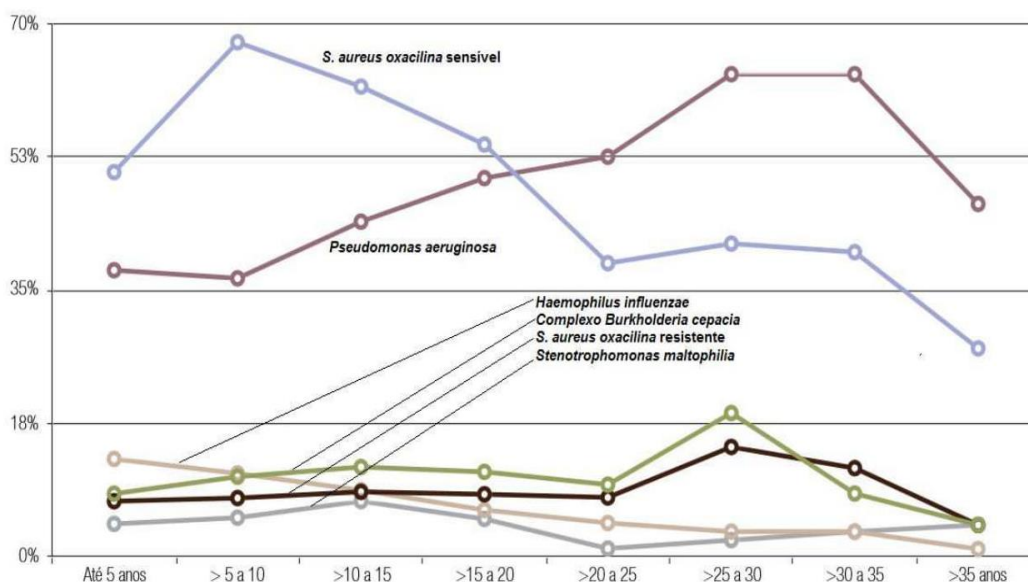


FIGURA 3 - Relação entre microrganismos colonizadores e a idade dos pacientes.

Fonte: Adaptada de REGISTRO BRASILEIRO DE FIBROSE CÍSTICA, 2014.

Pode ser dividido, portanto, em ordem cronológica, a frequência desses micro-organismos com relação à idade. O recém-nascido geralmente não possui micro-organismo colonizador, inicialmente os agentes são predominantemente virais, dois exemplos frequentes: *Staphylococcus aureus*, e *Haemophilus influenzae*. A *Pseudomonas aeruginosa* costuma surgir nos pacientes mais jovens em idade escolar ou adolescente, associadas a um fator mucóide (CASTRO & FIRMIDA, 2011; MARQUES, 2011).

Outros micro-organismos podem ser encontrados, comumente do grupo de Gram negativos não fermentadores, são: Complexo *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas* e *Achromobacter xylosoxidans*. O maior desafio atual para os

laboratórios de microbiologia clínica é reconhecer os micro-organismos, mesmo que não estejam reconhecidos como verdadeiros patógenos, pois a correta caracterização influencia de forma direta nas estratégias de tratamento e controle da infecção (CASTRO & FIRMIDA, 2011; MARQUES, 2011).

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A FC tem sintomas variáveis, tal como o início. Há casos em que apresenta no período neonatal, e casos em que o indivíduo permanece anos assintomático. Entre os sintomas mais comuns estão: tosse crônica, diarreia crônica e desnutrição (REIS & DAMASCENO, 1998). Por ser multissistêmica, as manifestações clínicas podem ser classificadas de acordo com o local de acometimento e alteração fisiopatológica.

Sistema respiratório – o acometimento das vias respiratórias é o aspecto mais crítico da FC, ocorre em mais de 95% dos pacientes, e frequentemente a intensidade está relacionada ao prognóstico final (REIS, 1998). No aspecto anatomofisiológico, as vias aéreas são responsáveis pela proteção dos locais de troca gasosa. No sistema respiratório o muco faz parte do mecanismo de defesa próprio do indivíduo, nesse caso o envolvimento respiratório na FC inicia-se com a produção e retenção de secreções espessas e viscosas dentro dos bronquíolos. As alterações do muco são secundárias a outros eventos como, por exemplo, alteração da condutância dos íons cloreto e colonização crônica (PRADO, 2011; CASTRO, FIRMIDA, 2011). A alteração mais frequente em vias aéreas superiores são a rinossinusite e a polipose nasal, sendo a prevalência de 92 a 100% e 7 a 67%, respectivamente (CASTRO & FIRMIDA, 2011). A FC não provoca alterações na ultraestrutura ciliar, responsável pela mobilização das secreções nas vias aéreas superiores e inferiores, protegendo da entrada de partículas e germes (II DIRETRIZES BRASILEIRAS NO MANEJO DA TOSSE CRÔNICA, 2006), também conhecida como *clearance* mucociliar, porém nos pacientes com FC ela encontra-se diminuída (CASTRO & FIRMIDA, 2011).

Os sinais e sintomas do comprometimento respiratório são variados, dentre estes: hipersecreção de forma espessa, muitas vezes, purulento; tosse crônica persistente; sibilância e ronos relacionados a obstrução crônica; diâmetro anteroposterior do tórax abaulado; colapsos ou atelectasias; hiperinsuflação pulmonar; pneumotórax espontâneo; fibrose pulmonar; dispneia; *cor pulmonale*; abaulamento do arco pulmonar; em fases mais avançadas da doença podem apresentar hemoptise (REIS, 1998; FIRMIDA et al., 2011).

Sistema digestivo – a principal alteração do sistema digestivo é a insuficiência exócrina do pâncreas (REIS, 1998). A disfunção de 99% da CFTR ocasiona comprometimento do pâncreas, por alteração na passagem de ânions e redução do conteúdo hídrico, e acidez, da secreção pancreática, podendo levar a obstrução dos ductos e fibrose no pâncreas. Esse processo determina a progressão do acometimento pancreático (FIRMIDA et al., 2011). Os pacientes no caso de comprometimento pancreático têm como sintomatologia: diarreia crônica, fezes volumosas, amarelo palha, brilhantes, gordurosas e fétidas. As manifestações gastrointestinais em geral são secundárias a alteração pancreática. A obstrução canalículos pancreáticos por tampões mucosos impedem a liberação das enzimas para o duodeno, determinando má digestão de gorduras, proteínas e carboidratos (ROSA et al., 2008). A forma mais precoce da FC no sistema digestivo é o íleo meconial, com prevalência de 15 a 20% em recém-nascidos, mas apenas essa

mesma porcentagem tem FC quando apresenta íleo meconial (REIS, 1998). A CFTR é o único canal de cloro na membrana celular apical, do intestino, portanto, a disfunção compromete a secreção de cloreto para o lúmen intestinal, como consequência o material fecal fica espesso (FIRMIDA et al., 2011).

Déficit de crescimento – quando há oferta nutricional suficiente e o lactente não consegue ganhar peso, provavelmente, será por problemas de má absorção. No caso de desnutrição protéica calórica sugere-se a presença de FC.

Suor hipertônico – uma das referências mais antigas da FC, diz respeito a um dizer folclórico norte-europeu, apresentado no Almanaque de Canções e Jogos para Crianças: “Infeliz da criança que, quando beijada na fronte, apresente sabor salgado. Ela está fadada a morrer precocemente” (WELSH, & SMITH, 1995).

Outras manifestações atípicas – cirrose hepática biliar focal, litíase biliar, hipertensão portal com esplenomegalia e varizes esofageanas, doença celíaca, doença de crohn e pancreatite crônica (REIS, 1998).

DIAGNÓSTICO

Diagnóstico pré-implantacional – envolve o estudo de tecido embrionário, coletado por punção em caso de fertilização assistida (SARAIVA-PEREIRA et al., 2011).

Diagnóstico pré-natal – inicialmente, ocorre sob a forma de aconselhamento genético, no qual pais portadores, por exemplo, tem 25% de chances de terem os dois alelos mutados de *cfr* transmitidos para a prole. As quase 2.000 mutações alélicas podem ser identificadas em homozigose ou heterozigose por testes genéticos, bem como o diagnóstico de FC pode ser excluído pela detecção de alelos selvagens (CARAKUSHANSKY, 2001).

Diagnóstico neonatal – um teste de triagem genética universal da FC é inaplicável até que 95% das mutações sejam identificadas, o que é de difícil alcance devido ao elevado número de mutações já identificadas no gene *cfr* (CARAKUSHANSKY, 2001; NUSSBAUM, et al., 2002).

No Brasil, as Diretrizes Clínicas na Saúde Suplementar (ASSOCIAÇÃO MÉDICA BRASILEIRA, 2011) sobre o diagnóstico e tratamento da FC recomendam o “teste do pezinho” para verificar o nível da imunotripsina reativa (IRT) como triagem de FC em todos os recém-nascidos. A IRT é uma enzima pancreática que frequentemente se eleva como consequência secundária da FC. Esse método, entretanto, é sujeito a resultados falso negativos e os resultados positivos não são específicos para FC (CARAKUSHANSKY, 2001; NUSSBAUM, et al., 2002; GONÇALVES, 2013). Por isso, os casos com resultado positivo devem ser confirmados pelo teste do suor, considerado padrão ouro de diagnóstico (DAL'MASO et al., 2013). O teste de suor consiste na administração transdérmica de pilocarpina por iontoforese para estimular a transpiração, seguida pela coleta do suor e quantificação do cloro por colorimetria e sódio por fotometria de chama. O critério para realização do teste do suor em neonatos é apresentar, pelo menos, duas semanas de vida ou peso > 2kg (CABELLO et al., 2003; FOLESCU & COHEN, 2011; SELIMOVIC et al., 2015).

O teste da medida da diferença de potencial nasal (DPN) mede *in vivo*, o lado interno e externo da célula epitelial da mucosa nasal, para determinar a diferença de potencial existente, o qual é comparável a diferença de potencial da mucosa brônquica. O resultado correlaciona com o transporte de íons através da membrana

celular, especialmente os íons sódio e cloro, sendo que o lado mucoso é mais negativo em comparação com o lado intracelular. O valor de referência normal é em torno de -20mV. Na FC, esses valores estão cerca de duas vezes mais negativos, sendo possível ser utilizado como um teste complementar de diagnóstico (PROCIANOY, 2011).

Em regiões com elevada frequência da mutação $\Delta F508$, a detecção de um alelo heterozigoto com essa mutação em associação com significativa elevação da IRT sugerem fortemente o diagnóstico de FC. Nesse caso, o diagnóstico é confirmado pelo teste do suor. Os casos de detecção de homozigose da mutação $\Delta F508$ permitem o imediato diagnóstico de FC (CARAKUSHANSKY, 2001; NUSSBAUM et al., 2002).

Diagnóstico além do período neonatal – tem como procedimento inicial a investigação clínica de manifestações típicas pulmonares e/ou gastrointestinais e/ou história típica da doença em parente próximo, seguida pelo teste do suor. Resultados com concentração de cloreto no suor acima de 60mEq/l permitem o diagnóstico da FC, enquanto os valores normais de referência variam entre 45 a 60mEq/l.E (CARAKUSHANSKY, 2001; RIBEIRO et al., 2002).

Entretanto, os dados epidemiológicos sobre FC nas regiões sul e sudeste do Brasil revelam que 13% dos pacientes com FC apresentaram dosagens de cloro no suor inferior a 60 mEq/l, enquanto os valores reduzidos do cloro em pacientes com FC no resto do mundo são próximos a 2% (ALVARES et al., 2004). Esse contexto caracteriza o diagnóstico genético molecular da FC como uma ferramenta de diagnóstico precoce eficaz, mesmo quando os exames laboratoriais convencionais não são conclusivos. Apesar de pouco sensível, devido ao grande número de mutações, o diagnóstico genético molecular é altamente preciso e recomendado quando disponível (CARAKUSHANSKY, 2001; RIBEIRO et al., 2002; DAL'MASO, 2013).

Exames complementares – adicionalmente, a avaliação das funções pancreática e pulmonar, análise microbiológica periódica das secreções respiratórias, exames de imagem por radiografia e tomografia são úteis para investigar o grau de progressão, bem como o prognóstico dos pacientes com FC (FOLESCU & COHEN, 2011).

TRATAMENTO E PROGNÓSTICO

A FC é uma doença multissistêmica, crônica e progressiva. Apesar do avanço no conhecimento sobre essa doença, esta não possui cura, sendo recomendado o acompanhamento em centros de referência com equipe multidisciplinar composta, por exemplo, pelo Pneumologista, Fisioterapeuta, Nutricionista, Psicólogo, Enfermeiro e Assistente Social (REIS et al., 2000; PRADO, 2011; SELIMOVIC et al., 2015). Em geral, as terapias disponíveis se restringem a atenuação dos sintomas, sendo ainda limitadas (NETO, 2009). A adesão ao tratamento, como quanto aos diversos aspectos multiprofissionais descritos nesta revisão, é importante e contribui para o aumento da expectativa de vida, passando de dois anos de vida em 1950, para 30 a 40 nos dias de hoje (RIBEIRO et al., 2002; PRADO, 2011). O segundo fator importante é o diagnóstico precoce, com o tratamento sendo realizado antes dos danos pulmonares (ROSA et al., 2008).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Podemos concluir após essa revisão geral que, a fibrose cística é uma doença com alterações moleculares de alta complexidade e curso clínico sistêmico variável. É possível identificar a necessidade de um tratamento específico e individualizado para um maior sucesso no prognóstico. Nesse caso, o conhecimento de toda equipe multiprofissional acerca da doença em todos seus aspectos (genético, fisiológico, afecções bacterianas, diagnóstico e tratamento) pode garantir uma abordagem mais adequada e eficiente para esses pacientes.

AGRADECIMENTOS

YQS foi aluna de IC/PIVIC da Universidade Estadual de Goiás. FMA recebeu auxílio financeiro de Bolsa de Incentivo ao Pesquisador - BIP, concedida pela Universidade Estadual de Goiás. Esta pesquisa é parte do projeto PROEXT2013 (SIGProj N°: 116463.480.94044.13042012), fomentado pelo Ministério da Educação/Secretaria de Educação Superior.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ, A. E.; RIBEIRO, A. F.; HESSEL, G.; BERTUZZO, C. S.; RIBEIRO, J. D. Fibrose cística em um centro de referência no Brasil: característica clínicas e laboratoriais de 104 pacientes e sua associação com o genótipo e a gravidade da doença. **Jornal de Pediatria**, v. 80, n. 5, p. 371 – 379, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2223/1221>> DOI:<http://dx.doi.org/10.2223/1221>

AMARAL, M. D., KUZELMANN, K. Molecular targeting of CFTR as a therapeutic approach to cystic fibrosis. **Trends in Pharmacological Science**. v. 28, n. 7, p. 334–41, 2007. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2007.05.004>> DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2007.05.004>

ANDERSEN, D. H. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: a clinical and pathological study. **American Journal of Diseases of Children**, v. 56, p. 344-99, 1938. Disponível em: <<http://archpedi.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=1177974>> doi:10.1001/archpedi.1938.01980140114013.

ANDRADE, E. F.; FONSECA, D. L. O.; ABREU E SILVA, F. A.; MENNA-BARRETO S. S. Avaliação evolutiva da espirometria na fibrose cística. **Jornal de Pneumologia**. v. 27, n. 3, p. 130-6, 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/%0D/jpneu/v27n3/9224.pdf>>

ASSOCIAÇÃO MÉDICA BRASILEIRA/AGÊNCIA NACIONAL DE SAÚDE SUPLEMENTAR. Fibrose Cística Diagnóstico e Tratamento. Diretrizes Clínicas na Saúde Suplementar, 2011. Disponível em em: <http://diretrizes.amb.org.br/ans/fibrose_cistica-diagnostico_e_tratamento.pdf>

BORTHWICK, L. A., BOTHA, P., VERDON, B., BRODLIE, M. J., GARDNER, A., BOURN, D., JOHNSON, G.E., GRAY, M.A., FISHER, A.J. Is CFTR-delF508 really absent from the apical membrane of the airway epithelium? **PLoS One**. v. 6, n. 8,

e23226, 2011, Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0023226>> .
doi: 10.1371/journal.pone.0023226

CABELLO, G. M. K.; CABELLO, P. H.; ROIG, S. R. S.; FONSECA, A.; CARVALHO, E. C. D. FERNANDES, O. Rastreamento da fibrose cística usando-se a análise combinada do teste de IRT neonatal e o estudo molecular da mutação $\Delta F508$. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 39, n. 1, p. 15-20, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1676-24442003000100004>>

CABELLO, G. M. K. Avanços da genética na fibrose cística. **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto**. v. 10, n. 4, p. 36-45, 2011. Disponível em: <http://revista.hupe.uerj.br/audiencia_pdf.asp?aid2=71&nomeArquivo=v10n4a04.pdf>

CARAKUSHANSKY, G. **Doenças genéticas em pediatria**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 228-237, 2001

CASTRO, M. C. S.; FIRMIDA, M. C. O tratamento na Fibrose Cística e suas complicações. **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto**, Vol. 10, n. 4, 2011.

CORVOL, H.; BLACKMAN, S.M.; BOE"LE,P; GALLINS, P.J.; PACE, R. G.; STONEBRAKER, J. R.; et al. Genome-wide association meta-analysis identifies five modifier loci of lung disease severity in cystic fibrosis. **Nature Communications**, n. 6, v. 8382. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4589222/>> DOI: 10.1038, 2015.

DAL'MASO, V. B.; MALLMANN; L.; SIEBERT, M.; SIMON, L.; PEREIRA, M. L. S.; DALCIN, P. T. R. Diagnostic contribution of molecular analysis of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene in patients suspected of having mild or atypical cystic fibrosis. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v.39, n.2, p.181-189, 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpneu/v39n2/1806-3713-jbpneu-39-2-0181.pdf>> <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132013000200009>

DALCIN, P. T. R.; SILVA, F. A. A. Fibrose cística no adulto: aspectos diagnósticos e terapêuticos. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**. v.34 n.2, p. 107-117,2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jbpneu/v34n2/en_v34n2a08.pdf>

DORNELAS, E. C.; FERNANDES, M. L. M.; GALVÃO, L. C.; SILVA, G. A. Estudo do quadro pulmonar de pacientes com fibrose cística. **Jornal de Pediatria**,v. 76, n. 4, p. 295–290, 2000. Disponível em: <http://www.jpmed.com.br/conteudo/00-76-04-295/port.pdf>

FARIA, E. J.; FARIA, I. C. J.; RIBEIRO, J. D.; RIBEIRO, A. F.; HESSEL, G.; BERTUZZO, C. S. Associação entre os polimorfismos dos genes MBL2, TGF- β 1 e CD14 com a gravidade da doença pulmonar na fibrose cística*. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 35, n. 4, p. 334 – 342, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jbpneu/v35n4/en_v35n4a07.pdf> <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132009000400007>

FIRMIDA, M. C., MARQUES, B. L., DA COSTA, C. H. Fisiopatologia e manifestações clínicas da fibrose cística. **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto**. v. 10, n. 4, 2011. Disponível em: <http://revista.hupe.uerj.br/detalhe_artigo.asp?id=70>

FOLESCU, T. W.; COHEN, R. W. F. Avanços no Diagnóstico da Fibrose Cística – Visão Crítica? **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto**. v. 10, n. 4, p. 59-65. 2011. Disponível em: <http://revista.hupe.uerj.br/detalhe_artigo.asp?id=73>

FREIRE, I. D; ABREU E SILVA, F. A.; ARAÚJO, M. A. Comparação entre provas de função pulmonar, escore de Shwachman-Kulczycki e escore de Brasfield em pacientes com fibrose cística. **Jornal Brasileira de Pneumologia**, v. 34, n. 5, p. 280-287, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jbpneu/v34n5/en_v34n5a06.pdf>
<<http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132008000500006>>

GONÇALVES, L. C. S. **Variações de sequência do gene *cftr* na população pediátrica portuguesa**. Mestrado em biologia celular e molecular. Porto, 2013. Disponível em: <<http://www.remedicajournals.com/ijcr/BrowseContent/August-2011/ImageOpen.axd?aaid=7624>>

II DIRETRIZES BRASILEIRAS NO MANEJO DE TOSSE CRÔNICA, **Jornal Brasileiro de Pneumologia**. v.32, n.6, p. 403-446, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132006001000002>>

LIMA, P. A. V. **Novas Estratégias De Diagnóstico da Fibrose Cística**. Farmácia, Centro Universitário Estadual da Zona Oeste, p. 17 – 28, 2012. Disponível em: <<http://www.uezo.rj.gov.br/tccs/ccbs/paola-ameixoeira.pdf>>

MARQUES, E. A. Perfil Microbiológico na Fibrose Cística. **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 10, n. 4, p. 23-35, 2011. Disponível em: <http://revista.hupe.uerj.br/detalhe_artigo.asp?id=69>

MARSON, F.A. L., HORTENCIO, T. D. R AGUIAR, K. C. A., RIBEIRO, J. D. CYFIUC GROUP. Demographic, clinical, and laboratory parameters of cystic fibrosis during the last two decades: a comparative analysis. **BMC Pulmonary Medicine**, v. 15, n.3, 2015.

MIRANDA, A. B., LLERENA JUNIOR, J., DALLALANA, L. T., MOURA-NETO, R. S., SUFFYS, P. N., DEGRAVE, W. M. Use of PCR for the determination of the frequency of the dF508 mutation in Brazilian cystic fibrosis patients. **Memórias do Instituto Oswald Cruz**. v. 88, n. 2, p. 309-12, 1993. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761993000200022>>

NETO, N. L. **Fibrose cística enfoque multidisciplinar**. Santa Catarina: Secretaria de Estado da Saúde, p. 588, 2009. Disponível em: <<http://www.acam.org.br/images/livro/fcem2aed.pdf>>

NUSSBAUM, R.L., MCINNES, R. R., WILLARD, H. F. **THOMPSON e THOMPSON. Genética Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 49, 2002.

ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.14 n.25; p. 1472 2017

OTTO, P. A.; NETTO, R. C. M.; OTTO, P. G. **Genética médica**. Roca, São Paulo, p. 214-215, 2013.

PASTERNAK, J.J. **Genética Molecular Humana - Mecanismos das Doenças Hereditárias**. Editora Manole, São Paulo, 2002.

PEREIRA, F. F. L.; FIGUEIREDO, R.; PEDROSA, J. F.; ALVIM, C. G.; CAMARGOS, P. A. M.; IBIAPINA, C. C. Escores clínicos e diagnósticos por imagem na fibrose cística, **Revista de Medicina Minas Gerais**, v. 22, n. 22, Supl. 7, p. 32 - 39, 2012. Disponível em: <<http://rmmg.org/artigo/detalhes/642>>

PRADO, S. T. O papel da fisioterapia na Fibrose Cística. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 10, n. 4, p. 118-25, 2011. Disponível em: <http://revista.hupe.uerj.br/detalhe_artigo.asp?id=78>

PROCIANOY, E. F. A. Diferença de potencial nasal: um novo teste para diagnóstico de fibrose cística. **Revista Hospital de Clínicas de Porto Alegre**, v. 31, n. 2, p. 125-130, 2011. Disponível em: <<http://seer.ufrgs.br/index.php/hcpa/article/view/21577/12886>>

REGISTRO BRASILEIRO DE FIBROSE CÍSTICA - RBFC/2014, **Grupo Brasileiro de Estudo de Fibrose Cística**, p. 1 - 34 2014. Disponível em: <www.gbefc.org.br>

REIS, F. J. C.; OLIVEIRA, M. C. L.; PENNA, F. J.; OLIVEIRA, M. DAS G. R.; OLIVEIRA, E. A.; MONTEIRO, A. P. A. F. Quadro clínico e nutricional de pacientes com fibrose cística: 20 anos de seguimento no HC-UFMG. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, n. 4, p. 325-30, 2000. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0104-42302000000400031>>

REIS, F. J. C.; DAMASCENO, N. Fibrose Cística. **Jornal de Pediatria**, v. 74, Supl 2, p. 76-94, 1998. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000121&pid=S0104-1169200300010001000009&lng=pt>

RIBEIRO, J. D.; RIBEIRO, M. A. G. O.; RIBEIRO, A. F. Controvérsias na fibrose cística – do pediatra ao especialista. **Jornal de Pediatria**. v. 78, Supl. 2, p. 171-186, 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jped/v78s2/v78n8a08.pdf>>

ROSA, F. R.; DIAS, F. G.; NOBRE, L. N.; MORAIS, H. A. Fibrose cística: uma abordagem clínica e nutricional. **Revista de Nutrição**, v. 21, n. 6, p. 725-737, 2008.

SARAIVA- PEREIRA, M. L.; FITARELLI-KIEHL, M.; SANSEVERINO, M. T. V. A Genética na fibrose cística. **Revista Hospital de Clínicas de Porto Alegre**, v. 31, n. 2, p. 160–167, 2011. Disponível em: <<http://seer.ufrgs.br/hcpa/article/view/20905>>

SELIMOVIC, A.; MUJICIC, E.; MILISIC, S.; MESIHOVIC-DINAREVIC, S.; DZINOVIC, A.; CENGIC, S. et al. Analysis of Cystic Fibrosis in Federation of Bosnia and Herzegovina. **Medical Archives**. v. 69, n. 4, p. 222-225, 2015. Disponível

em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4610639/pdf/MA-69-222.pdf>>
doi: 10.5455/medarh.2015.69.222-225

SINGH, M.; REBORDOSA,C.; BERNHOLZ, J.; SHARMA, N. Epidemiology and genetics of cystic fibrosis in Asia: In preparation for the next-generation treatments. **Official Journal of the Asian Pacific Society of Respiriology**, v. 20, p.1172- 1181, 2015. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/resp.12656/full>> DOI: 10.1111/resp.12656

TRUJILLANO, D.; WEISS, M. E. R.; KÖSTER, J.; PAPACHRISTOS, E. B.; WERBER, M.; KANDASWAMY, K. K.; et al. Validation of a semiconductor next-generation sequencing assay for the clinical genetic screening of CFTR. **Molecular Genetics & Genomic Medicine**, v. 3, n. 5, p. 396 - 403, 2015. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mgg3.149/epdf>> DOI: 10.1002/mgg3.149

VANDEVANTER, D. R.; KAHLE, J. S.; O'SULLIVAN, A. K.; SIKIRICA, S.; HODGKINS, P. S. Cystic fibrosis in young children: A review of disease manifestation, progression, and response to early treatment. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 15, n. 2, p. 147 - 57, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcf.2015.09.008> >

VOGEL, F.; MOTULSKY, A.G. **Genética Humana** - Problemas e abordagens. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2000.

WELSH, M. J.; SMITH, A. E. The genetic defects underlying this lethal disease have now been shown to eliminate or hobble a critical channel through which a constituent of salt enters and leaves cells. **Scientific American Brasil**, v. 52, n. 9,1995.

YOUNG, I.D. **Genética Médica**. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 92, 2007.

4.2 Artigo 2. Early diagnosis of Cystic Fibrosis is a more relevant factor on Shwachman-Kulczycki score than highly increased values of sweat test

Early diagnosis of cystic fibrosis is a more relevant factor on Shwachman-Kulczycki score than highly increased values of sweat test

Yasmim Queiroz Santos,

Discente do programa de Pós-Graduação Ciências Aplicadas a Produtos da Saúde, Universidade Estadual de Goiás, Bacharel em Fisioterapia; yasmimqsantos@gmail.com ;

Cristiane Alves da Fonseca do Espírito Santos, docente ensino superior, da Universidade Estadual de Goiás, Mestrado pelo Instituto de Ciências Biológica; **Lucieli Boschetti Vinhal**, Docente e Coordenadora adjunta de estágio supervisionado, Universidade Estadual de Goiás, Mestre em fisioterapia em Unidade de Terapia Intensiva; **Lusmaia Damaceno Camargo Costa**, Professora Assistente do Departamento de Pediatria e Coordenadora da Residência em Pneumologia Pediátrica, Universidade Federal de Goiás, Doutorado em Ciências da Saúde; **Marília da Silva Garrote**, Preceptora da faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Pneumologista Pediátrica; **Flávio Monteiro Ayres**, Docente de ensino superior, Universidade Estadual de Goiás, Doutorado em Ciências Médicas e Dentais.

ABSTRACT

Objective: To report clinical and laboratory data according to the $\Delta F508$ mutation of CF patients attended at a referral center in Goiânia, Brazil.

Methods: Retrospective cross-sectional study. The records of 66 patients diagnosed with Cystic Fibrosis treated between January 2015 and September 2016 were analyzed, with the patients grouped as: $\Delta F508$ patients homozygous, $\Delta F508$ patients heterozygous, $\Delta F508$ patients negative and patients genotypes unknown.

Results: The mean age of the patients was 9.30 (± 5.64) years, and the mean diagnosis was 38.50 (± 47.30) months. The mean Shwachman-Kulczycki clinical score was 80.23 (± 17.73). The number of non-white patients was higher than the white patients 43.9% and 18.2%, respectively. The most common form of diagnosis was clinical symptoms 87%. There is a significant difference between the values of the first chlorine level in the sweat test: $\Delta F508$ heterozygous and $\Delta F508$ negative patients; and the second chlorine level in the sweat test: $\Delta F508$ homozygotes and $\Delta F508$ heterozygotes, $\Delta F508$ heterozygotes and $\Delta F508$ negative and $\Delta F508$ heterozygotes and genotype unknown. Between the value of the clinical score SK and the age of the diagnosis there is an inversely proportional and moderate correlation between all the patients. **Conclusion:** Phenotypic

differences between genotypes highlight the importance of genetic diagnosis to elucidate clinical issues and direct a more specific treatment. Early diagnosis was an important factor for a better clinical picture and prognosis, regardless of the mutation of the gene *cftr*.

Keywords: Mucoviscidosis. Genotype. Clinical score.

RESUMO

Objetivo: Relatar dados clínicos e laboratoriais de acordo com a mutação $\Delta F508$ em pacientes com FC atendidos em um centro de referência em Goiânia, Brasil.

Métodos: Estudo retrospectivo de corte transversal. Os registros de 66 pacientes com diagnóstico de Fibrose Cística atendidos entre janeiro de 2015 e setembro de 2016 foram analisados, sendo os pacientes agrupados como: $\Delta F508$ pacientes homozigotos, $\Delta F508$ pacientes heterozigotos, $\Delta F508$ pacientes negativos e pacientes com genótipos desconhecidos.

Resultados: A idade média dos pacientes foi de 9,30($\pm 5,64$) anos e a idade média do diagnóstico de 38,50($\pm 47,30$) meses. A média do escore clínico de Shwachman-Kulczycki foi de 80,23($\pm 17,73$). O número de pacientes não-brancos foi superior aos brancos, 43,9% e 18,2%, respectivamente. A forma de diagnóstico mais comum foi a partir dos sintomas clínicos, 87%. Há uma diferença significativa entre os valores da primeira dosagem de cloro no teste do suor: $\Delta F508$ pacientes heterozigotos e $\Delta F508$ negativos; e da segunda dosagem de cloro no teste do suor: $\Delta F508$ homozigotos e $\Delta F508$ heterozigotos, $\Delta F508$ heterozigotos e $\Delta F508$ negativos e $\Delta F508$ heterozigotos e genótipos desconhecidos. Entre o valor do escore clínico SK e a idade do diagnóstico, há uma correlação inversamente proporcional e moderada entre todos os pacientes.

Conclusão: As diferenças fenotípicas entre os genótipos evidenciam a importância do diagnóstico genético para elucidar questões clínicas e direcionar para um tratamento mais específico. O diagnóstico precoce apresentou ser fator importante para um melhor quadro clínico e prognóstico, independente da mutação no gene *cftr*.

Palavras-chave: Mucoviscidose. Genótipo. Escore Clínico.

INTRODUCTION

Cystic Fibrosis (CF) is a systemic, chronic and progressive genetic disease with autosomal recessive inheritance pattern. Its complexities include social, emotional and medical evidences (AFONSO; GOMES; MITRE, 2015; BERNARDI; RIBEIRO; MAZZOLA et al., 2013; SELIMOVIC; MUJICIC; MILISIC et al., 2015). The disease is caused by almost 2,000 mutations in the *cftr* gene, whose encoded protein functions as a direct transport channel for chlorine ions from the apical

membrane into the cell (FARIA; FARIA; RIBEIRO et al., 2009; SARAIVA-PEREIRA; FITARELLI-KIEHL; SANSEVERINO, 2011; YOUNG, 2007). Changes in the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) protein result in extracellular dehydration and, consequently, pathophysiological manifestations in structures lined by membranes, such as: lungs, pancreas, intestine, hepatobiliary tree and the male genital tract. CF pathophysiological manifestations may range among patients due to the residual CFTR function (TRUJILLANO; WEISS; KÖSTER et al., 2015; VANDEVANTER; KAHLE; O’SULLIVAN et al., 2016).

The disease mainly affects Caucasian people, who are up to 1/2,500 homozygous and 1/25 carriers of mutant alleles (DORNELAS; FERNANDES; GALVÃO et al., 2000; FARIA; FARIA; RIBEIRO et al., 2009; SARAIVA-PEREIRA; FITARELLI-KIEHL; SANSEVERINO, 2011). The first mutation identified in CF patients was a deletion of codon 508 ($\Delta F508$) in *cftr* gene, corresponding to 70% to 80% of the phenotypes worldwide and, markedly, in Caucasians (CORVOL; BLACKMAN; BOËLLE et al., 2015; OTTO; NETO; OTTO, 2013; SELIMOVIC; MUJICIC; MILISIC et al., 2015). Because genotypic screening of CF is likely unfeasible for most patients (SARAIVA-PEREIRA; FITARELLI-KIEHL; SANSEVERINO, 2011), the National Neonatal Screening Program (PNTN) stipulated the immunoreactive trypsin (IRT) and the sweat test as screening for CF in Brazil. The gold standard for diagnosis is the sweat test, which must be performed in duplicate and at different times for the confirmation of CF in case of chloride dosages greater than 60 mEq/L (DAL’MASO; MALLMANN; SIEBERT et al., 2013; DOMINGOS; MAGDALENA; CAT et al., 2015).

In 1958, the Shwachman-Kulczycki Clinical Scale (SK) was firstly described to score CF patient’s general state based on general activity, physical examination, nutrition and radiological findings (KHALILZADEH; HASSANZAD; BAGHAIE et al., 2012; PEREIRA; FIGUEIREDO; PEDROSA et al., 2012; STOLLAR; ADDE; CUNHA et al., 2011). The prognosis and life expectancy of CF patients is dependent on genetic factors and external factors, for example: early diagnosis, adequate treatment, adherence to therapies, among others (DE WATCHER; THOMAS; WANYAMA et al., 2017). In this context, the present study aims to report clinical and laboratory data according to the mutation $\Delta F508$ of patients with CF attended at a reference center in Goiânia, Brazil.

METHODS

DATA COLLECTION AND ETHICAL ASPECTS

This is a descriptive cross-sectional and retrospective study. Data were collected from the records of CF patients attended at a health reference center in Goiânia, Brazil, from January 2015 to September 2016. CF patients (N=66) were divided into four study groups: Δ F508 homozygous patients, Δ F508 heterozygous patients, Δ F508 negative patients and Δ F508 unknown genotype patients. The study protocol was approved by the Research Ethics Board of the Federal University of Goiás (Protocol # 1,724,723).

DATA ANALYSIS

The data were analyzed in SPSS (Statistical Package For Social Sciences) version 23.0, as follows: data normality was assessed by the Shapiro-Wilk test (valid $n < 49$). The Kruskal Wallis tests with Bonferroni Correction for SK analysis and One Way ANOVA with Tukey Post Hoc for sweat test 1 and 2, among groups. We used Mann Whitney U to compare the variables regarding to physical or non-physical therapy; and Spearman for correlations between SK score, age of diagnosis and number of hospitalizations. For all the tests, $p < 0.05$.

RESULTS

An amount of 66 patients had the records reviewed (Table 1), from who 24 had incomplete medical records due to no adherence to the treatment. The mean age of the patients was $9.30 (\pm 5.64)$ in years, ranging from 0 to 21 y. o. The mean age of the diagnosis in months was $38.50 (\pm 47.30)$. The minimum and maximum SK clinical score was 20 and 100 respectively, with a mean of $80.23 (\pm 17.73)$ considered between good and excellent score. Between the sweat test in the first and second moments, the mean values were $88.82 (\pm 36.66)$ and $77.93 (\pm 30.56)$, respectively.

There was a statistically significant difference in the first sweat test, between Δ F508 heterozygous and Δ F508 negative patients ($p=0.033$) (Table 2). In the second sweat test, differences were observed among: Δ F508 homozygous and Δ F508 heterozygous ($p=0.012$), Δ F508 heterozygous and Δ F508 negative ($p=0.022$) and Δ F508 heterozygous and unknown genotype patients ($p=0.021$).

Despite differences in sweat test, there was no difference in SK score between groups. In other hand, an inverse and moderate correlation was found between the SK score and the age of diagnosis. The higher the age of the diagnosis, the lower the SK values ($R=0.320$; $p=0.039$). Also, moderate correlation was found between the SK clinical score and the number of hospitalizations, in which the higher the number of

hospitalizations, the lower the SK values ($R=0.488$; $p=0.001$). No difference in SK score was found between patients who underwent ($78,03 \pm 19,07$) or not physical therapy ($83,30 \pm 18,80$), $p=0,562$ on test Mann Whitney U.

DISCUSSION

CF is a complex disease with a variable clinical course. The broad knowledge about CF its characteristics and prevalence is important to achieve appropriate treatment, especially in the current scenario where there is a growing number of new therapies that rely on subsidies based on patients genotype (FENG et al., 2018; REIS; OLIVEIRA; PENNA et al., 2000). Sex distribution is similar to those found in the literature, however the number of patients classified as non-white is higher than the white patients, explained by region of high miscegenation.

The results of the genotypes among the patients who had the genetic test are similar to those described in the Brazilian studies, and therefore differ from the results of other countries. The decrease in frequency of the $\Delta F508$ mutation in our study, as was also described in the study by Perone et al. (2010) with a frequency of 26.13% patients homozygous $\Delta F508$ and 25.23% $\Delta F508$ heterozygous. The $\Delta F508$ is the most common mutation in Caucasians, therefore there is a variable frequency in other populations.

The mean age of the diagnosis in years was 3.2, higher than in the study by Marson et al. (2015), but lower than the reported by the Brazilian Cystic Fibrosis Registry (2015), of 2.10 and 5.82 years, respectively. In 2002, the Cystic Fibrosis Foundation reported the average age of diagnosis in the United States, as 6 months, a fact that already evidenced the need for new means for the early diagnosis here in Brazil and that is still evident to the present day. In this sense, it is important to emphasize that early diagnosis is related to the reduction of comorbidities and mortality, since the symptomatic treatment offers significant improvement in the clinical (ALVAREZ; RIBEIRO; HESSEL et al., 2004).

The number of patients without genetic tests exceeds the data indicated by the Brazilian Registry of Cystic Fibrosis, where 54.3% of the patients had not performed the test. One possible hypothesis is that these data are variable between states, being more likely to be more frequent in states where there are specialized research teams that contemplate patients' genotypes.

The SK clinical score had an average higher than that found in the study by Marson et al. (2015), which ranged from regular to good. The clinical score SK

between the groups did not present significant difference. Regarding the significance found in our study among the sweat tests performed between the groups, the variation of the sweat test values in relation to the mutation found, as described elsewhere (DE WACHTER et al., 2017). Such a data might be due to the difference according to the mechanism interrupted by the mutation in the protein, presenting residual function at different levels. These values may demonstrate that sweat tests below 60mEq/L do not exclude the diagnosis of CF.

The correlation between SK clinical score and age of diagnosis, demonstrate the importance of early diagnosis in clinical and prognostic patients. The correlation between SK clinical score and the number of hospitalizations, was expected, as described elsewhere (ALVAREZ; RIBEIRO; HESSEL et al., 2004).

Physical therapy in patients with CF, although little explored in scientific articles, is highly indicated and related to better prognosis. CF Patients due to recurrent lung infections may progress to respiratory failure, which is the major cause of death evidencing the importance of respiratory physical therapy as a form of prevention. The treatment should be multidisciplinary, precocious and continuous, enabling a better prognosis and quality of life for the patient (BORTHWICK; BOTHA; VERDON et al., 2011; PEREIRA; FIGUEIREDO; PEDROSA et al., 2012; VANDEVANTER; KAHLE; O'SULLIVAN et al, 2016).

CONCLUSION

Here, we report mean values of sweat test in homozygous $\Delta F508$ lower than the diagnosis consensus in CF patients. The $\Delta F508$ heterozygous, $\Delta F508$ negative and unknown genotype patients had highly increased values of sweat test, but without changes in clinical status by means of SK score. Conversely, there was a correlation between early diagnosis and better scores on the SK clinical score. Thus, CF early diagnosis has a more relevant impact on SK score than highly increased values of sweat test.

REFERENCES

AFONSO, S.B.C.; GOMES, R.; MITRE, R.M. A. Narratives of the parents' experience of children with cystic fibrosis. *Interface*, Botucatu, vol.19, n.2, p.1077-88, 2015.

ALVAREZ, A. E.; RIBEIRO, A. F.; HESSEL, G. et al. Fibrose cística em um centro de referência no Brasil: característica clínicas e laboratoriais de 104 pacientes

e sua associação com o genótipo e a gravidade da doença. *J Pediatr*, vol. 80, n. 5, p. 371-379, 2004.

BERNARDI, D.M.; RIBEIRO, A.F.; MAZZOLA, T.N. et al. The impact of cystic fibrosis on the immunologic profile of pediatric patients. *J Pediatr*, Rio de Janeiro, vol.89, n.1, p.40-47, 2013.

BORTHWICK, L.A.; BOTHA, P.; VERDON, B. et al. Is CFTR-delF508 really absent from the apical membrane of the airway epithelium? *PLoS One*, vol. 6, n.8, e23226, 2011.

CORVOL, H.; BLACKMAN, S.M.; BOËLLE, P. et al. Genome-wide association meta-analysis identifies five modifier loci of lung disease severity in cystic fibrosis. *Nat Commun*, vol. 29, n. 6, e8382, 2015.

DAL'MASO, V.B.; MALLMANN, L.; SIEBERT, M. et al. Contribuição da análise molecular do gene regulador da condutância transmembrana na fibrose cística na investigação diagnóstica de pacientes com suspeita de fibrose cística leve ou doença atípica*. *J BrasPneumol*, vol. 39, n. 2, p. 181- 189, 2013.

DE WATCHER, E., THOMAS, M., WANYAMA, S.S. et al. What can the CF registry tell us about rare CFTR-mutations? A Belgian study. *Orphanet J Rare Dis*, vol. 12, n. 1, e142, 2017.

DORNELAS, E.C.; FERNANDES, M.L.M.; GALVÃO, L.C. et al. Estudo do quadro pulmonar de pacientes com fibrose cística. *J Pediatr*, Rio de Janeiro, vol. 76, n. 4, p. 295-299, 2000.

DOMINGOS, M.T.; MAGDALENA, N.I.; CAT, M.N. et al. Sweat conductivity and coulometric quantitative test in neonatal cystic fibrosis screening. *J Pediatr*, Rio de Janeiro, vol. 91, n. 6, p.590-5, 2015.

FARIA, E.J.; FARIA, I.C.J.; RIBEIRO, J.D. et al. Associação entre os polimorfismos dos genes MBL2, TGF- β 1 e CD14 com a gravidade da doença pulmonar na fibrose cística*. *J Bras Pneumol*, vol. 35, n. 4, p.334-342, 2009.

FENG, L.B.; GROSSE, S.D.; GREEN, R.F.; FINK, A.K.; SAWICKI, G.S. Precision Medicine In Action: The Impact Of Ivacaftor On Cystic Fibrosis-Related Hospitalizations. *Health Aff*, vol. 37, n. 5, p.773-779, 2018.

KHALILZADEH, S.; HASSANZAD, M.; BAGHAIE, N. et al. Shwachman Score in Clinical Evaluation of Cystic Fibrosis. *J Compr Ped*, vol. 3, n. 2, p. 82-5, 2012.

MARSON, F.A.L.; HORTENCIO, T.D.R.; AGUIAR, K.C.A. et al. Demographic, clinical, and laboratory parameters of cystic fibrosis during the last two decades: a comparative analysis. *BMC Pulm Med*, vol. 15, n. 15, p.3, 2015.

OTTO, P.A.; NETTO, R.C.M.; OTTO, P.G. *Genética médica*. Roca, São Paulo. 2013, p. 214-215.

PEREIRA, F.F.L.; FIGUEIREDO, R.; PEDROSA, J.F. et al. Escores clínicos e diagnósticos por imagem na fibrose cística. *Revmed Minas Gerais*, vol. 22, n. 7, p. 32-39, 2012.

PERONE, C.; MEDEIROS, G.S.; DEL CASTILLO, D. M. et al. The Frequency of 8 CFTR gene mutations in cystic fibrosis patients in Minas Gerais, Brazil, diagnosed by neonatal screening. *Braz J Med Biol Res*, vol. 43, n. 2, p. 134-8, 2010.

REIS, F.J.C.; OLIVEIRA, M.C.L.; PENNA, F.J. et al. Quadro clínico e nutricional de pacientes com fibrose cística: 20 anos de seguimento no HC-UFMG. *RevAssocMedBras*, vol. 46, n. 4, p.325-330, 2000.

SARAIVA- PEREIRA, M.L.; FITARELLI-KIEHL, M.; SANSEVERINO, M.T.V. A genética na fibrose cística. *Rev. HCPA*, vol. 31, n. 2, p. 160-167, 2011.

SELIMOVIC, A.; MUJICIC, E.; MILISIC, S. et al. Analysis of Cystic Fibrosis in Federation of Bosnia and Herzegovina. *Med Arh*, vol. 69, n. 4, p. 222-225, 2015.

STOLLAR, F.; ADDE, F. V.; CUNHA, M.T. et al. Shwachman-Kulczycki score still useful to monitor cystic fibrosis severity. *Clinics*, vol. 66, n. 6, p. 979-983, 2011.

TRUJILLANO, D.; WEISS, M.E.R.; KÖSTER, J. et al. Validation of a semiconductor next-generation sequencing assay for the clinical genetic screening of CFTR. *Mol Genet Genomic Med*, vol. 3, n. 5, p. 396-403, 2015.

VANDEVANTER, D.R.; KAHLE, J.S.; O'SULLIVAN, A.K. et al. Cystic fibrosis in young children: A review of disease manifestation, progression, and response to early treatment. *J Cyst Fibros*, vol. 15, n. 2, p. 147-57, 2016.

YOUNG, I. D. *Genética Médica*. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2007,p. 92.

Table 1. Demographic and clinical-laboratory characteristics of patients.

	ΔF508 genotype								Total 100%	
	Homozygous		Heterozygous		Negative		Unknown		n	%
	n	%	n	%	n	%	n	%		
Sex										
Male	1	1.5	1	1.5	3	4.5	32	48.6	37	56.1
Female	3	4.5	2	3.0	2	3.0	22	33.4	29	43.9
Ethnicity										
White	2	3.0	-	-	2	3.0	8	12.1	12	18.2
Non-white	2	3.0	3	4.5	3	4.5	21	31.9	28	43.9
Not informed	-	-	-	-	-	-	25	38.0	25	37.9
Origin										
Goiânia City, Goiás State	2	3.0	2	3.0	1	1.5	11	16.7	16	24.2
Another place	2	3.0	1	1.5	4	6.1	18	27.3	25	37.8
Not informed	-	-	-	-	-	-	25	37.9	25	37.9
Under physiotherapy?										
No	1	1.5	1	1.5	1	1.5	9	13.7	12	18.2
Yes	3	4.5	2	3.0	4	6.1	19	28.8	28	42.4
Not informed	-	-	-	-	-	-	26	39.4	26	39.4
Diagnosis										
Clinical	4	6.1	2	3.0	5	7.6	29	43.9	40	60.6
IRT	-	-	1	1.5	-	-	5	7.6	6	9.1
Not informed	-	-	-	-	-	-	20	30.3	20	30.3
Clinical impairment										
Respiratory tract	-	-	-	-	2	3.0	7	10.8	8	12.1
Digestive tract	1	1.5	2	3.0	3	4.5	8	12.1	14	21.2
Respiratory and digestive tract	3	4.5	1	1.5	-	-	14	21.2	18	27.3
Not informed	-	-	-	-	-	-	25	37.9	26	39.4

IRT = immunoreactive trypsin. Source: author data.

Table 2. Comparison between groups of patients on SK and Sweat Test

	Homozygous	Heterozygous	Negative	Unknown	P*
	Mean (SD)				
SK**	72.5(±23.9)	88.3(±07.63)	95.0(±05.0)	78.0(±17.8)	0,10
Sweat Test 1***	72.3(±38.4)	141.0(±65.1)	69.8 (±23.1)	88.4(±31.6)	0,03*
Sweat Test 2***	49.5(±03.5)	137.5(±41,7)	68.8 (±24.9)	77.1(±26.1)	0,01*

*Significance level of $p < 0.05$. ** Kruskal Wallis test. *** One Way Anova with Tukey Post Hoc. SK = Shwachman-Kulczycki. Source: author data.

4.3 Artigo 3. The role of *cftr* mutation classes in the age of diagnosis in Cystic Fibrosis patients

Title: THE ROLE OF *cftr* MUTATION CLASSES IN THE AGE OF DIAGNOSIS IN CYSTIC FIBROSIS PATIENTS

Authors: Yasmim Queiroz Santos¹; Cristiane Alves da Fonseca do Espírito Santo²; Lucieli Boschetti Vinhal⁴; Lusmaia Damaceno Camargo Costa³; Lorena Junqueira Almeida Prado³; Flávio Monteiro Ayres⁴

Affiliations:

- 1- Universidade Estadual de Goiás – UEG. Campus de Ciências Exatas e Tecnológicas da Universidade Estadual de Goiás. Programa de Mestrado em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde.
- 2- Universidade Estadual de Goiás – UEG. Campus de Ciências Exatas e Tecnológicas.
- 3- Hospital das Clínicas – UFG/HC. Universidade Federal de Goiás – UFG.
- 4- Universidade Estadual de Goiás – UEG. Faculdade do Esporte ESEFFEGO.

Email addresses:

Yasmim Santos: yasmimqsantos@gmail.com

Cristiane Santo: tinina.ueg@hotmail.com

Lucieli Vinhal: luboschetti@hotmail.com

Lusmaia Costa: lusmaiapneumoped@gmail.com

Lorena Prado: lorennajap@gmail.com

Flávio Ayres: flavioayres@yahoo.com

Authors' contribution:

Yasmim Santos: Concepção, delineamento e análise do estudo; interpretação dos dados e redação do artigo.

Cristiane Santo: Concepção e delineamento do estudo.

Lucieli Vinhal: Concepção, delineamento e revisão crítica do estudo.

Lusmaia Costa: Concepção, delineamento e revisão crítica do estudo.

Lorena Prado: Revisão crítica do estudo.

Flávio Ayres: Orientação, concepção, delineamento e análise do estudo; interpretação dos dados, redação do artigo e revisão crítica.

Corresponding author:

Flávio Monteiro Ayres, *Ph.D.*

Professor

Coordenador do Laboratório de Pesquisa em Genética

Universidade Estadual de Goiás

Av. Oeste, 56-250 - St. Aeroporto, Goiânia - GO, 74075-110,

Phone: +55 (62) 3328-1162

Email: flavioayres@yahoo.com

**THE ROLE OF *cftr* MUTATION CLASSES IN THE AGE OF DIAGNOSIS IN
CYSTIC FIBROSIS PATIENTS**

THE *cftr* MUTATION CLASSES IN CF PATIENTS

ABSTRACT

Cystic fibrosis is a genetic disease caused by mutation in *cftr* gene, which is divided into seven mutation classes. Mild and severe phenotypes regards to the class type of mutation in the *cftr* gene. This study aimed to analyze patients with CF according to genotype and phenotype relationship. Patients with class I/II mutations had an earlier diagnosis compared to patients with class IV/V mutations. Patients with CF with class I/II/IV and V mutations had no significant differences regarding clinical status, lung function, BMI and BMI z-score. Patients without identified mutation in the *cftr* gene had a lower chloride value in sweat compared to patients with a class I/II mutation, and a better clinical status compared to patients with mutation in the *cftr* gene. There was no difference between lung function, BMI and BMI z-score between patients with and without mutation in the *cftr* gene. The mutation class influenced the age of diagnosis in CF patients. The similarity between patients may be due to factors such as late diagnosis, modifying genes, haplotype background, and environment. Patients without mutation in the *cftr* gene probably had a CFTR-related disorder, possibly with more CFTR residual function and better clinical status.

Key words: Mucoviscidosis. CFTR Protein. Diagnosis.

**O PAPEL DAS CLASSES DE MUTAÇÃO *cftr* NA IDADE DE
DIAGNÓSTICO EM PACIENTES COM FIBROSE CÍSTICA
AS CLASSES DE MUTAÇÃO *cftr* EM PACIENTES COM FC**

RESUMO

A fibrose cística é uma doença genética causada pela mutação no gene *cftr*. As mutações são divididas em sete classes, sendo os fenótipos brandos e severos relacionados com o tipo de classe da mutação no gene *cftr*. O objetivo desse estudo foi analisar, através de dados de prontuários, a relação genótipo e fenótipo de pacientes com FC. Verificou-se que os pacientes com mutações classe I/II tiveram diagnóstico mais precoce comparado a pacientes com mutações classe IV/V. Os pacientes com FC com mutações classe I/II/IV/V não tiveram diferenças significativas quanto ao estado clínico, função pulmonar, IMC e z-score IMC. Pacientes sem mutação no gene *cftr* apresentaram menor valor de cloro no suor comparados aos pacientes com mutação classe I/II, e melhor estado clínico comparado a pacientes com mutação no gene *cftr*. Pacientes com e sem mutação no gene *cftr* não apresentaram diferença entre função pulmonar, IMC e IMC z-score. A classe da mutação influenciou na idade do diagnóstico nos pacientes com FC. A semelhança entre os pacientes pode ser devido a fatores como diagnóstico tardio, genes modificadores, haplótipo *background*, e ambiente. Pacientes sem mutação no gene *cftr* apresentaram uma desordem relacionada à CFTR, com maior função residual da CFTR e melhor estado clínico.

Palavras-chave: Mucoviscidose. Regulador de Condutância Transmembrana em Fibrose Cística. Diagnóstico.

INTRODUCTION

Cystic fibrosis is a recessive autosomal disease caused by a mutation in the *cftr* gene¹. The *cftr* gene encodes the CFTR protein, an important ion and bicarbonate

channel regulator^{2,3}. Currently, more than 2,000 *cftr* gene mutations have been identified⁴. Mutations are divided into VII classes according to the ruptured mechanism and residual function of CFTR^{5,6}.

The mutation in *cftr* is related to the phenotype of the CF patient⁷. Classes I and II have the most severe phenotypes, usually with a few functional CFTR proteins or even without protein synthesis^{8,9,10}. Classes IV and V are related to milder phenotypes, with functional CFTR proteins in reduced amount or with defective channel conductivity^{11,12}. In cases of composite heterozygous, these classes of mutation are more expressive in the phenotype¹³.

CF patients generally have systemic and diversified severity, normally the organs most affected are the lung and pancreas¹⁴. Salty sweat is a common feature, being the chloride values in the sweat test used for CF diagnosis¹⁵. In the present study, we aimed to evaluate, through medical records, the relationship between genotype and phenotype in CF patients attended in Goiânia, Goiás, Brazil.

METHODS

Ethical aspects and data collection

The study protocol was approved by the Research Ethics Board of the Federal University of Goiás (Protocol #1,724,723).

Data collect

This is a retrospective cross-sectional study with 51 CF patients. Data were collected from the records of CF patients attended at a health reference center in Goiânia, Goiás State, Brazil, from September 2016 to September 2018. Our inclusion criterion was: patients with CF diagnosed by *cftr* genotyping. As exclusion criteria:

patients with clinical diagnosis other than *cfr* genotyping; absence of available medical records.

The following variables were analyzed: sex, white and non-white, age on 31st July 2018, age at diagnosis (in month), sweat chloride (mmol/L), Shwachman-Kulczycki clinical score (SK), BMI (Body Mass Index) for patients under 19 y.o. and for patients over 19 y.o, BMI Z-score (patients under 19 y.o., according to WHO Anthro Plus), pancreatic insufficient (PI), *predict forced expiratory volume in the first second* (FEV₁%). Variables described as “missing data” were those unreported data in the CF patient’s records.

CF patient’s analysis was performed by arranging patients in two genetic groups: CF I, patients with mutations class I or I, and CF II patients with mutations class IV or V. Heterozygous patients who had mutations class IV or V and another mutation class I or II were allocated in CF II. In the case of composite heterozygosis, milder mutation is prevalent in the phenotype¹³. Patients with unknown class mutation had data analyzed according to the class of the second allele, when applicable. We also analyzed patients without *cfr* mutation identified and compared them with the other groups.

Data analysis

The data were tabulated in Excel and analyzed in SPSS (Statistical Package For Social Sciences) version 20.0. The normality of the data was verified using the Shapiro-Wilk test (valid n <49). A descriptive analysis was performed with mean, standard deviation, minimum and maximum values for absolute variables, frequency and percentage for relative variables.

Independent Samples t Test was performed in order to compare the means between the genetic groups, classes I/II and classes IV/V. We used the One Way

ANOVA with Tukey Post Hoc for comparison in SK score and sweat chloride among groups classes I/II, IV/V and without *cfr* mutation. Correlation of Spearman was used between age of diagnosis and BMI < 19 y.o. and correlation of Pearson between: SK score and FEV₁%, BMI < 19 y.o., BMI z-score; FEV₁% and age, BMI < 19 y.o., BMI z-score. Linear regression was used to association between continuous variables FEV₁% and SK score. P value < 0.05 was required for significance.

RESULTS

CF patients and genetic groups

The overall mean age of the patients was 14.1±8.1 y.o., while the mean age at diagnosis was 67.8±103.5 months, approximately 5.6 y.o. The value of chloride in sweat ranged from 47 to 216 mEq/L. The clinical score SK had a minimum of 55 and a maximum of 100, with an average of 74.5±12.5. BMI of patients >19 y.o. ranged from 15.20 to 30.90. The BMI z-score had an average of -0.37±1.9 (- 4.23 to 5.40). FEV₁% ranged from 23 to 103, with a mean of 66.64±22.1. The most frequent mutant alleles were F508del (42.9%), R334W (12.9%), S4X (11.4%), R1066C (7.1%), G85E (5.8%), G542X (2.9%), V232D (2.9%) followed by ten other mutations (14.1%). The simple linear regression model showed that FEV₁% can predict the SK score in CF patients [F(1,23) = 13,983, p <0.01; R² = 0.378]. The SK score corresponded to 51,043 + 0,331 x FEV₁%. Therefore, 37.8% of the data variation of SK scores can be explained by FEV₁%. Data were arranged by groups as described in Table 1. Patients in the CF I group had a lower mean age at diagnosis compared to the CF II group (Figure 1A).

Relationship between variables

We found directly proportional correlations between: clinical score SK with FEV₁%, BMI <19 y.o. and BMI z-score; FEV₁% with BMI <19 y.o. and BMI z-score. We also observed a moderate inversely correlation between the age of diagnosis with BMI < 19 y.o. and FEV₁% with age of the patient (Table 2).

Patient's without *cftr* mutation

Data from patients without *cftr* mutation identified are described in Table 3. These patients' age ranged from 5 to 23 y.o..The mean age of diagnosis was approximately 4.9 y.o. (4 to 168 months). The value of chloride in sweat ranged from 45 to 121 mmol/L and the minimum value of the SK score was 65. In the comparisons with CF I and CF II, there was significant differences in the chloride value of the sweat test between the patients without *cftr* mutation and CF I (p=0.00) (Figure 1b). Patients without *cftr* mutation had value lower than the CF I of sweat chloride, with an average of 70.0±22.4 and 107.8±37.4, respectively (Figure 1c). There was also significant difference among the SK scores in negative genotype patients, CF I (p=0.00) and CF II (p=0.03) (Figure 1c). Patients without *cftr* mutation had a higher SK score than the other patients. The mean SK score of patients without *cftr* mutation was 88.4±10.8, CF I 74.7±13.6 and CF II 73.5±8.9.

DISCUSSION

Mutations classes in *cftr* influenced the mean age of CF diagnosis, because patients with mutations class I/II were a diagnosed earlier than patients with mutations class IV/V. Patients without *cftr* mutation showed lower sweat chloride values than patients with mutation of class I/II as expected. Patient's negative test genetic had better SK score than all patients analyzed.

CF phenotypes are partially dependent on the classes of residual protein function¹⁶. Class I, II, III and VI have a lower residual function when compared with class IV and V^{5,17}. Classes I, II, III are usually associated with pancreatic insufficiency, reduction of pulmonary function, malnutrition and higher mortality. Classes IV and V are associated with sufficient pancreatic, mild lung disease and longer life expectancy^{18,19}. In our study, patients did not present significant differences related to lung function, BMI and BMI z-score when compared between the classes I/II and IV/V.

Each organ has a specific phenotype and is subjected to a specific penetrance in CF¹⁶. The development of pulmonary diseases throughout life has high penetrance, including variables lung function decline, severity of lung disease and chronic bacterial infection^{16,20}. The sweat duct is under high penetrance of *cftr*, reflecting in the concentration of chloride in patient's sweat¹⁶. We found values of chloride in sweat above those considered normal, including in patients without *cftr* mutation, but no difference among patients with class I/II mutations compared to patients with a class IV/V mutation.

Regarding pancreatic insufficiency, despite being related to more severe mutations, 88% patients with mutation class I/II and 63% of patients with mutation class IV/V were pancreatic insufficient. The phenotypic expression of pancreatic sufficiency may be modified by several environmental influences, such as exposure to smoke, microorganisms, pollution, climate, socioeconomic conditions and nutrition²¹. There were no difference between nutritional status by BMI and BMI z-score among patient groups, which variable might be modified environmental factors and modifying genes. These non-genetic factors may explain our findings, because environmental and non-CFTR factors potentially decrease the correlation between

phenotype and genotype^{13,16,22}. Our CF patients with mutation classes I/II had lower mean age at diagnosis when compared with mutations classes IV/V patients. These findings might be due to mutations classes I/II have earlier onset of classic symptoms²³. It is also possible that the absence of difference clinical between patient's mutations classes is due to late diagnosis. Early diagnosis generally is associated to better clinical status.

Brazil has the neonatal screening for CF, which is performed by the IRT value evaluation²⁴. IRT is a pancreatic enzyme, generally elevated in patients with CF due to obstruction of canaliculi and pancreatic ducts, however, it is not specific for CF¹⁵. The most usual diagnosis method among our CF patients was associated with sweat test. Solely patients with class I/II mutations were diagnosed by IRT (20% of patients). It is important to identify if these data are due to non-screening, as a result of having been proposed in Brazil by the national neonatal screening program only in 2012, or the existence of false negatives. The reason should be investigated more carefully. It is also mandatory to identify if the pitfalls of the screening are operational, laboratory error, procedural change²⁵, or biological, associated or not with genetic condition.

We found association between the SK score with the FEV₁%. So, although the SK score did not directly assess lung function, they were still associated. Patients had nutritional status, BMI and BMI z-score in patients younger than 19 y.o. associated with the SK score and FEV₁%. The association between BMI decrease and decline in lung function has already been described elsewhere, which evidenced the importance of BMI control and treatment of malnutrition to improve pulmonary status because pulmonary health depends on the nutritional status of the patient^{26,27}. The BMI of these patients also maintained a relation inversely proportional to the

average of the diagnosis, indicating that the higher the ages of the diagnosis are associated with the malnutrition, as described elsewhere^{28,29}. Pulmonary function was negatively related to the patient's age, the higher the age the lower the FEV₁% values. This association demonstrates the decline of progressive lung function³⁰.

Patients, who do not fulfill all the diagnostic criteria for CF diagnostic, usually have involvement of one affected organ. These patients are identified with CFTR-related disorder³¹. Here, most patients without *cfr* mutations were pancreatic insufficient. They also had FEV₁% and BMI parameters similar to those CF patients class I, II, IV and V mutations. However, they presented higher SK score values, which indicate a better general state. Possibly, these patients had a mild decrease in the CFTR protein function. Therefore, genetic testing is a fundamental strategy to stratify CF patients and to diagnose CFTR-related disorder cases or even to exclude CF.

We conclude that, according to mutation classes, our CF patients had a difference on age at diagnosis, because patient's mutation classes I/II had an early diagnosis. There is no difference between patient's mutations classes I/II and IV/IV in function pulmonary, nutrition status, chloride in sweat and clinical status. The similar clinical status in CF patients might due to late diagnosis, haplotype background, modifying genes or the environment. Patients without *cfr* mutations had a phenotype similar to CF patients, but they had a greater residual function of CFTR and better clinical condition.

REFERENCES

1. Knowlton RG, Cohen-Haguenauer O, Cong. NV, Frézal J, Brown VA, Brarker D, *et al.* Polymorphic DNA marker linked to cystic fibrosis located on chromosome 7. *Nature*. 1995;318:380-382.
2. Linsdell P. Mechanism of chloride permeation in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator chloride channel. *Exp Physiol*. 2006;91(1):123–129.
3. Tang L, Fatehi M, Linsdell P. Mechanism of direct bicarbonate transport by the CFTR anion channel. *J Cyst Fibros*. 2009;8(2):115-21.
4. Cystic Fibrosis Mutation Database [home page on Internet]. Genetic Analysis Consortium. Toronto: 2003. [updated 2018 nov 10]. Available from: <http://www.genetic.sickkids.on.ca/cftr/>
5. Haardt M, Benharouga M, Lechardeur D, Kartner N, Lukacs GL. C-terminal Truncations Destabilize the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator without Impairing Its Biogenesis. *J Biol Chem*. 1999; 274(34):21873–21877.
6. De Boeck K, Amaral MD. Progress in therapies for cystic fibrosis. *Lancet Respir Med*. 2016;4(8):662-674.
7. Bombieri C, Seia M, Castellani C. Genotypes and phenotypes in cystic fibrosis and cystic fibrosis transmembrane regulator-related disorders. *Semin Respir Crit Care Med*. 2015;36:180-93.
8. Anderson MP, Welsh MJ. Regulation by ATP and ADP of CFTR chloride channels that contain mutant nucleotide-binding domains. *Science*. 1992;18;257(5077):1701.

9. Boyle MP; De Boeck, K. A new era in the treatment of cystic fibrosis: correction of the underlying CFTR defect. *Lancet Respir Med.* 2013;1(2):158-63.
10. Schwiebert EM et al. CFTR regulates outwardly rectifying chloride channels through an autocrine mechanism involving ATP. *Cell.* 1995;81(7):1063-73.
11. Highsmith WE et al. A novel mutation in the cystic fibrosis gene in patients with pulmonary disease but normal sweat chloride concentrations. *N Engl J Med.* 1994;331(15):974-80.
12. Seibert FS, Linsdell P, Loo TW, Hanrahan JW, Riordan JR, Clarke DM. Cytoplasmic loop three of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator contributes to regulation of chloride channel activity. *J Biol Chem.* 1996;271(44):27493-9.
13. Zielenski J. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration.* 2000;67:117-33.
14. Schmidt BZ, Haaf JB, Leal T, Noel S. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator modulators in cystic fibrosis: current perspectives. *Clin Pharmacol.* 2016;8:127-140.
15. Castellani C, Massie J, Sontag M, Southern KW. Newborn screening for cystic fibrosis. *Lancet Respir Med.* 2016.
16. O'Neal WK, Knowles MR. Cystic Fibrosis Disease Modifiers: Complex Genetics Defines the Phenotypic Diversity in a Monogenic Disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2018;19:201-222.
17. Welsh MJ, Smith AE. Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell.* 1993;73(7):1257-1254.

18. Augarten A, Ben Tov A, Madgar I, Barak A, Akons H, et al. The changing face of the exocrine pancreas in cystic fibrosis: the correlation between pancreatic status, pancreatitis and cystic fibrosis genotype. *Eur J Hepatol.* 2008;20:164-68.
19. Ferec C, Cutting GR. Assessing the Disease-Liability of Mutations in CFTR. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2(12).
20. Welsh MJ, Ramsey BW, Accurso FJ, Cutting GR. Cystic fibrosis. The metabolic and molecular bases of inherited disease (ed. CR Scriver, et al.). 2001;5121–5188.
21. Knowles MR, Drumm M. The influence of genetics on cystic fibrosis phenotypes. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2(12).
22. Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science.* 1989;245:1073-80.
23. Bonadia LC. CFTR genotype and clinical outcomes of adult patients carried as cystic fibrosis disease. *Gene.* 2014;540(2):183-90.
24. Southern KW, Smyth RL. Design of clinical trials in cystic fibrosis. *Lancet.* 2003;361(9354):9343-350.
25. Cabello, G. M. K. Avanços da genética na fibrose cística. *Revista do Hospital Universitário Pedro Hernesto.* 2010;10(4):36-45.
26. García GM, Clason ER, Lorduy FA, García DM, Alegría CG, Camargo DG. Body Mass Index and its correlation with pulmonary function in patients with cystic fibrosis from Cartagena (Colombia). *Salud Uninorte.* 2011;27(1):22-29.

27. Lai HCJ, Shoff SM, Farrell PM, and Wisconsin CF Neonatal Screening Group. Recovery of birth weight z-score within two years of diagnosis is positively associated with pulmonary status at age six years in children with cystic fibrosis. *Pediatrics*. 2009;123(2):714–722.
28. Farrell PM et al. Nutritional benefits of neonatal screening for cystic fibrosis. Wisconsin Cystic Fibrosis Neonatal Screening Study Group. *N Engl J Med*. 1997;337(14):963-9.
29. Hortencio TDR, Nogueira RJN, Marson FAL, Hessel G, Ribeiro JD, Ribeiro AF. Factors impacting the growth and nutritional status of cystic fibrosis patients younger than 10 years of age who did not undergo neonatal screening. *Rev Paul Pediatr*. 2015;33(1):3–11.
30. Stoltz DA, Meyerholz DK, Welsh MJ. Origins of cystic fibrosis lung disease. *N Engl J Med*. 2015;372:351-362.
31. Bombieri C, Claures M, De Boeck K, Derichs N, Dodge J, et al. Recommendations for the classification of disease as CFTR-related disorders. *J Cyst Fibros*. 2011. 10(Suppl. 2): S86-102.

Table 1. Profile of CF I and CF II patients.

Characteristics	CF I (n=25)	CF II (n=11)	p
Female	17 (68%)	4 (36%)	
Non-white	14 (56%)	8 (72%)	
Missing data	1	1	
Age (y.o.)	12.2±5.3	18,8±11.6	0.11
Missing data	1	1	
Diagnosis - IRT	5 (20%)	0 (0%)	
Missing data	1	1	
Age diagnosis (months)	29.9±51.2	159.0±139.8	0.01*
Missing data	1	1	
Sweat chloride	107.8±37.4	86,4±16.0	0.09
Missing data	2	1	
SK score	74.7±13.6	73.5±8.9	0.82
Missing data	2	4	
BMI > 19 y.o.	17.1±2.0	22.8±4.8	0.10
BMI < 19 y.o.	16.1±2.7	18.2±5.0	0.19
Missing data	1	1	
BMI z-score	-0.54±1.9	0.37±2.1	0.36
Missing data	1	1	
FEV₁%pred	63.7±18.7	74.0±29.1	0.37
Missing data	5	3	
Pancreatic insufficient	22 (88%)	7 (63%)	
Missing data	1	1	

Data described in (mean±SD) and (n%). IRT: immunotripsin reactive; SK: Shwachman-Kulczycki; BMI: Body Mass Index; FEV₁%pred: predict forced expiratory volume in the first second; BMI < 19 y.o.: patients over 19 y.o.; BMI < 19 y.o.: patients under 19 y.o. *Independent Samples t Test.

Table 2. Correlation data of CF patients.

	Coefficient (r)	p- value
SK score		
FEV₁%pred	0.61	0.00
BMI <19 y.o.	0.42	0.05
BMI z-score	0.54	0.00
Age diagnosis		
BMI<19 y.o.	-0.41	0.03
FEV₁%pred		
Age	-0.46	0.01
BMI <19 y.o.	0.55	0.00
BMI z-score	0.53	0.01

SK: Shwachman-Kulczycki; BMI: Body Mass Index;
FEV₁%pred: predict forced expiratory volume in the
first second.

Table 3. Profile of patients without *cftr* mutation.

Characteristics	Without <i>cftr</i> mutation (n=15)
Male	73.3%
Non-white	80%
Missing data	2
Age (y.o.)	13.79±5.4
Missing data	1
Diagnosis – IRT	0%
Missing data	1
Diagnosis age (months)	59.4±57.2
Missing data	1
Sweat chloride	70.0±22.4
Missing data	3
SK score	88.4±10.4
Missing data	2
BMI > 19 y.o.	19.5±2.8
Missing data	1
BMI < 19 y.o.	17.4±4.0
BMI z-score	-0.5±1.0
FEV₁%pred	81.0±20.5
Missing data	7
Pancreatic insufficient	93.3%
Missing data	1

Data described in (mean±SD) and (n%). IRT: immunotripsin reactive; SK: Shwachman-Kulczycki; BMI: Body Mass Index; FEV₁%pred: predict forced expiratory volume in the first second; BMI > 19 y.o.: patients over 19 y.o.; BMI < 19 y.o.: patients under 19 y.o..

Figure 1. Difference among groups analyzed

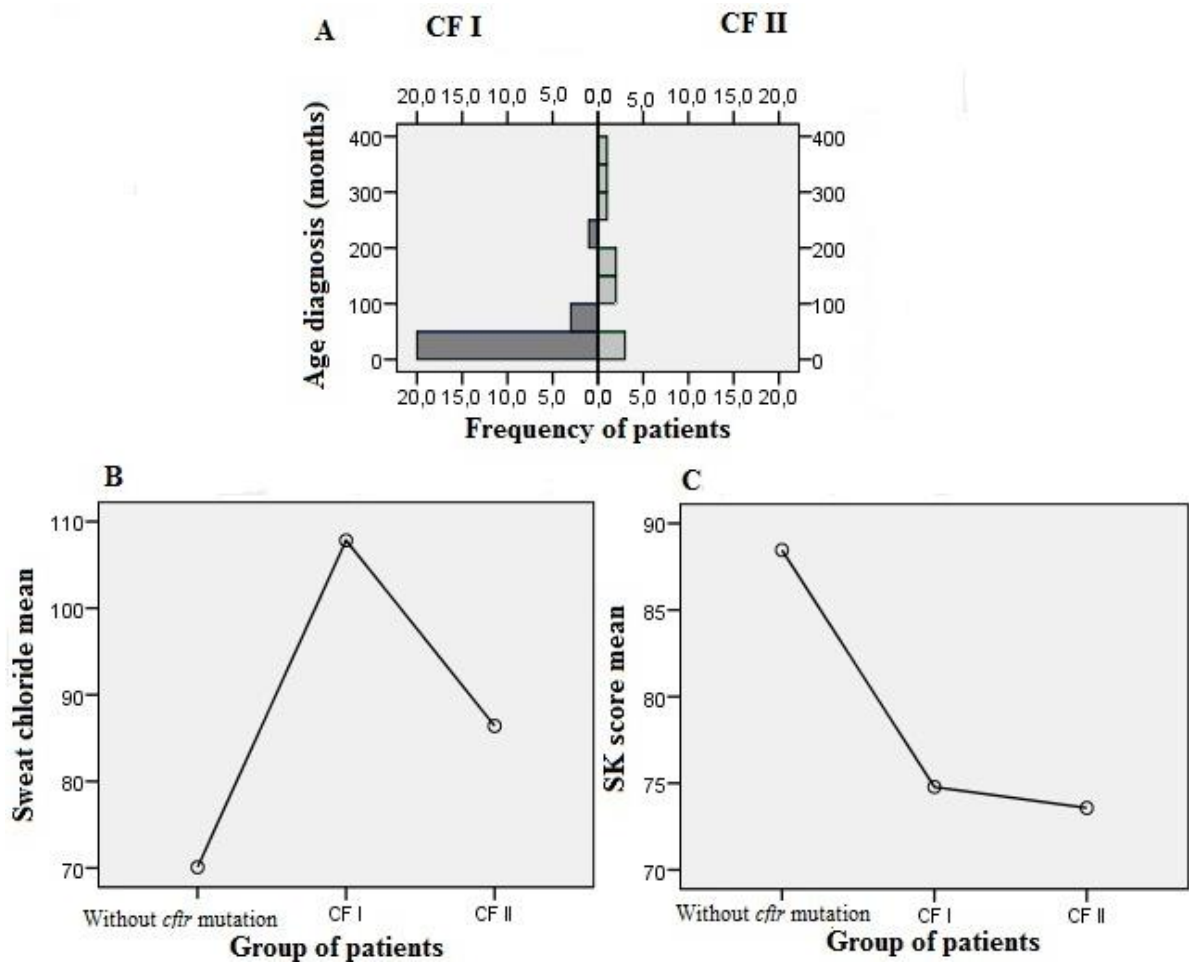


Figure A. Mean age of diagnosis in months of the CF group I and CF II ($p = 0.01$). Independent Samples t Test. **Figure B.** Difference of chloride value in test among patients without *cfr* mutation and CF I ($p=0.00$), patients without *cfr* mutation and CF II ($p=0.42$). One Way ANOVA with Tukey Post Hoc. **Figure C.** Difference of Swachman-Kulczycki (SK) score among patients without *cfr* mutation and CF I patients ($p=0.00$), patients without *cfr* mutation and CF II ($p=0.03$). One Way ANOVA with Tukey Post Hoc.

4.4 Artigo 4. Health-Related Quality of Life: clinical data associations in Cystic Fibrosis patients

TITLE PAGE

HEALTH-RELATED QUALITY OF LIFE: CLINICAL DATA
ASSOCIATIONS IN CYSTIC FIBROSIS PATIENTS.

QUALIDADE DE VIDA RELACIONADA À SAÚDE: ASSOCIAÇÕES DE
DADOS CLÍNICOS EM PACIENTE COM FIBROSE CÍSTICA.

Yasmim Queiroz Santos¹; Clarissa Dal Molin dos Santos²; Lorrany Martins da Silva²; Lucieli Boschetti Vinhal³; Lusmaia Damasceno Camargo Costa⁴; Cibelle Kayenne Martins Roberto Formiga⁵; Flávio Monteiro Ayres⁶.

1- E-mail: yasmimqsantos@gmail.com.

Instituição: Universidade Estadual de Goiás - UEG – Anápolis, GO, Brasil.

Titulação: Discente do programa de Pós-Graduação Ciências Aplicadas a Produtos da Saúde, Universidade Estadual de Goiás, Bacharel em Fisioterapia.

Endereço: Br 153 Quadra Área Km 99 Zona Rural, Anápolis - GO, 75132-903. Telefone: (62) 3328-1162.

2- Instituição: Universidade Estadual de Goiás - UEG – Goiânia, GO, Brasil.

Titulação: Discente de Fisioterapia na Universidade Estadual de Goiás - UEG – Goiânia, GO, Brasil.

3- Instituição: Universidade Estadual de Goiás- UEG – Goiânia, GO, Brasil.

Titulação: Mestrado em Fisioterapia em Unidade de Terapia Intensiva.

4- Instituição: Universidade Federal de Goiás- UFG – Goiânia, GO, Brasil.

Titulação: Doutorado em Ciências da Saúde pela Universidade Estadual de Goiás - UFG.

5- Instituição: Universidade Estadual de Goiás- UEG – Goiânia, GO, Brasil.

Titulação: Doutorado em Ciências Médicas pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

6- Instituição: Universidade Estadual de Goiás- UEG – Goiânia, GO, Brasil.

Titulação: Doutorado em Ciências Médicas e Dentais, pela *Nigata University*.

Financiamento da pesquisa: PROEXT / SIGProj N°:
116463.480.94044.13042012

Autor (a) para correspondência: Flávio Monteiro Ayres /
flavioayres@yahoo.com; Endereço: Av. Oeste, 56-250 - St. Aeroporto, Goiânia -
GO, 74075-110. Telefone: (62) 3328-1162.

HEALTH-RELATED QUALITY OF LIFE: CLINICAL DATA ASSOCIATIONS IN CYSTIC FIBROSIS PATIENTS

Yasmim Queiroz Santos; Clarissa Dal Molin dos Santos; Lorrany Martins da Silva; Lucieli Boschetti Vinhal; Lusmaia Damasceno Camargo Costa; Flávio Monteiro Ayres.

ABSTRACT

Objective: We aimed to analyze the relevant clinical factors in the HRQoL of patients with CF and parents and / or caregivers. **Methods:** This is a cross-sectional study with the application of the Cystic Fibrosis Questionnaire (CFQ-R) performed between January 2017 and July 2018 at a CF Reference Center in Goiânia, Goiás, Brazil. Thirty-six subjects participated in this study, of which 12 were parents and / or caregivers and 24 were CF patients. **Results:** Patients older than 14 y.o. had higher scores in the nutrition domain and lower in the treatment domain compared to patients between 6 and 13 y.o. Sweat chloride values showed an inversely proportional relationship with respiratory, body image, emotional and final score scores of CFQ-R in patients with 6 to 13 y.o. The influence of chloride on sweat did not persist in older patients. **Conclusion:** Patients older than 14 years demonstrated an inversely association between early diagnosis and higher scores in the respiratory and digestive domain. We observed correlations of specific domains of HRQoL with clinical and laboratorial outcomes. The value of chloride in sweat was not a factor associated with various domains the HRQoL of patients over 14 years of age with CF. We concluded that the multiprofessional treatment carried out at the reference center was decisive for overcoming the clinical influence of the chloride value on sweat in the HRQoL.

Keywords: Mucoviscidosis; Sickness Impact Profile; Genotype; Prognosis.

RESUMO

Objetivo: Nosso objetivo foi analisar os fatores clínicos relevantes na Qualidade de vida relacionada a Saude (QVRS) de pacientes com FC e pais e/ou cuidadores. **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal com a aplicação do Cystic Fibrosis Questionnaire (CFQ-R), realizado entre janeiro de 2017 e julho de 2018 em um Centro de Referência de FC em Goiânia, Goiás, Brasil. Participaram do estudo

36 indivíduos, sendo 12 pais e/ou cuidadores e 24 pacientes com FC. **Resultados:** Os pacientes com mais de 14 anos apresentaram pontuação superior no domínio nutrição e inferior no domínio tratamento, comparado com pacientes entre 6 e 13 anos de idade. Os valores de cloreto no suor demonstraram uma relação inversamente proporcional com os escores de domínios respiratório, imagem corporal, emocional e escore final do CFQ-R, em pacientes com idade entre 6 e 13 anos. A influência do valor de cloro no suor não se manteve nos pacientes mais velhos. **Conclusão:** Pacientes maiores de 14 anos demonstraram associação entre diagnóstico precoce e maiores pontuações no domínio respiratório e digestivo. Foi possível observar correlações de domínios na QVRS com os desfechos clínicos e laboratoriais em pacientes com FC. O valor de cloro no suor deixou de ser um fator associado à QVRS dos pacientes acima de 14 anos com FC. Nós concluímos que o tratamento multiprofissional realizado no centro de referência foi determinante para superação da influência negativa do valor de cloro no suor na QVRS.

Descritores: Mucoviscidose; Perfil de Impacto da Doença; Genótipo; Prognóstico.

INTRODUCTION

Cystic Fibrosis (CF) is a chronic, progressive, autosomal recessive disease^{1,2}. It is caused by a mutation in *cfr* gene³. CF is most common in the Caucasian population⁴. There are more than 2,000 *cfr* mutations⁵, divided into classes according to the residual function of the protein^{6,7}. The clinical manifestation and severity of CF is variable according to genotype⁸.

CF affects multiple organs⁹, including chronic obstructive pulmonary disease, pancreatic insufficiency and high electrolytes in sweat¹⁰. Frequently, these patients, who have an unclear prognosis, spend long time with improper treatment. Limitations caused by the CF may influence on quality of life (QoL)^{11,12}, which is a multi-dimensional subjective assessment encompassing physical, psychological and social well-being features¹³.

Health related quality of life (HRQoL) assessment is the patients perspective about symptoms and daily functioning^{14,15}. HRQoL is important to monitor the course of treatment, from the prevention of comorbidities to development of some

specified strategies for CF¹⁶. The aim of this study was analyzing the clinical factors that influence on the HRQoL in patients with CF.

METODOLOGY

Ethical aspects and data collection

The study protocol was approved by the Research Ethics Board of the Federal University of Goiás (Protocol #1,724,723). This is a cross-sectional study. Data of 36 individuals, 24 CF patients with genetic diagnosis and 12 parents and/or caregivers were collected from January 2017 to July 2018. The individuals were from the outpatients facilities in a reference center in Goiânia, state of Goiás, Brazil. The inclusion criteria were: be diagnosed from CF by the genotyping; being parent and/or caregiver of a CF patient. Exclusion criteria were: patients under 6 y.o.; cognitive impaired due to neurological complications; more than 2 positive answers in a clinical stability questionnaire.

The instrument used to evaluate the quality of life was the CFQ-R questionnaire, validated in Portuguese language¹⁷. The questionnaire consists of four versions: for patients aged 6 to 11 y.o.; for patients between 12 and 13 y.o.; for patients over 14 y.o.; and for parents and/or caregivers. CFQ-R questionnaire has specific and general questions about the patient, such as age, sex, ethnicity and schooling, including domains on patients' physical, psychological and social conditions. The version for parents and caregivers approaches the perception about their children. The questionnaire score ranges from 0 to 100 points; the better HRQoL is defined by the highest score. Scores of CFQ-R questionnaire below 50 demonstrate poor HRQoL¹⁸. The questionnaire was applied during medical consultations or after the physiotherapy session, in a reserved room.

Questionnaire for patient with CF from 6 to 11 y.o., composed by 35 questions, was applied by the researcher of this study. The questionnaires for patients with CF between 12 and 13 y.o., over 14 y.o. and parents and/or caregivers are composed of 35, 50 and 44 questions, respectively. These questionnaires answered by the individuals themselves. In case of the doubts, they were clarified by the researcher. Questionnaire execution lasted an average of 15 minutes.

We also analyzed the following variables collected from the patient's records: age of diagnosis, chlorine value in the sweat test, Shwachman-Kulczycki (SK) clinical score, BMI (patients under 20 y.o. and patients over 20 y.o.), BMI z-score,

pancreatic insufficiency (PI), *Forced expiratory volume in one second* predicts (FEV₁%). Genotype data were also collected from patient's medical records, most of them detected by using Illumina HiSeq platform. CF patient's genotype HRQoL analysis was performed by arranging patients in two genetic groups: patients with mutations class I or II; and patients with mutations class IV or V. Heterozygous patients who had mutations class IV or V and another mutation class I or II were allocated in patient's class IV e V. Case of composite heterozygosis, milder mutations is prevalent in the phenotype. Patients with unknown class mutation had data analyzed according to the class of the second allele, when applicable.

Data analysis

The data were tabulated in Excel and analyzed in SPSS (Statistical Package For Social Sciences) version 23.0. The normality of the data was verified using the Shapiro-Wilk test (valid n <49). A descriptive analysis was performed with mean, standard deviation, minimum and maximum values for absolute variables, frequency and percentage for relative variables.

The Independent Samples T Test was performed in order to compare the means between the genetic groups; patients aged 6 to 13 and over than 14; patients aged 6 to 13 and parents and / or caregivers; and patients by sex. The correlation of Spearman was used for associations among: sweat chloride and domains respiratory, body image, emotional and CFQ-R total score, in patients aged 6 to 13; sweat chloride and digestive domain, in patients over 14; BMI and weight domain, in patients over 20; age and domains body image, eating, treatment, CFQ-R total score; sweat chloride and treatment, in all CF patients.

The correlation of Pearson was used for associations among: age of diagnosis and respiratory and digestive domains; SK score and body image domain; BMI and digestive domain; VEF1% and CFQ-R total score, all in patients over 14; age and respiratory domain; age diagnosis and respiratory domain; SK score and treatment domain, in all CF patients.

RESULTS

The clinical data were analyzed in groups according to the quality of life questionnaires, except for patients between 12 and 13 y.o., who were analyzed together with patients aged from 6 to 11, because they were only two patients. Thus, clinical data are described in two groups: patients aged 6 to 13 and patients over 14

y.o.. The variation in the number of the clinical data of patients is due to the availability of data records. The analysis of the clinical data is described in Table 1. The most relevant data are related to patients over 14 y.o. who had a higher age of diagnosis compared to patients aged 6 to 13. The comparison of the CFQ-R between patients of mutation classes I and II and mutation classes of IV and V showed no statistically significant difference. No significant difference was found in the comparison of the quality of life among CF patients according to sex.

The data of the questionnaires are described in Table 2. Patients presented remarkable differences in the eating and treatment domains. Patients over 14 y.o. had higher scores related to the eating ($p=0.00$) and lower treatment domain ($p=0.00$), compared to patients aged 6 to 13. Parents and/or caregivers have a lower scores in the eating domain compared to patients aged 6 to 13 ($p=0.02$).

We performed correlation analyzes between the clinical data and the domains of the questionnaires, and also between the domains of the questionnaires themselves. The results of correlation analyzes are described in Table 1. The values of sweat chloride in patients aged 6 to 13 showed an inversely proportional relation to respiratory, body image, emotional domain scores and CFQ-R final score. Lower ages of diagnosis were related to higher scores in respiratory and digestive domains, in patients over 14 y.o.. Patients aged 6 to 13 showed higher scores in eating, social, digestive and respiratory domains associated with better values of emotional domain. Patients over 14 y.o. with higher scores in SK score and FEV₁% demonstrated an association with better scores in the body image domains and CFQ-R final score, respectively. Patients over 20 y.o. had a directly proportional association between BMI values and weight domain.

DISCUSSION

The HRQoL of our CF patients was influenced by clinical factors, among them: age of diagnosis, sweat chloride, SK, BMI and FEV₁%. Patients aged 6 to 13 had an influence the sweat chloride in HRQoL, while CF patients over 14 y.o. demonstrated age of diagnosis, sweat chloride, SK, BMI and FEV₁% as influence factor. The influence of the age of diagnosis, BMI and FEV₁%, on HRQOL, gives us possibilities of strategies to improve these parameters and, consequently, the HRQoL. We identified differences between CF patient groups in the eating and treatment domains. Male patients reported lower scores on body image and higher

scores on physical function compared to female patients¹⁹. Despite of this, our study did not further identified differences in HRQoL comparing CF patients by sex.

The lower the patient age the greater the performance in domains such as body image, treatment, respiratory and also the final score CFQ-R. As the age advances, performance improves only in the eating domain. Our CF patients aged 6 to 13 demonstrated a better score in the treatment domain, as described elsewhere^{20,21}. There is a deterioration of HRQoL in CF patients from 12 y.o., as described elsewhere²². So, these data highlight the need to monitor the HRQoL in our CF patients, in order to identify causal factors of HRQoL decrease and develop new control strategies. The HRQoL decrease might be related to a lower tendency to anxiety and depression among children. Consequently, CF patients children have a more positive perspective with treatment CF^{23,24,25}.

Parents and/or caregivers presented in HRQoL, lower values among treatment, emotional, eating and digestive domains, compared to CF patients, as described elsewhere²¹. Our study also identified lower scores in parents and / or caregivers, in eating domain, compared to patients aged 6 to 13. Parents and / or caregivers might presented lower scores in some domains due to stress generated from various settings: treatment requirements; constant limitations in CF patients life's and unmet expectations^{26,27}.

The CF phenotype is partially determined by the genotype²⁸. The patient's phenotype varies according to the mutation class, determined by the residual function of the CFTR protein. There was no difference related to quality of life regarding to the classes mutations of our CF patients. The value of chlorine in sweat is a dependent variable of the residual function of the protein and, consequently, of the genotype. Contradictorily, we identified negative associations in sweat chloride with domains respiratory, body image, emotional and CFQ-R total score, in CF patients aged 6 to 13. However, this negative association did not persisted in patients over 14 y.o.. The values of sweat chloride had a positive association with digestive domain in patients over 14 y.o., indicating that there is not a negative influence of sweat chloride in these patients. Independent of CF patients age, the high the values of sweat chloride the lower the treatment domain. We believe that multi-professional treatment realized in our center, with physicians, psychologists, physiotherapists, nutritionists, social workers and others, might be a determinant factor in impersistence of sweat chloride HRQoL determination.

Our patients presented positive associations between the severity of the disease, evaluated by SK scores, and HRQoL. Independent of age, CF patients, had an association between better SK scores and better treatment domain. CF patients over 14 y.o. had a positive association between SK and the body image domain. Other studies also showed a positive association between disease severity and HRQoL^{24,29,30}. Patients with CF over 20 y.o. had a positive association between BMI and the weight domain, as described elsewhere¹⁹. Malnutrition is a comorbidity usually related to the decline of lung function and worse prognosis^{31,32}. Thus, nutritional control it is a factor important also in HRQoL, especially in older patients.

Decreased lung function is a comorbidities associated with mortality in CF patients³³. In our study, patients with CF regardless of age have a direct association between lung function and quality of life. In particular the higher values of FEV₁% are related to better performances in body, emotional and respiratory image. This finding corroborate with the influence of lung function on emotional stress^{30,34}.

This is a pioneer study of quality of life in CF patient in state of Goiás. We found important influences of the clinical data in HRQoL, especially possible factors to establish strategies for improvement, such as: age of diagnosis, BMI and FEV₁. We failed to identify a correlation between HRQoL and patient's genotype. In other hand, the influence of sweat chloride on HRQoL in younger patients and irrelevance in older patients, provide us with important information about the effectiveness of multi-professional treatment in which patients was inserted. We suggest that HRQoL can be used in clinical practice because it provides important parameters on the general condition of the CF patient and treatment.

REFERENCES

1. O' Sullivan BP, Freedman SD. Cystic Fibrosis. *The Lancet*. 2009; 373 (9678): 1891-1904
2. Slioger MG, Uiterwaal CSPM, Sinaasappel M, Heijerman HGM, Vam der laag j, Van der Ent CK. Birth preval. Birth prevalence and survival in cystic fibrosis: a national cohort study in the Netherlands. *Chest*. 2005; 128 (4): 2309-2315.

3. Knowlton RG, Cohen-Haguenauer O, Van Cong N, Frézal J, Brown VA, Barker D, et al. A polymorphic DNA marker linked to cystic fibrosis is located on chromosome 7. *Nature*. 1985; 318(6044):380-2.
4. Hamosh A, Fitzsimmons SC, Macek MJR, Knowles MR, Rosenstein BJ, Cutting GR. Comparison of the clinical manifestations of cystic fibrosis in black and white patients. *J Pediatr*. 1998;132 (2):255-9.
5. Cystic Fibrosis Foundation [homepage on internet]. Raise CF Awareness. [update 2018 nov 5]. Available from: <https://www.cff.org/Get-Involved/Participate/Raise-CF-Awareness/>.
6. Haardt M, Benharouga M, Lechardeur D, Kartner N, Lukacs GL. C-terminal Truncations Destabilize the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator without Impairing Its Biogenesis. *J Biol Chem*. 1999; 274(34):21873–21877.
7. De Boeck K, Amaral MD. Progress in therapies for cystic fibrosis. *Lancet Respir Med*. 2016;4(8):662-674.
8. Castellani C, Macek MJR, Cassiman JJ, Duff A, Massie J, Ten Kate LP, et al. Benchmarks for cystic fibrosis carrier Screening: a European consensus document. *J cystfibros*. 2010; 9 (3): 165-178.
9. Castellani C, Macek MJR, Cassiman JJ, Duff A, Massie J, Ten Kate LP, et al. Benchmarks for cystic fibrosis carrier Screening: a European consensus document. *J cystfibros*. 2010; 9 (3): 165-178.
10. Cystic Fibrosis Foundation. Patient registry 2001 annual data report. Bethesda: CF Foundation; 2002.
11. Chaves CRMM, Oliveira CQ, Britto JAA, Elsas MIC. Exercícios aeróbicos, treinamento de força muscular e testes de aptidão física para adolescentes com fibrose cística: revisão da literatura. *Rev. Bras. Saúde mater. Infant*. 2007; 7 (3) 245-250.
12. Castellani C, Assall BM. Cystic fibrosis: a clinical view. *Cell Mol life sci*. 2017; 74 (1): 129-140.
13. Abbott J, Hart A, Havermans T, Matossian A, Goldbeck L, Barreto C, et al. Measuring health-related quality of life in clinical trials in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2011;10(Suppl 2):S82-5.
14. Rozov T, Ziebell VO, Santana MA, Adde FV, Mendes RH, Paschoal IA, et al. Dornase alfa improves the health-related quality of life among

- Brazilian patients with cystic fibrosis--a one-year prospective study. *Pediatr Pulmonol.* 2010;45(9):874-82.
15. Bregnballe V, Thastum M, Schiøtz PO. Psychosocial problems in children with cystic fibrosis. *Acta Paediatr.* 2007; 96 (1): 58-61.
 16. Varni JW, Seid M, Rode CA. The PedsQL: measurement model for the pediatric quality of life inventory. *Med Care.* 1999; 37 (2) 126-139.
 17. Rozov T, Cunha MT, Nascimento O, Quittner AL, Jardim JR. Linguistic validation of cystic fibrosis quality of life questionnaires. *Jornal de pediatria.* 2006;82(2):151-156.
 18. Monti F, Lupi F, Gobbi F, Agostini F, Miano A, Gee L, et al. Validation of the Italian version of the cystic fibrosis quality of life questionnaire (CFQoL), a disease specific measure for adults and adolescents with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2007; 7(2): 116-2.
 19. Habib AR, Manji J, Wilcox PG, Javer AR, Buxton JA, Quon BS. A systematic review of factors associated with health-related quality of life in adolescents and adults with cystic fibrosis. *Ann Am Thorac Soc.* 2015;12(3):420-428.
 20. Cohen MA, Ribeiro MAGO, Ribeiro AF, Ribeiro JD, Morcillo AM. Quality of life assessment in patients with cystic fibrosis by means of the Cystic Fibrosis Questionnaire. *J Bras Pneumol.* 2011;37(2):184-192.
 21. Borawska-Kowalczyk U, Bodnar R, Meszaros A, Sands D. Comparison of health-related quality of life among children with cystic fibrosis and their parents in two Eastern European countries. *Journal of cystic fibrosis.* 2015; 14:798-804.
 22. Horckl MV, Winkens B, Wesseling G, Groot KW, Vreede I, Jobsis Q, et al. Factors associated with changes in health-related quality of life in children with cystic fibrosis during 1-year follow-up. *Eur J Pediatr.* 2017; 176:1047-1054.
 23. Abbott J, Dodd M, Gee L, Webb K. Ways of coping with cystic fibrosis: implications for treatment adherence. *Disabil Rehabil.* 2001;23(8):315-24.
 24. Abbott J. Coping with cystic fibrosis. *J R Soc Med.* 2003;96(Suppl 43):42-50.
 25. Epker J, Maddrey AM. Quality of life in Pediatric Patients with Cystic Fibrosis. *Int J Rehabil Health.* 1998;4(4):215-22.

26. Sawyer MG, Reynolds KE, Couper JJ, French DJ, Kennedy D, Martin J, et al. A two-year prospective study of the health-related quality of life of children with chronic illness--the parents' perspective. *Qual Life Res.* 2005;14(2):395-405.
27. Driscoll KA, Montag-Leifling K, Acton JD, Modi AC. Relations between depressive and anxious symptoms and quality of life in caregivers of children with cystic fibrosis. *PediatrPulmonol.* 2009;44(8):784-92.
28. Bombieri C, Seia M, Castellani C. Genotypes and phenotypes in cystic fibrosis and cystic fibrosis transmembrane regulator-related disorders. *SeminRespirCritCare. Med.* 2015;36:180-93.
29. Tullis DE, Guyatt GH. Quality of life in cystic fibrosis. *Pharmacoeconomics.* 1995;8(1):23-33.
30. Staab D, Wenninger K, Gebert N, Rupprath K, Bisson S, Trettin M, et al. Quality of life in patients with cystic fibrosis and their parents: what is important besides disease severity? *Thorax.* 1998;53(9):727-31.
31. García GM, Clason ER, Lorduy FA, García DM, Alegría CG, Camargo DG. Body Mass Index and its correlation with pulmonary function in patients with cystic fibrosis from Cartagena (Colombia). *SaludUninorte.* 2011;27(1):22-29.
32. Lai HCJ, Shoff SM, Farrell PM, and Wisconsin CF Neonatal Screening Group. Recovery of birth weight z-score within two years of diagnosis is positively associated with pulmonary status at age six years in children with cystic fibrosis. *Pediatrics.* 2009;123(2):714-722.
33. Liou TG, Adler FR, Cahill BC, FitzSimmons SC, Huang D, Hibbs JR, Marshall BC (2001) Survival effect of lung transplantation among patients with cystic fibrosis. *JAMA* 286:2683-2689.
34. Havermans T, Colpaert K, Dupont LJ. Quality of life in patients with Cystic Fibrosis: association with anxiety and depression. *J Cyst Fibros.* 2008;7(6):581-4.

Table 1. Clinical data of CF patients by age groups.

Characteristic	CF patients 6 - 13 y.o.		CF patients >14 y.o.		P*
	N	Mean SD	N	Mean SD	
Sex					
Female	7	70%	7	50%	
Male	3	30%	14	50%	
Age	11	9.18±2.18	13	21.77±7.38	
Non White	5	50%	11	84.61%	
White	5	50%	2	15.39%	
Diagnosis Age (in months)	11	26.73±39.59	13	130.23±140.09	0.02
Diagnosis					
IRT	2	20%	0	0	
Clinical	8	80%	13	100%	
Sweat Chloride	11	98.73±50.46	13	103.46±26.24	0.77
SK score	7	79.29±15.66	13	68.85±97.68	
BMI under 20 y.o.	11	16.76±3.82	5	17.20±3.21	0.82
BMI over 20 y.o.			8	20.70±4.80	
BMI Z-Score	11	0.10±1.70	5	1.44±1.71	0.11
VEF₁% Pred	10	74.60±17.47	12	62.00±23.84	0.18
IP					
Yes	9	81.82%	11	100%	
No	2	18.18%	0	0	

*Independent Samples t Test. IRT: immunotripsin reactive; BMI: body mass index; FEV₁%pred: predict forced expiratory volume in the first second; SK: Shwachman-Kulczycki.

Table 2. HRQoL domain scores in CF patients questionnaires

Domains	Patients 6-11 y.o. (n=9)	Patients 12-13 y.o. (n=2)	Patients ≥14 y.o. (n=13)	Parents/caregivers (n=13)
Physique	63,90±3,31	64.58±8.84	70.96±18.20	71,15±17,10
Body image	92,60±10.57	66.66±35.35	73.07±21.28	84,61±21,20
Emotional	73,61±9.64	65.62±4.42	79.61±18.19	75,38±10,70
Social	74.20±5.30	57.14±10.10	68.60±9.56	63,46±12,97
Eating ^{ab}	69.44±12.50	75.00±11.78	91.66±9.00	54,04±18,64
Treatment ^a	66,66±12.50	75.00±11.78	51.28±8.22	62,82±13,86
Digestive	80.55±24.29	62.50±17.67	90.40±15.15	85,90±12,90
Respiratory	84,02±15,97	53.12±30.93	71.21±17.52	83,65±14,58
Vitality	-	-	65.40±9.41	63,07±8,04
Healthy	-	-	54.50±24.20	42,30±13,80
Social role	-	-	62.82±17.87	-
Weight	-	-	63.46±33.25	73,07±25,94
CFQ-R total score	75,62±6,28	64.95±2.79	70.24±5.44	69,04±6,40

Data described in mean and SD; ^aDifference between patients between 6 and 13 y.o. and patients over 14 years p=0.00; ^bDifference between patients between 6 and 13 y.o. and parentes/caregivers, p=0.02.

Table 3. Correlation between clinical data and HRQoL of CF patients.

Patients	Correlation	R	p	
Aged 6-13	Sweat chloride	Respiratory	-0.60	0.04
		Body image	-0.68	0.02
		Emotional	-0.68	0.02
		CFQ-R total score	-0.68	0.02
	Age diagnosis	Respiratory	-0.70	0.00
		Digestive	-0.66	0.01
Over 14 y.o.	Sweat chloride	Digestive	0.56	0.04
		Body image	0.55	0.04
	BMI >20 y.o.	Digestive	-0.76	0.05
		Weight	0.77	0.01
	VEF ₁ %Pred	CFQ-R total score	0.75	0.00
		Body image	-0.47	0.02
	Age	Eating	0.59	0.00
		Treatment	-0.57	0.00
		Respiratory	-0.55	0.00
		CFQ-R total score	-0.47	0.02
All patients	Age diagnosis	Respiratory	-0.42	0.02
	Sweat chloride	Treatment	-0.46	0.02
	SK score	Treatment	0.45	0.04
	BMI	Emotional	0.61	0.01
	VEF ₁ %Pred	Body image	0.55	0.00
		Emotional	0.44	0.03
		Respiratory	0.51	0.01
CFQ-R total score		0.62	0.00	

BMI: body mass index; FEV₁%pred: predict forced expiratory volume in the first second; SK: Shwachman-Kulczycki.

4.5 Artigo 5. Genotypic analysis of the gene *cfr* in midwest region of Brazil and precision medicine: new possibilities

TITLE PAGE

GENOTYPIC ANALYSIS OF THE GENE *cfr* IN MIDWEST REGION OF BRAZIL AND PRECISION MEDICINE: NEW POSSIBILITIES

Yasmim Queiroz Santos^a; Marc Alexandre Duarte Gigonzac^b; Flávio Monteiro Ayres^c

^a - Laboratório de Pesquisa em Genética, Universidade Estadual de Goiás – Faculdade do Esporte ESEFFEGO. Av. Oeste, 56-250 - St. Aeroporto, Goiânia, Goiás, Brazil, 74075-110. E-mail: yasmimqsantos@gmail.com

^b - Laboratório de Biologia, Universidade Estadual de Goiás – Faculdade do Esporte ESEFFEGO. Av. Oeste, 56-250 - St. Aeroporto, Goiânia, Goiás, Brazil, 74075-110. E-mail: m.gigonzac@gmail.com

^c - Laboratório de Pesquisa em Genética, Universidade Estadual de Goiás – Faculdade do Esporte ESEFFEGO. Av. Oeste, 56-250 - St. Aeroporto, Goiânia, Goiás, Brazil, 74075-110. E-mail: flavioayres@yahoo.com

Corresponding author: Flávio Monteiro Ayres, +55 (62) 3328-1162, flavioayres@yahoo.com. Av. Oeste, 56-250 - St. Aeroporto, Goiânia, Goiás, Brazil, 74075-110.

GENOTYPIC ANALYSIS OF THE GENE *cftr* IN MIDWEST REGION OF BRAZIL AND PRECISION MEDICINE: NEW POSSIBILITIES

ABSTRACT

Introduction: Cystic fibrosis is an autosomal recessive disease caused by mutation in *cftr* gene. More than 2,000 mutations were discovered, which are variable according to geographic location and ethnicity. Identification of patient mutations is extremely relevant information for the treatment of precision medicine. The present study was aimed to identify patients eligible for precision medicine and to identify promising medications according to a literature review. **Methodology:** Data were collected from patients' charts at a Reference Center in Goiânia. We analyzed the mutations described by *cftr* genotyping. A bibliographic survey was performed using descriptors, ClinicalTrials.gov, EudraCT or company website responsible for the studies. **Results:** Approximately 22.2% of our CF patients were eligible for precision medicine therapies. Possible specific mutation drugs for CF patients attended in Goiânia were: Symdeko®, Orkambi® and Kalydeco®. Triple combination therapy (GLPG2222, GLPG2451, GLPG 2737 ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03540524) appears to be an interesting alternative for expanding target mutations. The repositioning of the drugs Cysteamine, EGCG and Roscovitine was a promising alternative for precision medicine with advantages over cost. **Conclusion:** The survey of regional mutations makes possible new strategies for diagnosis, screening and treatment. The promising drug scenario in precision medicine highlights the importance of genetic study for CF patients.

KEYWORDS: GENOTYPE, CFTR, PHARMACOGENETICS.

FUNDING: PROEXT/SIGProj N°: 116463.480.94044.13042012

INTRODUCTION

Cystic fibrosis is an autosomal recessive disease caused by mutation in *cftr* gene (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), which encodes the main cAMP/PKA activated anion conductance channel expressed in the

epithelium^{1,2}. Over 2.000 mutations in *cftr* gene are classified among VII classes according with the residual protein function^{3,4}.

CF is the most common lethal disease in Caucasian, however it currently affects all ethnic groups in a broad range of prevalence⁵. This lethal phenotype is mainly due to severe clinical manifestations regarding decline of lung function⁶. CF prevalence in Brazil is estimated in approximately 1/7,576 live births⁷, where only 46.2% of all the 3,857 CF patients had the *cftr* genotype investigated⁸. Goiás State, in the midwest of Brazil, has a highly mixed population, including haplotypes from Europe (62.7%), Africa (20.6%), and Amerindia (16.7%)⁹. In such a population variability, the panel of molecular markers determined for North American and European populations are not suitable for a proper diagnosis and follow-up¹⁰.

Currently, genetically based information is important for precision medicine, which bases the treatment according to patient's genetic makeup¹¹. Precision medicine has achieved unique positive results in pulmonary comorbidities¹². Accordingly to the precision medicine, drugs repositioning is a recent and widely explored strategy to avoid long process to developing a drug¹³. In this study, we considered *cftr* mutations found in a reference center of Goiás State, Brazil, to suggest innovations in CF treatment by precision medicine.

METHODS

Ethical aspects and data collection

The study protocol was approved by the Research Ethics Board of the Federal University of Goiás (Protocol # 1,724,723). This is a descriptive cross-sectional and retrospective study with review of literature. Data were collected from the records of CF patients who had the genetic test attended at a health reference center in the city of Goiânia, Goiás State, Brazil, from January 2015 to July 2018.

Genotype data were collected from patient's medical records, most of them detected by using Illumina HiSeq platform. Data on mutations have been described using Cystic Fibrosis Mutation Database (**CFTR1**) (<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/app>), CFTR2 (<https://www.cftr2.org/>) and the Brazilian Registry of Cystic Fibrosis (REBRAFC) by Brazilian Group of Cystic Fibrosis Studies.

Collection of drugs bibliographic data

Data were collected in January to September of 2018, using the following electronic databases: PubMed, LILACS, MEDLINE, CAPES, and SciELO. The descriptors used in the search were selected through Health Sciences Descriptors: cystic fibrosis transmembrane conductance regulator; drug therapy; clinical trial; *regulador de conductancia de membrana de fibrosis quística; tratamiento farmacológico; ensayo clínico; regulador de condutância transmembrana em fibrose cística; tratamento farmacológico; ensaio clínico*. Additionally, synonymous terms were applied in order to increase data retrieval. Clinical trial data were searched in the ClinicalTrials.gov, EudraCT or the respective company website, by using the clinical trial number or the name of the drug.

RESULTS

Patient's genotype

We analyzed 36 patient's genotype and their eligibility for treatment (Table 1). Of the patients analyzed, 31 were diagnosed by oral mucosa using Illumina HiSeq platform, 5 patients had such a data unavailable. In a total of 16 mutations, the *cftr* mutations delF508 and 3272-26A>G encompassed ~22.2% of the patients as eligible for the mutation-specific therapies with the drugs Symdeko®, Orkambi® and Kalydeco®. Further therapies, under development or in test, might be useful for the remaining patients, as reported from here on in the present study.

Mutation-specific therapies

Ivacaftor (VX770). Ivacaftor is the first drug mutation-specific¹¹. It is an enhancer that increases the possibility of opening the CFTR (or gating) channel on the cell surface^{14,15}. Recently, a study with WT-CFTR and non-hydrolytic mutations demonstrated VX770 affecting both. It is suggested that the VX770 acts with a selective stabilization of the opening state of the CFTR channel. The stabilization in non-hydrolytic mutants delays the channel closing by the deceleration of step O1 to C1. In WT-CFTR decelerate from step O1 to step O2 (post-hydrolytic state) occurs¹⁶, as already previously described in the G551D mutation¹⁷.

Studies with CF patients at least one allele G551D-CFTR had showed that VX770 (Kalydeco®) administered orally at 150mg offers benefits for FEV₁, reduction of pulmonary exacerbations typically requires treatment with antibiotics, weight gain and reduction of sweat chlorine values^{18,12}. Then, Kalydeco® for G551D

mutation was approved, initiating the process of using of Ivacaftor in CF patients¹⁹, currently available for further 37 mutations (e.a. 3272-26A> G), FDA approved. In Brazil, Kalydeco® was approved by the national health surveillance agency (ANVISA).

Lumacaftor (VX-809). Lumacaftor is a CFTR corrector that facilitates the processing and trafficking of proteins, increasing the number of functioning proteins¹⁴. The mechanism of action combined with Ivacaftor (Orkambi®), increase the mediation of chlorine transport¹⁵. The lumacaftor and ivacaftor as combination therapy were found to be better than each of them isolated¹⁴. Orkambi has been approved by the FDA for use in homozygous F508del CF patients. A phase 3 study, placebo controlled, used Lumacaftor 400 mg once every 12 h/Ivacaftor 250 mg once every 12 h for 4 weeks, indicated good tolerance (4.2% discontinuation due to adverse effect), improvement in lung function (ranging from 2.6 to 4.0 percentage points), body mass index (BMI), and reduction of pulmonary exacerbation²⁰. These findings supported the approval of the drug for CF patients homozygous F508del \geq 12 years. Some studies failed to demonstrate a significant increase in pulmonary function in CF patients using Orkambi®, they have shown improvements in secondary aspects^{14,21}.

A long-term (96 weeks) phase 3 study concluded that Lumacaftor benefits continue to be observed and demonstrated a slower decline in lung function when compared with an untreated control¹⁵. The decrease in chloride concentrations in sweat test has also been reported²². The Lumacaftor has been shown to be capable of stimulating macrophages to phagocytosis and killing in *Pseudomonas Aeruginosa* case²³. Recently, the drug was tested in , homozygous F508del from children 2 to 5 years old, showing safe results and reduction of chlorine levels in sweat (<https://www.vrtx.com/>). Recently, Orkambi® was approved in Brazil by ANVISA for patients \geq 6 years and homozygous F508del.

Tezacaftor (VX-661). The VX-661 is a modulator agent that facilitates the cellular processing and transit of CFTR protein, presenting a greater amount of proteins on the cell surface, consequently increasing chloride transport²⁴. Similar to Lumacaftor, however, there is an advantage. Tezacaftor do not induce enzymes CYP3A4 expression and it do not show interference in the metabolism of other drugs [Phase 2, study not published yet (www.clinicaltrials.gov) (NCT01531673)]. The combination of Ivacaftor and Tezacaftor (Symdeko®) increases the mutation

eligibility of CF patients, that can be used in patients who have one allele responsive to Ivacaftor and one allele with mutations similar in protein processing and trafficking defects²⁴(such as DelF508, the most common mutation in CF patients²⁵).

Many studies (NCT02303314; NCT02308207; NCT02565914; NCT02516410; NCT02412111) have been performed to target homozygous and heterozygous F508del. Currently, Symdeko® is released and can be used in CF homozygous F508del patient's ≥ 12 y.o. under medical prescription. A phase 3 placebo-controlled study demonstrated positive results in FEV₁ and reduction of 35% pulmonary exacerbation in CF patients who received 100 mg of Tezacaftor 1x/day and 150 mg of Ivacaftor 2x/day for 24 weeks²⁶.

Ataluren (PTC124). The non-sense mutations are the result of premature stop and interrupt total or partial CFTR production²⁷, reason because they belong to class I of residual protein function. These mutations are 10% of CF alleles and correspond to severe disease phenotype²⁸. In Goiânia, Goiás, Brazil, they represent about 20% of the total number of alleles (W1282X, R553X, S4X, R1162X, G542X). The Ataluren has been tested because it promotes the ribosomal reading of premature stop codons and to facilitate the protein synthesis.

In a phase III study, placebo-controlled, 238 patients ≥ 6 years used Ataluren in the morning, mild-day and evening (10, 10, 20 mg/kg respectively) for 48 weeks. This study showed no significant results in FEV₁ and the rate of pulmonary exacerbations, however, a negative interaction with the use of tobramycin was identified²⁹. Recently, another study was started excluding patients with inhaled aminoglycosides but initial results reported demonstrating similar failure, therefore, there is no scientific evidence to support the use of Ataluren in CF patients³⁰.

QBW251. It is a CFTR potentiator that, if combined with Lumacaftor, has shown superior than Ivacaftor. A randomized study (NCT02190604) conducted with 40 patient harboring gating mutations (at least one of the 19 responsive Ivacaftor mutations, e.a. 3272-26A>G) and F508del homozygous patients who received either QBW251 or placebo for 2 weeks. The authors reported a significant improvement in lung function and decrease of sweat chlorine levels. Such patients had residual CFTR function, which was not effective by treated with monotherapy in the case of F508del homozygous patients³¹.

GLPG2222. This is a CFTR corrector developed by Galapagos and AbbVie. A clinical study phase IIa, was performed with adults CF patients (with at least one

allele F508del and a second gating class III mutation) on stable treatment with Ivacaftor. Patients were evaluated under a protocol of two doses of GLPG2222 (150mg/300mg) orally administered once a day or placebo (ClinicalTrials.gov Identifier NCT03045523). The study showed a dose-dependent decrease in sweat chloride concentration and FEV1 levels increased by 2.2% at the end of treatment with 300mg GLPG2222. The results were considered encouraging for a triple combination therapy investigation.

GLPG2451. This is a CFTR potentiator, the second in the goal for a triple combination therapy by Galapagos and AbbVie. There are two randomized studies, class I with healthy male subjects, with the purpose to evaluate the safety, pharmacokinetics and tolerability of multiple ascending oral doses of GLPG2451 and the combination of GLPG2451/GLPG2222 (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03214614/NCT02788721). Favorable findings relating to safety and tolerability and profile dose-proportional were report³².

GLPG2737. This is another CFTR corrector developed by Galapagos and AbbVie. There are three studies about this corrector (NCT03410979; NCT03410979; NCT03450720). There is a study to evaluated safety, tolerability, and pharmacokinetics in Orkambi® combination. The GLPG 2737 decreased sweat chloride values and it was well-tolerated by patients. A next step is to assess the safety, tolerability and efficacy of the triple combination of correctors (GLPG 2737 + 2222) and potentiator (GLPG 2451) in patients with CF (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03540524)

VX-371 (formerly P-1037). It is a study phase II with 142 F508del patients homozygous who undergo treatment with Orkambi®¹³ (ClinicalTrials.gov Identifier NCT02709109). VX-371 blocks the sodium channels, prolonging the duration and maintenance of fluid in the airways after hypertonic saline use. It results in a simpler bronchial cleansing process³³. The same drug has been analyzed in a phase II study for patients with primary ciliary dyskinesia (NCT02871778). A previous phase II study demonstrated good drug tolerance in CF patients without modulators, regardless of mutation.

Repurposed Drugs

Riociguat. It has been prospected as a proteostatis regulator¹³, which was previously used for pulmonary hypertension. Riociguat is a soluble guanylate cyclase (sGC) stimulator that targets the nitric oxide (NO), so another enzyme is activated

triggered, cyclic guanosine monophosphate. Such sGC-NO-cGMP system may regulate the CFTR channel³⁴. The study to evaluate the safety, tolerability and initial efficacy (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02170025) showed no positive results, because no improvement was observed in sweat chloride values, nasal potential difference (NPD), LCI or FEV₁. It remains as an invalid option of repurposed drug in CF treatment³⁵.

Miglustat. This drug was approved for use in patients with type 1 Gaucher disease and Niemann-Pick type C disease. It has already been considered for the treatment of glycosphingolipidoses and viral infections later, it began to be investigated in CF after promising results of the normalization in chloride and sodium conductance were found in F508del mice³⁶. It is supposed that Miglustat changes the activity of calnexin, a chaperone protein related with the intracellular processing of F508del protein. By this path, calnexin can prevent UPP-mediated degradation of the misfolded protein CFTR³⁷.

In a phase II crossover study 11 F508del homozygous patients received oral miglustat 200 mg or placebo for two 8-day cycles separated by a 14-day washout period (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00742092). Pharmacokinetics and safety were similar to those of other patients who already used Miglustat. The authors reported no improvement regarding the variables: NPD, sweat chloride values or FEV₁ in CF patients³⁸. These data might be due to the small sample number and for treatment protocol³⁹. A further study (phase II and III) has been carried out in order to evaluate the possible benefits of Miglustat in F508del homozygous patients (NCT02325362).

Resveratrol. It is a polyphenolic flavonoid compound found in vegetables and fruits, such as peanuts and grapes, often associated with beneficial effects of red wine. It has anti-inflammatory, antimutagenic, chemoprotective and antioxidant properties⁴⁰. Monomeric Resveratrol increases CFTR activity, somehow acts potentiating the CFTR channel, while oligomeric resveratrol is a CFTR inhibitor⁴¹. Molecular target remains unclear⁴², the ability to combine beneficial effects on chloride transport by CFTR with its anti-inflammatory action. However, it is corroborated Resveratrol as a candidate repurposed drug.

The efficacy in the processing and trafficking of cell CFTR or mouse models, was reported elsewhere⁴²⁻⁴⁴. Despite of these promising results, such studies have used concentrations between 50 and 100 μ M, which \sim 50-fold greater than those

pharmacologically achieved in plasma⁴³⁻⁴⁶. Studies in humans demonstrate it is low availability of orally administered Resveratrol, about 2µM in the blood even after the intake of high doses⁴⁷. Furthermore, high concentrations of Resveratrol might increase CFTR expression, but the drug was unable to increase the activity of the mutated CFTR channel in primary airway cells at physiologically relevant concentrations⁴⁶. These preclinical data corroborate Resveratrol as beneficial in a cell culture model, but its use in humans still seems premature⁴⁰.

Escin. This herbal agent is a saponin extract from the horse chestnut tree commonly used in the treatment of varicose veins due to anti-inflammatory properties⁴⁸. *In vitro* Escin potentially restores a functional CFTR protein expression^{48,49,50}. There were results that verified the increase in activity in CFTR cells of 35-45% of wild-type CFTR in primary airway cells derived from G542X / F508del and 20% of wild-type CFTR in cells from W1282X / F508, there were two times more mRNA expression suggesting that it might also inhibit NMD and stabilize mRNA⁴⁸. Also, Escin has been a suitable drug for chronic venous disease in humans⁵¹. Further analyses should be made to reinforce the clinical benefits, and then move towards conducting clinical trials.

Ibuprofen. It has already been used in CF patients because of its anti-inflammatory properties and a decrease in FEV₁. Currently, a relationship between ibuprofen and CFTR correction has been identified in F508del patients. Probably, the drug inhibits the COX (cyclooxygenase) protein family, particularly COX-1 which is reported as a disease severity factor⁵².

Despite its benefits, ibuprofen has been prescribed with caution due to the risk of renal and gastrointestinal injury. By the other hand, a pilot study showed no correlation between ibuprofen high doses and acute kidney injury⁵³. These studies suggest the possibility of using ibuprofen as a combinatorial therapy in inhaled nanoparticles. In mice, ibuprofen had antimicrobial capacity *Pseudomonas aeruginosa* in a dose-dependent manner, which had the pharmacokinetics profile improved by encapsulating ibuprofen with polymer nanoparticles (Ibu-NPs)⁵⁴.

Curcumin. It is one of the main constituents of *Curcuma Longa* (turmeric spice) known by its anti-inflammatory, antioxidant, anticarcinogenic, antiviral and anti-infective activities⁵⁵. The F508del mutation results in the incorrect folding of the CFTR protein, which is retained in the endoplasmic reticulum (RE) and is routed to degradation⁵⁶. The main assumptions on the curcumin action, relies on protein

retention in RE depends on chaperone proteins, many dependent on Ca⁺⁺. In such a context, curcumin is considered a SERCA ((Sarco (Endo)plasmic Reticulum Calcium ATPase) inhibitor, reducing the stock of Ca⁺⁺, so allowing CFTR to escape and go to surface of the cell⁵⁷.

Curcumin was associated with reported a nasal reversed potential difference F508del mice after 3 days of oral administration of curcumin. These doses were well tolerated in humans⁵⁸. However, knockout CFTR mice showed no clinical improvement, indicating that curcumin action is dependent of F508del mutation⁵⁹. In another study conducted with a similar design, curcumin had no significant effect on CFTR correction, and serum curcumin levels did not prove to be sufficient for the inhibition of the SERCA pump⁶⁰. The oral administration of PLGA nanoparticles encapsulating curcumin increases the therapeutic effects observed in NPD in mice when compared to unencapsulated curcumin⁶¹.

Curcumin/Genistein. Genistein is a bioflavonoid compound found in legumes⁶². Its mechanism of interaction has been studied for a long time but has not yet been fully elucidated. Some studies suggest that is lipid layer⁶³, others studies demonstrate blocking the ATP dependent gating of CFTR channels by increasing the opening rate⁵⁹. Yu et al.⁶⁴, through the patch clamp technique, verified showed a synergistic effect of restoring the gating defect of G551D-CFTR up to ~ 50% of the WT-CFTR level by the combination of curcumin and genistein, This study also demonstrates the importance of the combination of therapies in order to better potentiate CFTR, besides the possibility of decreasing doses and side effects.

Roscovitine. It is a kinase inhibitor widely studied especially for cancer. In FC, it acts in protein misfolding as a partial corrector of F508del⁶⁵. Roscovitine is also beneficial considering the associations between chronic infections by pseudomonas and the decline of lung function, as it stimulates the bactericidal properties of alveolar macrophages by lowering their abnormally elevated intraphagolysosomal pH⁶⁶. The drug has anti-inflammatory properties due to the effects on neutrophils, eosinophils and the balance of Th17/Tregs inflammatory lymphocytes, which potentiate the resolution of inflammation and repair the innate immunity⁶⁷.

Roscovitine has a dual mechanism of CDK-independent action, inhibiting of calnexin/F508del and directly inhibiting the proteasome activity⁶⁵. The phase IIa multicenter study, placebo controlled, with varying doses of roscovitine (200, 400,

800 mg) presented good patient tolerance, but the remaining results were not yet reported (clinicaltrials.gov: NCT02649751)⁶⁸.

Suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA). It is an inhibitor of Histone Acetyl DeAcetylases (HDAC), which are modulatory enzymes of transcriptional events. This epigenetic mechanism control cellular function in response to environmental changes or during development⁶⁹. Inhibition is suggested to restore HDAC function by poorly folded proteins due to altered states of acetylation, which influence the epigenome and readjust cellular physiology. In CF, SAHA restored 28% of the wild-type CFTR function in F508del cells⁷⁰.

The SAHA-induced HDAC inhibition might control the levels of IL-6, stimulated by *Pseudomonas-aeruginosa*-lipopolysaccharide, neutrophil, NFκB- and Nrf2 activities. Also, SAHA-induced HDAC inhibition promotes FoxP3 + T-reg activity, modulating the adaptive and innate immune responses⁷¹. However, correction of CFTR activity by SAHA was remains controversial⁷², because SAHA as a repurposed drug for CF treatment is still in preclinical studies.

Cysteamine §. It is a repositioning drug based on precision medicine for functional rescue of F508del^{73,74}. The drug was approved by the FDA for nephropathic cystinosis treatment. In preclinical studies, cysteamine has restored autophagy by avoiding TG2-mediated sequestration of BECN1 and reducing SQSTM1 / p62 levels. It is a TG2 inhibitor, there is the re-addressing of the post-translational network and endosomal trafficking reestablishment⁷⁴. Cysteamine makes possible, through this process, for CFTR to travel and reside on the plasma membrane¹³.

The CK2 protein kinase has the ability to degradation and reduce the stability of F508del in the plasma membrane⁷⁵. Thus, epigallocatechin-gallate (EGCG), the natural flavonoid compound found in green tea, has been identified as a CK2 inhibitor. EGCG reduce F508del fragmentation and prevents its elimination while maintaining the benefits of cysteamine for longer. It is worth of note that, in 2014, Cysteamine was considered by the European Medicines Agency as an orphan drug.

The combination of cysteamine and EGCG in F508del reduced sweat chloride concentrations and airway inflammation in a phase II study (EudraCT##2013-001258-82)⁷⁴. The extent of the clinical study confirmed efficacy of treatment, demonstrating to be variable according of mutation since homozygous class I patients did not respond to treatment⁷⁶. Cysteamine also demonstrated

antibacterial activity in *Burkholderia cenocepacia*, *Burkholderia multivorans*, *Pseudomonas aeruginosa* and Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), acting as a complement to antibiotics in CF patients⁷⁷.

DISCUSSION

During patients genotype, we found a new mutation, rare mutations, allele frequencies different from those reported in other countries. These findings corroborate the genotypic complexity of Latin America (e.g. in Colombia and Mexico)⁷⁸. The new mutant allele reported here is p.Ser364Met. It is the substitution of a serine aminoacid for the methionine and consequently promotes a premature stop. Besides this, the V232D mutant allele is, here, described by the first time in Brazil⁸.

Our data on mutations variability shows a highly mixed population in Goiás, especially considering the number of patients (36 patients for 17 mutations). The most frequency mutations are those first by described from Europe population (64.7%), as observed with the F508del mutant allele⁴⁹. Further others Europe an mutations likely to result from mixing with Euro-descendants, as previously mentioned, the tri-hybrid composition of the state the majority is European (62.7%)⁹. F508del was the most common mutation found in Goiás, approximately the same of found in Brazil (41.6 and 48.7, respectively)⁸. The reduction of F508del frequency compared to other countries has already been reported in other Brazilian states.

The F508del mutations similarity found in the state of Goiás compared to other states in Brazil is 29.4% in São Paulo⁸⁰ and South⁸¹, 41.1% in Minas Gerais⁸², northeast⁸³ and Rio de Janeiro⁸⁴, 47% in Paraná⁸⁴. Our findings corroborate the need to use a specific investigation painel for each region in the countries because we have a high miscegenation in the different Brazilian geographic regions.

It is important to report that the region/ethnicity of the patients in whom the mutations were first identified does not necessarily refer to the actual origin of these mutations. There is strong evidence of a link between the history of the spread of *cftr* mutations and geography²⁵. The second most common mutation in Brazil is the G542X (4.32%)⁸ representing 4.1% of the alleles found in Goiânia, Goiás. It is hypothesized that the G542X mutation was introduced in Spain by the eastern Phoenicians (Palestinian civilization). However, it is possible that there are other ways of dissemination, not yet clarified⁸⁷, because G542X mutation is also reported in high frequency in Tunisia (Carthage), the Canary Islands, Sardinia and Sicily⁸⁶.

Investigation of microsatellites haplotype indicates that the G542X and N1303K mutations occurred about 35,000 years ago. It is suggested that, N1303K mutation, was inserted in Europe through the Iberian Peninsula from an Asian origin⁸⁷.

Regarding the fourth most frequent mutation in Brazil, 3120 + 1G-> A (1.19%)⁸, it was identified in African American, Greek and Saudi, possibly from a common ancestor. Although CF is rare in Africa⁸⁸, 3120 + 1G-> A mutation has been reported in Africans due to historical issues of trade, Islamic religion, and historical contacts⁸⁹.

Eight patients in the Goiás State were genotype with F508del or 3272-26A> G mutant allele. These patients are eligible for precision medicine. Among the three current medications available (Orkambi®, Symdeko® and Kalydeco®), Orkambi® and Kalydeco® are recently approved in Brazil. Another important factor is that these drugs are considered of high cost and although they have been approved in Brazil, they are not incorporated into the Unified Health System (SUS), this directly implies in the possibility of being adhered to the treatment of these patients.

In addition to the drugs already available, there is great expectation regarding new drugs that are in the process of development. Triple combination therapy (GLPG2222, GLPG2451, GLPG 2737; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03540524) appears to be an interesting alternative for expanding target mutations. In Brazil, there is still no reports of precision medicine and we have some important barriers to make it come true. It is important to highlight the limitations of our study, which focuses therapeutic perspectives, based only on the genotypes of our patients. Precision medicine is highly complex and takes into account many other important aspects, such as environment, lifestyle, as well as the careful evaluation of clinical aspects is each patient⁹⁰. None the less, We have achieved our goal to highlight the possibilities and open possibilities for new treatment approaches. Drug repositioning is a promising alternative, especially for the reduction of long processes and high-cost drugs¹³. Cysteamine, EGCG and Roscovitine are examples of promising drugs for CF treatment.

Mutations distribution tell a rich history about geographic origins, more studies must be carried out of mutations present in Brazil and their historical meanings, especially on mutations not yet described elsewhere. In this study, further to report the *cftr* mutations in CF patients from Goiânia. We have supported that our patients are genetically eligible for new drug therapies. We also did an up-to-date

review of the new drugs available and the repositioning of drugs, and concluded that current drug scenario for CF is promising.

REFERENCES

1. Schmidt BZ, Haaf BJ, Leal T, Noel S. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator modulators in cystic fibrosis: current perspectives. *Clin Pharmacol.* 2016;8:127-140.
2. Rowntree RK, Harris A. The Phenotypic Consequences of *CFTR* Mutations. *Annals of Human Genetics.* 2003;67:471-485.
3. Haardt M, Benharouga M, Lechardeur D, Kartner N, Lukaes GL. C-terminal Truncations Destabilize the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator without Impairing Its Biogenesis. *J Biol Chem.* 1999;274(34):21873–21877.
4. Boeck K, Amaral MD. Progress in therapies for cystic fibrosis. *Lancet Respir Med.* 2016;4(8):662-674.
5. Liu K, Liu Y, Li X, Xu KF, Tian X, Zhang Xue. A novel homozygous complex deletion in *CFTR* caused cystic fibrosis in a Chinese patient. *Mol Genet Genomics.* 2017.
6. Malcomson B, Wilson H, Veglia E, Thillaiyampalam G, Barsden R, Donegan S et al. Connectivity mapping (ssCMap) to predict A20-inducing drugs and their antiinflammatory action in cystic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci.* 2018; 113(26):E3725-E3734.
7. Raskin S, Ferrari LP, Reis FC, Abreu F, Marostica P, Rozav T, et al. Incidence of cystic fibrosis in five different states of Brazil as determined by screening of p.F508del, mutation at the *CFTR* gene in newborns and patients. *J Cyst Fibros.* 2008;7:15-22.
8. Registro Brasileiro de Fibrose Cística. USP. 2015; 1-33.
9. Godinho NMO. O Impacto das Migrações na Constituição Genética de População Latino-Americanas. Brasília. Tese [Doutor em Ciências Biológicas] – Universidade de Brasília – UnB; 2008.
10. Faucz RF, Souza DAS, Olandoski M, Raskin S. *CFTR* allelic heterogeneity in Brazil: historical and geographical perspectives and implications for screening and counseling for cystic fibrosis in this country. *Journal of Human Genetics.* 2010;55:71-76.

11. Feng LB, Grosse SD, Green RF, Fink AK, Sawicki GS. Precision Medicine In Action: The Impact Of Ivacaftor On Cystic Fibrosis–Related Hospitalizations. *Health Aff.* 2018;37(5):773-779.
12. Ramsey BW, Davies J, McElvaney G, Tullis E, Bell SC, Dřevínek P, et al. A CFTR Potentiator in Patients with Cystic Fibrosis and the *G551D* Mutation. *N Engl J Med.* 2011;365(18):1663-1671.
13. Tosco A, Villella VR, Castaldo A, Kroemer G, Maiuri L, Raia V. Repurposing therapies for the personalized treatment of cystic fibrosis. *Expert Opin Orphan Drugs.* 2018;6(8):361-373.
14. Rowe SM, Daines C, Kerem E, Wilson J, Tullis E, Nair N et al. Tezacaftor-Ivacaftor in Residual-Function Heterozygotes with Cystic Fibrosis. *N Engl J Med.* 2017;377(21):2024-2035.
15. Konstan M, McKone E, Moss R, Marigowda G, Tian S, Waltz D, et al. Assessment of safety and efficacy of long-term treatment with combination lumacaftor and ivacaftor therapy in patients with cystic fibrosis homozygous for the F508del-CFTR mutation (PROGRESS): a phase 3, extension study. *Lancet Respir Med.* 2016;16:2213-2600.
16. Langron E, Prins S, Vergani P. CFTR potentiation by VX-770 involves stabilization of the pre-hydrolytic, O 1 state. *Br. J. Pharmacol.* 2018;175(20):3990-4002.
17. Jih KY, Hwang TC. Vx-770 potentiates CFTR function by promoting decoupling between the gating cycle and ATP hydrolysis cycle. *Proc Natl Acad Sci.* 2013;110(11):4404-4409.
18. Davies JC, Wainwright CE, Canny GJ, Chilvers MA, Howenstine MS, Munck A et al. Efficacy and safety of ivacaftor in patients aged 6 to 11 years with cystic fibrosis with a G551D mutation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187(11):1219-1225.
19. Moss R, Flume P, Elborn S, Cooke J, Rowe SM, McColley SA, et al. Efficacy and safety of ivacaftor treatment: randomized trial in cystic fibrosis who have an R117H-CFTR mutation. *Lancet Respir Med.* 2016;3:524-533.
20. Wainwright C, Elborn J, Ramsey B, Marigowda G, Huang X., Cipolli M, et al. *N Engl J Med.* 2015;373:220-231.

21. Boyle MP, Bell SC, Konstan MW, McColley SA, Rowe SM, Rietschel E et al. A CFTR corrector (lumacaftor) and a CFTR potentiator (ivacaftor) for treatment of patients with cystic fibrosis who have a phe508del CFTR mutation: a phase 2 randomised controlled trial. *Lancet Respir Med.* 2014;2(7):527-538.
22. Graeber S, Dopfer C, Naehrlich L, Gyulumyan L, Scheuermann H, Hirtz S, et al. Effects of lumacaftor-ivacaftor therapy on cystic fibrosis transmembrane conductance regulator function in Phe508del homozygous patients with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2018;11:1433-1442.
23. Barnaby R, Koeppen K, Nymon A, Hampton TH1, Berwin B1, Ashare A, et al. Lumacaftor (VX-809) restores the ability of CF macrophages to phagocytose and kill *Pseudomonas aeruginosa*. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2018;314:L432-L438.
24. Donaldson SH, Pilewski JM, Griese M, Cooke J, Viswanathans L, Tullis E, et al. Tezacaftor/Ivacaftor in Subjects with Cystic Fibrosis and F508del/F508del-CFTR or F508del/G551D-CFTR. *Am J Respir Crit Care Med.* 2018;197:214-224.
25. Dawson KP, Frossard PM. The geographic distribution of cystic fibrosis mutations gives clues about population origins. *Eur J Pediatr.* 2000;159(7):496-499.
26. Cousar JLT, Munck A, Mckone EF, Der CKV, Moeller A, Simard C, et al. Tezacaftor–Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del. *N Engl J Med.* 2017;377(21):2013-2023.
27. Du M, Liu X, Welch EM, Hirawat S, Peltz SW, Bedwell DM. PTC124 is an orally bioavailable compound that promotes suppression of the human CFTR-G542X nonsense allele in a CF mouse model. *Proc Natl Acad Sci.* 2008; 105(6): 2064-2069.
28. Wilschanski M, Miller L, Shoseyov D. Chronic ataluren (PTC124) treatment of nonsense mutation cystic fibrosis. *Eur Respir J* 2011;38:59-69.
29. Kerem E, Boeck K, Accurso FJ, Sermet-Gaudelus I, Elborn JS, Melotti P et al. A randomized placebo-controlled trial of ataluren for the treatment of nonsense mutation cystic fibrosis. *Lancet Respir Med.* 2014;2(7):539–547.

30. Abidin NZ, Haq I, Gardner A, Brodlie M. Ataluren in cystic fibrosis: development, clinical studies and where are we now?. *Expert Opin Pharmacother.* 2017;18(13):1363-1371.
31. Kazani S, Alcantara J, Debonnett L, Doucet J, Jones I, Kulmatycki K, et al. Qbw251 Is A Safe And Efficacious Cftr Potentiator For Patients With Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2016;196:A7789.
32. Brearley CJ, Gesson C, Kanters D, Cock P, Conrath K, Corveleyn S, et al. Safety, tolerability and pharmacokinetics of a novel CFTR potentiator GLPG1837 in healthy volunteers. *Pediatr pulmonol.* 2015;50(S41):S193-S453.
33. Cystic Fibrosis Foundation. VX-371 formerly (P-1037) - CFF Clinical Trials Tool. Cystic Fibrosis Foundation.
34. Frey R, Becker C, Saleh S, Unger S, Mey D, Mück W. Clinical Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Profile of Riociguat. *Clin Pharmacokinet.* 2018;50:647-661.
35. Taylor-Cousar JL, Tullis E, Derichs N, Davies JC, Nazareth D, Downey D, et al. P028 Riociguat for the treatment of adult Phe508del homozygous cystic fibrosis: efficacy data from the Phase II Rio-CF study. *J Cyst Fibros.* 2018;17:S67.
36. Lubamba B, Lebacq J, Lebecque P, Vanbever R, Leonard A, Wallemacq P, Leal T. Airway delivery of low-dose miglustat normalizes nasal potential difference in F508del cystic fibrosis mice. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179:1022-1028.
37. Noel S, Wilke M, Bot A, De Jonge HR, Becq F. Parallel Improvement of Sodium and Chloride Transport Defects by Miglustat (n-Butyldeoxyojymicin) in Cystic Fibrosis Epithelial Cells. *J Pharmacol Exp Ther.* 2008; 325:1016-1023.
38. Leonard A, Lebecque P, Dingemanse J, Leal T. A randomized placebo-controlled trial of miglustat in cystic fibrosis based on nasal potential difference. *J Cyst Fibros.* 2012;11:231-236.
39. Jenkins BA; Glenn LL. Miglustat effects on the basal nasal potential differences in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2013;12(1):88.
40. Dey I, Shah K, Bradbury N. Natural Compounds as Therapeutic Agents in the Treatment Cystic Fibrosis. *J Genet Syndr Gene Ther.* 2016;7:1-10.

41. Zhang Y, Yu B, Sui Y, Gao X, Yang H, Ma T. Identification of resveratrol oligomers as inhibitors of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator by high-throughput screening of natural products from Chinese medicinal plants. *PloS ONE*. 2014.
42. Dhooche B, Bouckart C, Capron A, Wallemacq P, Leal T, Noel S. Resveratrol increases F508del-CFTR dependent salivary secretion in cystic fibrosis mice. *Development*. 2015;9(4):1-10.
43. Alexander NS, Hatch N, Zhang S, Skinner D, Fortenberry J, Sorscher EJ et al. Resveratrol has Salutory Effects on Mucociliary Transport and Inflammation in Sinonasal Epithelium. *Curr. Biol*. 2011;141(4):520-529.
44. Zhang S, Blount AC, Mcnicholas CM, Skinner DF, Chestnut M, Kappes Jr. Resveratrol Enhances Airway Surface Liquid Depth in Sinonasal Epithelium by Increasing Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Open Probability. *PLoS ONE*. 2013;8:1-9.
45. Hamdaoui N, Baudoin-Legros M, Kelly M, Aissat A, Moriceau S, Vieu DL et al. Resveratrol rescues cAMP-dependent anionic transport in the cystic fibrosis pancreatic cell line CFPAC1. *Br J Pharmacol*. 2011;4:876-886.
46. Ying Jai Y, Shah K, Bridges R, Bradbury NA. Evidence against Resveratrol as a viable therapy for the rescue of defective $\Delta F508$ CFTR. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1850(11):2377–238.
47. Walle T. Bioavailability of resveratrol. *Ann N Y Acad Sci*. 2011;1215:9-15.
48. Sermet-Gaudelus I, Namy O. New pharmacological approaches to treat patients with cystic fibrosis with nonsense mutations. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016;194(9):1042-1044.
49. Pranke I, Bidou L, Martin N, Blanchet S, Hatton A, Karri S, et al. Factors influencing readthrough therapy for frequent cystic fibrosis premature termination codons. *ERJ Open Research*. 2018;4:00080-2017.
50. Mutyam V, Du M, Xue X, Keeling KM, White EL, Bostwick JR et al. Discovery of clinically approved agents that promote suppression of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator nonsense mutations. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016;194:1092-1103.
51. Suter A, Bommer S, Rechner J. Treatment of Patients With Venous Insufficiency With Fresh Plant Horse Chestnut Seed Extract: A Review of 5 Clinical Studies. *Adv Ther*. 2006;23:179-189.

52. Carlile G, Robert R, Goepf J, Matthes E, Liao J, Kus B. Ibuprofen rescues mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator trafficking. *J Cyst Fibros.* 2015;14:16-25.
53. Lahiri T, Guillet A, Diehl S, Ferguson M. High-dose ibuprofen is not associated with increased biomarkers of kidney injury in patients with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2014; 49(2):148-153.
54. Shah P, Marshall-Batty K, Smolen JA, Tagaev JA, Chen Q, Rodesney CA. Antimicrobial Activity of Ibuprofen Against Cystic Fibrosis Associated Gram-Negative Pathogens. *Antimicrob. agents chemother.* 2018; 23;62(3):01574-17.
55. Joe B, Vijaykumar M, Lokesh BR. Biological Properties of Curcumin- Cellular and Molecular Mechanisms of Action. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2013;44(2):97-111.
56. Skash WR. Defects in processing and trafficking of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Kidney Int.* 2000;57(3):825-831.
57. Egan M, Glockner-Pagel J, Ambrose CA, Cahill PA, Pappoe L, Balamuth N et al. Calcium-pump inhibitors induce functional surface expression of Δ F508-CFTR protein in cystic fibrosis epithelial cells. *Nat Med.* 2002;8:485-492.
58. Cheng A, Hsu CH, Lin JK, Hsu MM, Ho YF, Shen TS, et al. Phase I Clinical Trial of Curcumin, a Chemopreventive Agent, in Patients with High-risk or Pre-malignant Lesions. *Anticancer Res.* 2001;21:2895-2900.
59. Egan M, Egan M, Pearson M, Rajendran V, Rubin D, Glöckner-Pagel J et al. Curcumin, a Major Constituent of Turmeric, Corrects Cystic Fibrosis Defects. *Science.* 2004;304(5670):600-602.
60. Song Y, Sonawane ND, Salinas D, Qian L, Pedemonte N, Galletta LJV, et al. Evidence against the Rescue of Defective Δ F508-CFTR Cellular Processing by Curcumin in Cell Culture and Mouse Models. *J Biol Chem.* 2004;279(39):40629-40633.
61. Cartiera M, Ferreira E, Caputo C, Egan ME, Caplan MJ, Saltzman WM. Partial Correction of Cystic Fibrosis Defects with PLGA Nanoparticles Encapsulating Curcumin. *Mol Pharm.* 2011; 7: 1-21.
62. Dixon R, Ferreira D. Molecules of Interest Genistein. *Phytochemistry.* 2002; 60: 205-211.

63. Hwang T, Koeppe II R, Andersen O. Genistein Can Modulate Channel Function by a Phosphorylation-Independent Mechanism: Importance of Hydrophobic Mismatch and Bilayer Mechanics. *J. Am. Chem. Soc.* 2003;42:13646-13658.
64. Yu YC, Miki H, Nakamura Y, Hanyuda A, Matsuzaki Y, Abe Y, et al. Curcumin and genistein additively potentiate G551D-CFTR. *J Cyst Fibros.* 2011;10(4):243-252.
65. Norez C, Vandebrouck C, Bertrand J, Noel S, Durieu E, Oumato N. Roscovitine is a proteostasis regulator that corrects the trafficking defect of F508del-CFTR by a CDK-independent mechanism. *BJP.* 2014;171:4831-4849.
66. Riazanski V, Gabdoulkhakova AG, Boynton LS, Eguchi RR, Deriy LV, Hogarth DK, et al. TRPC6 channel translocation into phagosomal membrane augments phagosomal function. *J. Cell Biol.* 2015;112(47):E6486–E6495.
67. Meijer L, Hery-Arnaud G, Le Berre R, Nowak E, Rault G, Mottier D. ROSCO-CF, a safety and efficacy clinical trial of (R)-roscovitine in CF patients. *Pediatr Pulmonol.* 2018;51:269.
68. Meijer L, Nelson D, Riazanski V, Gabdoulkhakova AG, Hery-Arnaud G, Le Berre R, et al. Modulating innate and adaptative immunity by (R)-roscovitine: potential therapeutic opportunity in cystic fibrosis. *J Innate Immun.* 2016;8:330–334.
69. Haberland M, Montgomery R, Olson E. The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy. *Nat Rev Genet.* 2011;10:32-42.
70. Hutt D, Herman D, Rodrigues A, Noel S, Pilewski JM, Matteson J, et al. Reduced Histone Deacetylase 7 Activity Restores Function to Misfolded CFTR in Cystic Fibrosis. *Nat Chem Biol.* 2011;6:25-33.
71. Bordas M, Mazur S, Min T, Vij N. Inhibition of histone-deacetylase activity rescues inflammatory cystic fibrosis lung disease by modulating innate and adaptive immune responses. *Respir. Res.* 2018;19:1-12.
72. Bergougnoux A, Petit A, Knabe L, Bribes E, Chiron R, De Sario A, et al. The HDAC inhibitor SAHA does not rescue CFTR membrane expression in Cystic Fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol.* 2017; 88:124-132.

73. Esposito S, Tosco A, Villella V, Raia V, Kroemer G, Maiuri L. Manipulating proteostasis to repair the F508del-CFTR defect in cystic fibrosis. *Mol Cell Pediatr.* 2016;13:3-7.
74. Stefano D, Villella V, Esposito S, Tosco A, Sepe A, De Gregorio F, et al. Restoration of CFTR function in patients with cystic fibrosis carrying the F508del-CFTR mutation. *Transl Res.* 2014;10:2053-2074.
75. Cozza G, Pinna LA, Moro S. Kinase CK2 Inhibition: An Update. *Curr. Med. Chem.* 2013;20(5):671-693.
76. Tosco A, Gregorio F, Esposito S, Stefano D, Sana I, Ferrari I. et al. A novel treatment of cystic fibrosis acting on-target: cysteamine plus epigallocatechin gallate for the autophagy-dependent rescue of class II-mutated CFTR. *Cell Death Differ.* 2016;23(28):1380-1393.
77. Shresth CL, Assani KD, Rinehardt H, Albastroiu F, Zhang S, Shel R, et al. Cysteamine-mediated clearance of antibiotic-resistant pathogens in human cystic fibrosis macrophages. *PLoS One.* 2017;(10)1-17.
78. World Health Organization. The molecular genetics epidemiology of cystic fibrosis. Italia: World Health Organization; 2002.
79. Souza DAS, Faucs FR, Alexandre RB, Sanrana MA, Souza ELS, Reis FJ, et al. Cystic fibrosis in Afro-Brazilians: *XK* haplotypes analysis supports the European origin of *p.F508del* mutation. *Genetica.* 2017;145:19-25.
80. Nunes LM, Ribeiro R, Niewiadonski VDT, Sabino E, Yamamoto GL, Bertola DR, et al. A new insight into CFTR allele frequency in Brazil through next generation sequencing. *Pediatr Pulmonol.* 2017;1-6.
81. Streit C, Neto ACB, Silva FA, Giugliani R, Pereira MLS. CFTR gene: molecular analysis in patients from South Brazil. *Molecular Genetics and Metabolism.* 2003;78:259-264.
82. Perone C, Medeiros GS, Castelo DM, Aguiar MJB, Januário JN. Frequency of 8 CFTR gene mutations in cystic fibrosis patients in Minas Gerais, Brazil, diagnosed by neonatal screening. *Rev Braz J Med Biol Res.* 2010;43:134-138.
83. Mota LR, Castro LL, Ferreira TA, Lima RLLF, Toralles MBP, Souza EL. Cystic fibrosis: Identification and frequency of mutations in a mixed population from a low-income region in Northeastern Brazil. *Pediatr Pulmonol.* 2018;1-3.

84. Giselda MK, Cabello PH, Otsuki K, Gombarovits ME, Juan C, Llerena JR, et al. Molecular Analysis of 23 Exons of the CFTR Gene in Brazilian Patients Leads to the Finding of Rare Cystic Fibrosis Mutations. *Human Biology*. 2005;77(1):125-135.
85. Faucz FR, Gimenez J, Ramos MD, Ferrari PL, Estivill X, Raskin S, et al. Cystic fibrosis in a southern Brazilian population: characteristics of 90% of the alleles. *Rev Clin Genet*. 2007;72:218–223.
86. Bertranpetit J, Calafell F. Genetic and geographical variability in cystic fibrosis: evolutionary considerations. *Ciba Found Symp*. 1996;197:97-114.
87. Estivill X, Morral N Evolution of Cystic Fibrosis Alleles. In Dodge JA, Brock DJH, Widdicombe JH (eds): *Cystic Fibrosis. Current Topics*. Sussex: John Wiley & Sons. 1996:141–164.
88. Estivill X, Bancells C, Ramos C. Geographic distribution and regional origin of 272 cystic fibrosis mutations in European populations. The Biomed CF Mutation Analysis Consortium. *Hum Mutat*. 1997;10(2):135-54.
89. Dougall LM. Fibrocystic Disease of The Pancreas in African Children. *Lancet*. 1962;28 (7252):409-41.
90. Dörk T, El-Harith EH, Stuhmann M, Macek M Jr, Egan M, Cutting GR et al. Evidence for a common ethnic origin of cystic fibrosis mutation 3120+1G-->A in diverse populations. *Am J Hum Genet*. 1998;63(2):656-62.
91. Marson FAL, Bertuzzo CS, Ribeiro JD. Personalized Or Precision Medicine? The Example of Cystic Fibrosis. *Front Pharmacol*. 2017;8:1-8.

Table 1. Genetic data of patients, mutation characteristics and drug eligibility.

Gene Location	Mutation	Mutation class	No. of patients		Mutation alleles %	First description	Brazil Distribution alleles %
			Homo	Hetero			
Exon 10	F508del	II	7 ^{2,3}	16	41.6	Caucasian	48.75
Exon 7	R334W	IV	-	9	12.5	Spanish	1.22
Exon 1	S4X	I	1	6	11.1	Slovenian	0.31
Exon17b	R1066C	II	1	3	6.9	French	0.23
Exon 3	G85E	II	-	4	5.5	French Canadian/ Italian	0.97
Exon 11	G542X	I	-	3	4.1	Ashkenazic Jewish	4.32
Éxon 6a	V232D	V	-	2	2.7	French	Unknown
Exon 20	W1282X	I	1	-	2.7	French	0.45
Íntron 16	3120+1G->A	I	-	1	1.3	African	1.19
Exon 19	R1162X	I	-	1	1.3	North Eastern Italy	1.10
Exon 21	N1303K	II	-	1	1.3	British Caucasian	0.94
Exon 11	R553X	I	-	1	1.3	American Black	0.31
Exon 10	I507del	II	-	1	1.3	French-Canadian	0.14
Íntron17a	3272-26A>G	unknown	-	1 ^{1,3}	1.3	French	0.09
-	Del exon 12	unknown	-	1	1.3	-	-
Unknow	p.Ser364Met	unknown	-	1	1.3	Novel	-
-	Del 1pb exon	unknown	-	1	1.3	-	-

Genetically eligible: ¹SYMDEKO™ (ivacaftor/tezacaftor); ²ORKAMBI™ (lumacaftor/ivacaftor); ³KALYDECO™ (ivacaftor).

4.6 Artigo 6. Benefits of aerobic exercise and strength training in Cystic Fibrosis patients – a Systematic Review of Literature

FOLHA DE ROSTO

BENEFITS OF AEROBIC EXERCISE AND STRENGTH TRAINING IN CYSTIC FIBROSIS PATIENTS – A SYSTEMATIC REVIEW OF LITERATURE

Aerobic exercise and strength training in FC patients

Yasmim Queiroz Santos¹, Clarissa Dal Molin dos Santos², Gleice Rodrigues de Mendonça³, Tânia Cristina Dias da Silva Hamu⁴; Flávio Monteiro Ayres⁵

1. Instituição: Laboratório de Pesquisa em Genética, da Universidade Estadual de Goiás – ESEFFEGO, Goiânia, Goiás, Brasil.

2. ¹ Bacharel em Fisioterapia e discente do Programa de Mestrado em Ciências Aplicadas a Saúde pela Universidade Estadual de Goiás.² Discente de Fisioterapia pela Universidade Estadual de Goiás.³

Laboratório de Pesquisa em Genética – Universidade Estadual de Goiás;

⁴Docente do curso de fisioterapia na Universidade Estadual de Goiás;

⁵Docente do curso de Fisioterapia e do Mestrado Ciências aplicadas a Produtos para Saúde da Universidade Estadual de Goiás.

3. Autor correspondente: Flávio Monteiro Ayres. Endereço: Av. Oeste, 56-250 - St. Aeroporto, Goiânia - GO, 74075-110, flavioayres@yahoo.com

4. PROEXT/SIGProj N°: 116463.480.94044.13042012 UEG – Universidade Estadual de Goiás

BENEFITS OF AEROBIC EXERCISE AND STRENGTH TRAINING IN CYSTIC FIBROSIS PATIENTS – A SYSTEMATIC REVIEW OF LITERATURE

ABSTRACT

Background: Cystic fibrosis (CF) is a genetic disease that can systemically compromise the individual, especially with progressive lung decline. The control and treatment of CF progression has been systematically researched. Exercise may be a viable treatment alternative for improvement or maintenance of lung function and other symptoms. **Objective:** This study aimed to analyze the impact of aerobic exercise and strength exercise in patients with CF. **Methods:** A systematic review of the literature was performed by using six different databases and two relevance tests were applied to the selection of articles. The agreement among researchers between articles selection and PEDro scale was evaluated by kappa (k). **Results:** In total, 10 articles met the eligibility criteria for review. There were 212 CF patients and 54 controls involved in the studies, the age was broad including children and adults. Only three references reported the sex of the patients, being 20 women and 32 men. The durations of the researches ranged from 2 to 48 weeks. The articles selected showed overall improvements between the modalities evaluated: endurance, resistance, strength and aerobic training. Briefly, the trainings showed benefits in pulmonary function, maximal aerobic capacity, muscle strength, quality of life and anthropometry. **Conclusion:** There are evidences that support physical training as a form of treatment for CF patients, especially at an early stage. Some aspects should be taken into account for choosing the modality, as well as other treatments; the individualization according to specific needs is a recommended alternative.

RESUMO

Introdução: A fibrose cística (FC) é uma doença genética que pode comprometer o indivíduo de forma sistêmica, especialmente com o declínio progressivo do pulmão. O controle e tratamento da progressão da FC têm sido sistematicamente pesquisados. O exercício pode ser uma alternativa de tratamento viável para melhoria ou manutenção da função pulmonar e outros sintomas. **Objetivo:** Este estudo teve como objetivo analisar os efeitos do exercício aeróbico e

do exercício de força em pacientes com FC. **Metodologia:** A revisão sistemática da literatura foi realizada utilizando seis bancos de dados diferentes e dois testes de relevância foram aplicados à seleção de artigos. A concordância entre os pesquisadores na seleção dos artigos pela escala PEDro foi avaliada pelo kappa (k). **Resultados:** No total, 10 artigos preencheram os critérios de inclusão para revisão. Houve 212 pacientes com FC e 54 controles nos estudos, incluindo crianças e adultos. Apenas três referências relataram o sexo dos pacientes, sendo 20 mulheres e 32 homens. As durações das pesquisas variaram de 2 a 48 semanas. Os artigos selecionados apresentaram melhorias gerais entre as modalidades avaliadas: resistência, força e treinamento aeróbico. Resumidamente, os treinamentos demonstraram benefícios na função pulmonar, capacidade aeróbica máxima, força muscular, qualidade de vida e antropometria. **Conclusão:** Há evidências que suportam o treinamento físico como forma de tratamento para pacientes com FC, principalmente de forma precoce. Alguns aspectos devem ser considerados para a escolha da modalidade, a individualização de acordo com necessidades específicas é uma alternativa recomendada.

INTRODUCTION

Cystic Fibrosis (CF) is an autosomal recessive genetic disorder that affects about 70.000 people worldwide¹, most commonly among Caucasians². The physiopathology is due to deficient chlorine ion transport through the apical cell membrane³, the reason why the sweat test the gold standard of diagnosis⁴ followed by *cfr* genotyping⁵.

The disease affects different systems and organs, resulting in growth retardation, persistent respiratory infections, respiratory and cardiac insufficiency, excessive mucus sputum, cough and salt skin⁶. A multidisciplinary approach through an intensive treatment that contributes to reduce such symptoms^{7,8}.

Aerobic exercises imply in the use oxygen as the main source of energy, while the strength training mainly consists on generate muscle overload⁹. In a context of multidisciplinary approach, the prescription of both exercises is surely indicated for CF patients in order to increase muscular resistance, cardiopulmonary capacity and quality of life. The present study aimed to investigate the impact of aerobic exercises and strength training in the prognosis of CF patients.

METHODS

This study is a systematic review of literature (SRL), descriptive, about the aerobic exercise and strength training patients with cystic fibrosis. Descriptors in english, spanish and portuguese were used in data bases: PEDro (Physiotherapy Evidence Database), LILACS, MEDLINE, PubMed, SciELO, BIREME e *Portal de Periódicos CAPES*.

After choosing data's base, from 1983 to December 2017, DECS were used in three different languages in order to selected studies. The DECS utilized were: cystic fibrosis, aerobic exercise, resistance training in all the three languages. Then, the relevance test proposed by Pereira and Bachion (2006)¹⁰ was applied. For relevance test I, abstracts were recorded for later evaluation according to inclusions and exclusion criteria. For relevance test II, full manuscripts were evaluated for data collection and analysed¹¹.

The articles selected by the relevance tests I and II were evaluated by two different researchers. In case of disagreement, a consensus meeting was carried out with a third research¹¹. The agreement among researchers in the relevance tests was evaluated by the kappa (k) coefficient that ensured the reliability and the precision of the analysis. Also, a qualitative evaluation using PEDro scale was performed independently by researchers, followed by an agreement test using k coefficient. We consider that value of $k > 0.75$ represents excellent agreement, value of $k < 0.40$ represents low agreement and values between 0.40 to 0.75 represents median agreement¹².

RESULTS AND DISCUSSION

One hundred one publications were identified in 6 databases, including PEDro, LILACS, MEDLINE, PubMed, SciELO, BIREME and *Portal de Periódicos CAPES*. Repeated studies (N=28) from databases were considered only once. Therefore, 73 references (72.3%) were screened for the test of relevance I. After applying the relevance test I, 51 articles were excluded from the study because they a) were not related to the subject; b) were not published during the stipulated period; c) were in a different language; d) were not primary studies; or e) did not address a solution for the problem investigated. An amount of 22 articles were selected for the test of relevance II, when 12 articles were excluded because they a) were unrelated to the topic of this systematic review; b) the methodology was not clearly described; or c) the objectives or results were inconsistent with the methodology presented. Therefore, 10 references were selected (table 1) for data extraction from a total of

101 references initially retrieved (Figure 1). The agreement among researchers in the relevance tests I and II was good (Kappa=0.87, p=0.001). For PEDro, articles were scaled as 5 and, therefore, of high quality with medium agreement¹³ among researchers (Kappa = 0.70, p 0.001).

The articles are clinical studies that range from crossover^{14,15}, randomized¹⁶, randomized controlled^{17, 18, 19, 20} and non-randomized^{21, 22, 23}. The selected articles were published from 2002 to 2017, corresponding an average of one reference per each 1,5 year. The number of subjects per reference ranged from 12 to 60, amounting 212 CF patients on training program and 54 control subjects. The number of patients is relatively scarce, which is expected because it is a rare disease²⁴. The patients' sex was reported in only three of the 10 references^{14,15,21}, being 20 female and 32 male. Only one article¹⁴ did a comparative analyzes separating patients with CF and the control group by sex. However, as described elsewhere^{25,26}, there were no differences in the results pattern between male and females.

The characteristics of the studies are described in Table 2. The articles analyzed had a training frequency of 1/week²³ to 5/week²⁰, being the 3/week^{14-19,21,22} mode. The durations of the research ranged from 2 to 48 weeks. Also, two articles evaluated CF patients at detraining period^{17,20}. The types of treatment cited were: aerobic, endurance, strength, resistance, inspiratory muscle training (IMT) and respiratory active cycle technique. To standardize, we used the term "aerobic training" instead of "endurance training". The study on "endurance training" was performed with exercises such as swimming, playing, bicycling, aerobics, skiing or skating^{14,15}. We also standardize "resistance training" as "strength training". The active respiratory cycle technique and IMT were evaluated in both, aerobic training^{17,22}. The most common primary outcome measures were pulmonary function (VEF₁), maximal aerobic capacity (VO₂), muscle strength, quality of life (QOF) and anthropometry. Only one article reported functional tests for evaluation of results²². The main results of each article are described in Table 2.

Data were collected regardless of patient's age, because the studies on training program were designed considering different intervals of age ranges. Briefly, patients were up to 18 y.o.^{17, 19, 20, 22}, between 16 and 35 y.o.^{14,15}, over 12 y.o.¹⁸, over 18 y.o.¹⁶, or age range was not informed^{21,23}. Genotypes of *cfr* and phenotype severity were reported in tree references^{15,16,18}, and two articles described the Shwachman-Kulczycki (SK) score^{20,22}. The mutations of the *cfr* gene are one of the

important factors in determining the phenotype²⁷, thus, they can directly influence the individual responses to the proposed treatments, physical health and quality of life. Reporting and analyzing the genotype are important to clarify the reasons of several findings, to understand better the results and their specific biases, as well as conclude correctly the results. Only one of the articles discussed its findings according to genotype, it suggesting that the severe state of physical health of CF patients group could be due to the occurrence of a frame shift mutation (3905insT) in *cftr*¹⁸.

The SK score is widely used to assess CF patients, according to general activity, physical examination, nutrition and radiological findings. Although the SK score does not consider pulmonary function, other information could be useful to analyze and compare broadly the responses to treatment with aerobic and resistance exercises. However, studies that used the SK score reported it only in the pre-exercise^{20,22} to show the severity of the disease among patients at baseline. We believe the comparison with post-exercise values would be valuable to analyze the general benefits of the treatment.

Aerobic training is also capable of increasing anaerobic strength²⁸. Increased strength in CF patients was reported using strength or aerobic training protocols^{17,19,21, 22}. Two studies reported no increase in muscle strength in CF patients, maybe due to patients age. Patients who had a positive response to increased strength were up to 18 y.o.^{17,19,22}. By the other hand, 16 and 35 y.o. CF patients presented no increase in muscle strength^{14,15}. In such a case, aerobic and strength training are important approaches for early treatment, but data on relying this are still poorly available.

Five of selected articles compared aerobic training and strength training^{14,15,18,19,20}. The strength training had a better improvement in FEV₁ than aerobic training for 1 training month²⁰. In 3, 6 and 12 months were possible to observe a significant improvement of FEV₁ and FVC with aerobic and strength trainings¹⁸, indicating increased respiratory muscles strength. The resistance training benefits remained even after 24 months follow-up¹⁸. The resistance training was better than aerobic training when compared in weight gain and leg strength²⁰. Aerobic training has been shown better than resistance training about peak aerobic capacity and activity levels²⁰. The peak of VO₂ is a predictor of mortality, being an important variable in patients with CF that over time has a measurable decline²⁹.

Aerobic training was shown to increase of peak VO_2 ^{17,21}. The group that performed aerobic training maintained of VO_2 values while the strength training group had a significant decrease¹⁹. In the 4-week detraining period, peak of VO_2 decreased with a lower magnitude compared to the increase¹⁷, demonstrating that the effects are positive even at the interruption of physical exercise for a short period.

Only two studies specifically evaluated the results of a mixed training program with aerobic and strength training^{16, 21}. Two studies were cross over and in half the time the patients underwent mixed training^{14, 15}. Exercises program improved about 10% of static strength in the upper limbs and 20% in the strength resistance in the lower limbs²¹. Also, it increased patients VO_{2max} , peak expiratory flow (PEF), weight and strength increase²¹. The mixed program also showed significant results for reduction in total excursion glucose for CF patients with abnormalities in glucose¹⁶.

QOF was evaluated by using Cystic Fibrosis Questionnaire-Revised (CFQ-R)¹⁷ and the Quality of Well-Being (QWB scale)^{19,20}. The aerobic training demonstrated more benefits than the strength training in the quality of life in children^{17,20}. Quality of life correlated better with changes in peak aerobic capacity than changes in FEV_1 ²⁰. Improvement in QOF was found in 4 to 8 weeks of training, but not in longer intervals¹⁹. However, such an absence of QOF improvement in longer studies may be related to absence of positive results, especially, to peak VO_2 and FEV_1 .

CF patient's commonly has weakness in quadriceps muscle²³. Increased quadriceps muscle strength has positive effects on insulin sensitivity and glucose tolerance³⁰. Aerobic and resistance training is effective to gain strength in quadriceps¹⁶. Besides the increase in functional capacity and muscular strength, the exercise program is beneficial to glucose control in FC with diabetes, type 2¹⁶. This finding is extremely important and opens up new research perspectives. CF-related diabetes is one of the most common comorbidities in CF³¹, related to the early decline in lung function³².

A study of strength training and aerobic, cross-over showed contradictory results with a reduction and increase in quadriceps strength at some times, but CF patients were already physically active¹⁵. So, it may be that the results diversify according to the level of training of the patient. The same study that showed no improvement in muscle strength in CF patients suggests that this result is related to

an increase in oxidative capacity. Patients who underwent resistance training had decreased vitamin E, levels and increased IL6 increased risk of lipid peroxidation, aerobic training patients did not have the same results.

The active cycle of breathing techniques proved to be a positive alternative associated with exercise training, generating benefits in terms of thoracic mobility, strength, endurance and speed²². We found that VO_{2peak} consumption in exercise was similar between CF and healthy individuals executing the same exercise and had no differences in compound muscle action potential of the diaphragm evoked from bilateral anterolateral magnetic stimulation of the phrenic nerve²³.

CONCLUSION

We have identified different benefits regarding age, comorbidities and duration according to aerobic training and strength training. Studies showed better benefits with younger patients, so it is recommended to include the training as a form of early treatment. Important predictors of CF patients prognosis and mortality, especially FEV₁ and VO₂, were improved. This result evidenced the need to introduce a training program in the treatment of CF patients. There are also significant improvements in QOF with aerobic training, this increase reflects positively in others treatment aspects. Regarding the choice of training modality, the ideal is a rigorous evaluation patient's needs, and a treatment exercise customized, in order to reach an effective physical training. Currently, once personalized treatments have been increasingly recommended in CF patients, we believe physical exercise should be treated with the same rigor.

REFERENCES

1. Cystic Fibrosis Foundation [homepage on internet]. Raise CF Awareness. [update 2018 nov 5]. Available from: <https://www.cff.org/Get-Involved/Participate/Raise-CF-Awareness/>.
2. Saraiva-Pereira ML, Fitarelli-Kiehl M, Sanseverino MTVA. Genética na fibrose cística. *Revista Hospital das Clínicas de Porto Alegre*. 2011; 31:160-167.
3. Santos YQ, Vinhal LB, Espírito Santo CAF, Ayres FM. Aspectos genéticos e clínicos da fibrose cística. *EnciBio*. 2017; 25:1460–1474.
4. Selimovic A, Mujice E, Milisc S, Mesihovic-Dinararevic S, Dzinovic A, Cengic S, et al. Analysis of cystic fibrosis in Federation of Bosnia and Herzegovina. *Med Arch*. 2015; 69: 222-225.

5. Cystic Fibrosis Mutation Database [home page on Internet]. Genetic Analysis Consortium. Toronto: 2003. [updated 2005 nov 21; cited 2005 Dec 5]. Available from: <http://www.genetic.sickkids.on.ca/cftr/>
6. Castro MCS, Firmida MC. O tratamento da fibrose cística e suas complicações. *Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto*. 2011; 10.
7. Prado ST. O papel da fisioterapia na fibrose cística. *Revista Hospital Pedro Ernesto*. 2011; 10: 118-125.
8. Ribeiro JD, Ribeiro MAGO, Ribeiro AF. Controvérsias na fibrose cística – do pediatra ao especialista. *J Pediatr*. 2002; 78: 171-186.
9. Chaves CRMM, Oliveira CQ, Britto JAA, Elsas MICG. Exercício aeróbico, treinamento de força muscular e testes de aptidão física para adolescentes com fibrose cística: revisão de literatura. *Rev Bras Saúde Matern Infant*. 2007; 7 (3): 245-250.
10. Pereira AL, Bachion MM. Atualidades em revisão sistemática de literatura, critérios de força e grau de recomendação de evidencia. *Revista Gaúcha de Enfermagem*. 2006; 27:419–498.
11. Azevedo RS. Sobrecarga do cuidador informal da pessoa idosa frágil de [manuscrito]: uma revisão sistemática. Belo Horizonte. Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem, 2010.
12. Perroca MG, Gaidzinski RR. Avaliando a confiabilidade inter avaliadores de um instrumento para classificação de pacientes- coeficiente kappa*. *Rev Enferm USP*. 2003;37:72- 80.
13. Landis JR, Koch GG. The Measurement of Observed Agreement for Categorical Data. *Biometrics*. 1977; 33:159–174.
14. Sahlberg M, Eriksson BO, Sixt R, Strandvik B, Cardiopulmonary Data in Response to 6 Months of Training in Physically Active Adult Patients with Classic Cystic Fibrosis. *Respiration*. 2008; 76:412-420.
15. Sahlberg M, Svantesson U, Thomas EM, Andersson BA, Saltin B, Strandvik B. Muscular strength after different types of training in physically active patients with cystic fibrosis. *Scand J Med Sci Sports*. 2008; 18: 756-764.
16. Beaudoin N, Bouvet GF, Coriati A, Rabasa-Lhoret R. Combined Exercise Training Improves Glycemic Control in Adult with Cystic Fibrosis. *Medicine & Science in sports & exercise*. 2016; (17) 231-237.

17. Santa- Sosa E, Gonzalez-Saiz L, Groeneveld IF, Villa-Asensi JR, Agüero MIBG, Steven JF et al. Benefits of combining inspiratory muscle with ‘whole muscle’ training in children with cystic fibrosis: A randomized controlled trial. *Br J Sports Med.* 2013; 00:1-6.
18. Kriemler S, Kieser S, Junge S, Ballmann M, Hebestreit A, Schindler C et al. Effect of supervised training on FEV₁ in cystic fibrosis: A randomized controlled trial. *J Cyst Fibrosis.* 2013; 12:714–720.
19. Orenstein DM, Hovell MF, Mulvihill M, Keating K, Hofstetter R, Kelsey S et al. Strength vs Aerobic Training in Children With Cystic Fibrosis* A Randomized Controlled Trial. *CHEST.* 2004; 126: 1204–1214.
20. Selvadurai HC, Blimkie CJ, Meyers N, Mellis CM, Cooper PJ, Van Asperen PP. Randomized Controlled Study of In-Hospital Exercise Training in Children With Cystic Fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2002; 33: 194-200.
21. Polán CC, García JM. Efectos de un programa de ejercicio físico supervisado domiciliario sobre la capacidad en pacientes adultos con fibrosis quística. Estudio Preliminar. *Apunts Med Esport.* 2011; 46: 125–130.
22. Elbasan B, Tunali N, Duzgun I, Ozcelik U. Effects of chest physiotherapy and aerobic exercise training on physical fitness in young children with cystic fibrosis. *Italian Journal of Pediatrics* 2012; 38: 1-5.
23. Reilly CC, Ward K, Jolley CJ, Frank LA, Elston C, Moxham J et al. Effect of endurance exercise on respiratory muscle function in patients with cystic fibrosis. *Respiratory Physiology & Neurobiology.* 2012; 180: 316–322.
24. Tosco A, Vilella VR, Castaldo A, Kroemer G, Raia LMV. Repurposing therapies for the personalised treatment of cystic fibrosis. *Expert Opinion on Orphan Drugs.* 2018; 6: 361–373.
25. Kraemer WJ, Hakkinen K: *Strength Training for Sport.* Oxford, Blackwell Science.2002.
26. Astrand PO, Rodahl K, Dahl HA, Stromme SB: *Textbook of Work Physiology.* Champaign, Human Kinetics. 2003; (4) 313–368.
27. Vankeerberghen A, Cuppens H, Cassian J. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an intriguing protein with pleiotropic functions. *J Cyst Fibros.* 2002; 1:13–29.

28. Polkey M, Kyroussis D, Keilty S, Hamnegard C, Mills G, Green M et al. Exhaustive treadmill exercise does not reduce twitch transdiaphragmatic pressure in patients with DPOC. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; 152: 959-964.
29. Pianosi P, LeBlanc J, Almudevar A. Peak oxygen uptake and mortality in children with cystic fibrosis. *Thorax.* 2005;60:50-54.
30. Tokmakidis SP, Zois CE, Volaklis KA, Kotsa k, Touvra AM. The effects of combined strength and aerobic exercise program on glucose control and insulin action in women with type 2 diabetes. *Eur J Appl Physiol.* 2004; 92 (4-5): 437-42.
31. Moran A, Dunitz J, Nathan B, Saeed A, Holme B, Thomas W. Cystic fibrosis-related diabetes: current trends in prevalence, incidence, and mortality. *Diabetes Care.* 2009; 32 (9): 1626-31.
32. Moran A, Brunzell C, Cohen RC, Katz M, Marshall BC, Onady G, et al. Clinical care guidelines for cystic fibrosis-related diabetes: a position statement of the American Diabetes Association and a clinical practice guideline of the Cystic Fibrosis Foundation, endorsed by the Pediatric Endocrine Society. *Diabetes care.* 2010; 33 (12): 2697-708.

Figure 1. Diagram of selection of articles for systematic review.

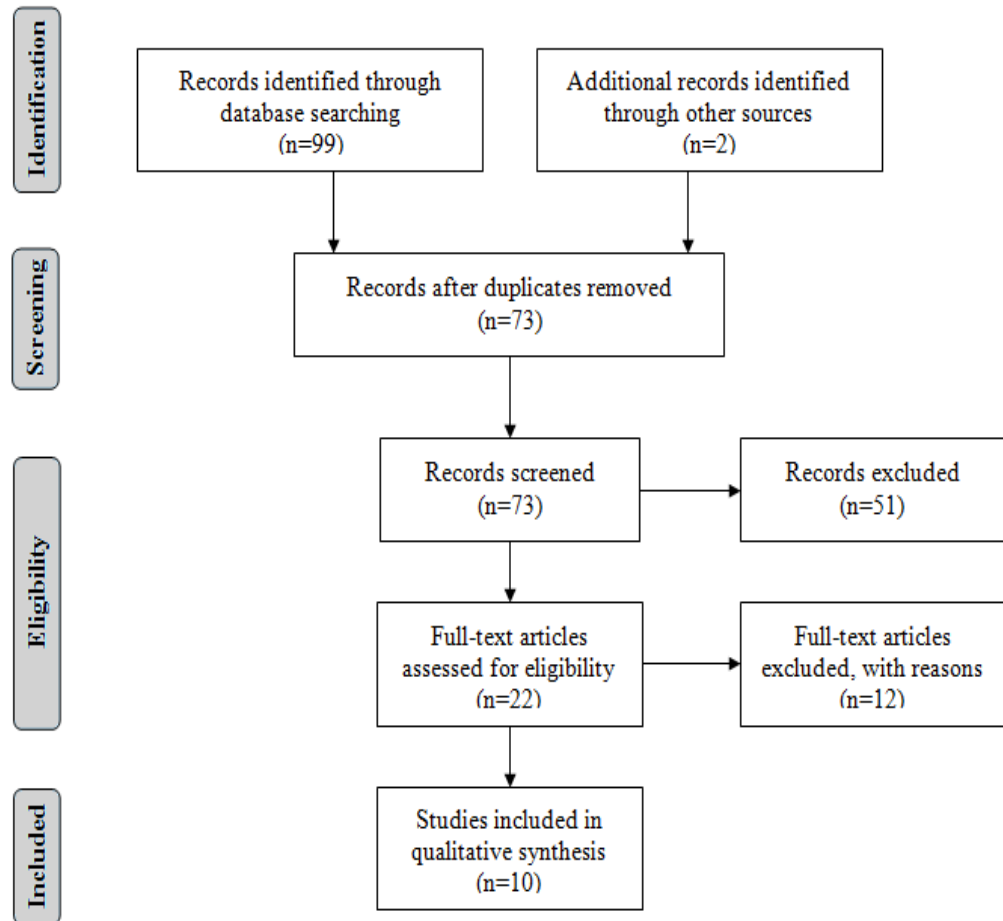


Table 1. Selected articles after relevance tests I and II.

Title	Main author	Location	Year	Periodic
Benefits of combining inspiratory muscle with ‘whole muscle’ training in children with cystic fibrosis : a randomized controlled trial	Santana-Sosa E	Madrid Spain	2013	British Journal of Sports Medicine
Effect of supervised training on FEV ₁ in cystic fibrosis controlled trial	Kriemler S	Zurich Switzerland	2013	Journal of Cystic Fibrosis
Strength vs Aerobic Training in Children with Cystic Fibrosis	Orenstein DM	San Diego USA	2004	Chest Journal
Cardiopulmonary Data in response to 6 months of training in physical active adult patients with Classic Cystic Fibrosis	Sahlberg M	Gothenburg Sweden	2008	Respiration
Muscular strength after different types of training in physically active patients with cystic fibrosis	Sahlberg M	Göteborg Sweden	2007	Scandinavian Journal of medicine & science in sports
Efectos de un programa de ejercicio físico supervisado domiciliario sobre la capacidad funcional en pacientes adultos con fibrosis quística. Estudio preliminar	Polán CC	Cóceres Spain	2011	Apunts Medicinade l’esport
Randomized controlled Study of In-Hospital Exercise Training Programs in Children With Cystic Fibrosis	Selvadurai HC	Toronto Canada	2002	Pediatric Pulmonology
Combined Exercise Training Improves Glycemic Control in Adult with Cystic Fibrosis	Beaudoin N	Montreal Canada	2017	Medicine & Science in Sports & Exercise
Effects of chest physiotherapy and aerobic exercise training on physical fitness in Yang children with cystic fibrosis	Elbasan B	Ankara Turkey	2012	Italian Journal of Pediatrics
Effect of endurance exercise on respiratory muscle function in patients with cystic fibrosis	Reilly CC	London UK	2012	Respiratory Physiology & Neurobiology

Table 2. Methodologies of the selected articles.

Ref.	Group	Freq.	Duration	Training Supervised	Exercise type	Primary outcome measures
17	CG =10 IG =10	3/week	8 week training 4 week detraining	Yes	CG: usual chest physiotherapy, IMT sessions IG: aerobic training, strength exercises, IMT sessions	Spirometry, VO _{2 peak}
18	AG = 17 SG = 12 CG = 10 CGD = 15	3/week	96 week training	Assistance 1 time/week	AT: individual preferences ST: strength training exercises upper and lower body CG/CGD: physical activity level constant	FEV ₁
19	AG = 25 SG = 28	3/week	48 week training	No	AT: stair-stepping machine, gradually increasing ST: biceps curls, lateral pull	Strength, Quality of life and Anthropometric measures
14	EG = 20 RG = 20	3/week	24 week training	Diaries/monthly visits	ET: swimming, jogging, skiing, skating, aerobics or cycling RT: resistance exercises for the arm/shoulder, leg, abdominal and back muscles *Cross over	FEV ₁
15	EG = 20 RG = 20	3/week	24 week training	Notinformed	The same method described above *Cross over	Muscular strength, antropometry, pulmonary funtion, blood analyses
21	IG = 12	3/week	8 week training	Notinformed	Aerobic and strength training	VO _{2Max} , SpO ₂ , BMI, percentage of lean mass, muscle strength and PEF
20	AG = 15 RG = 18 CG = 16	5/week	4 week training, 4 week detraining	Yes	AT: running or stationary cycle RT: upper and lower limbs CG: standard chest physiotherapy	FFM, FEV ₁ , FVC, VE, VO ₂ ,VCO ₂
16	IG = 16	3/week	12weeks	Not informed	Walking, jogging, cycling, or elliptical trainer and exercises for large muscle groups	Glycemic control; Inflammatory biomarkers and cytokine sérum levels; Physical activity monitoring
22	IG =18	3x/week	6 weeks	Yes	Chest physiotherapy, aerobic training and active cycle of breathing techniques	The standing long jump, sit-up test and flexibility
23	IG= 10	2 sessions	At least 1 week apart	Yes	Aerobic exercise	Endurance cycling test, spirometry and respiratory muscles

AG= Aerobic Group; CG= Control Group; IT= Intervention Group; SG= Strength Group; CGD= Control Group Database; EG= Endurance Group; RG= Resistance Group; VO_{2peak}= Maximal oxygen consumption at peak endurance; PI_{max} = Maximal inspiratory mouth pressures; SpO₂= oxygen saturation in the blood; FEV₁ = Forced expiratory volume in one second; VO_{2Max}= maximal oxygen consumption; BMI= Body mass index; PEF= peak expiratory flow; FFM= Fat-free mass; FVC= Forced vital capacity; VE= Minute ventilation; VO₂=oxygen consumption; VCO₂= Volume of carbon dioxide.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os pacientes com FC analisados nesse estudo apresentaram uma associação entre o diagnóstico precoce e melhor quadro clínico, analisado pelo escore clínico SK. Pacientes homocigotos F508del apresentaram teste do suor abaixo do consenso para diagnóstico. Pacientes heterocigotos F508del apresentaram valor de cloro no teste do suor superior comparado a pacientes homocigotos F508del, outras mutações e sem o teste genético. As diferenças nos valores de cloro no teste do suor possivelmente estão relacionadas à função residual da proteína CFTR.

Os pacientes com FC, atendidos em Goiânia, com mutações classes IV/V possuem diagnóstico tardio comparado aos pacientes com mutações classes I/II. Não houve diferença significativa na função pulmonar, valor de cloro no suor, IMC, Z-score do IMC e escore clínico SK entre os pacientes com mutações classes I/II e classes IV/V. É possível que os pacientes com mutações IV/V atendidos em Goiânia sejam clinicamente semelhantes aos pacientes com mutações classe I/II em decorrência do diagnóstico tardio. Outras possíveis explicações para semelhança clínica dos pacientes são os fatores externos, genes modificadores e fatores não ligados ao CFTR. Nenhum paciente com mutações de classes IV/V apresentou diagnóstico pela IRT na triagem neonatal para FC. Sugere-se que a ausência de diagnósticos pela triagem neonatal pode estar relacionada com: falsos negativos decorrentes da ausência de obstrução e alteração dos níveis de IRT; falha operacional do exame e recém implantação da triagem.

Nós identificamos correlações de domínios específicos da QVRS com desfechos clínicos e funcionais. O valor de cloro no suor deixou de ser um fator associado à QVRS dos pacientes acima de 14 anos com FC. Nós concluímos que o tratamento multiprofissional, realizado para os pacientes com FC no centro de referência analisado, foi um determinante benéfico para superação da influência clínica do valor de cloro no suor na QVRS em pacientes mais velhos.

Aproximadamente 22,2% dos pacientes com FC foram elegíveis para terapias da medicina de precisão. Os medicamentos mutação específicos possíveis para uso dos pacientes com FC atendidos em Goiânia são: Symdeko®, Orkambi® e Kalydeco®. Os medicamentos Ivacaftor® e o Orkambi® são aprovados no Brasil pela ANVISA. Este estudo é pioneiro no Estado de Goiás, subsidiando a utilização

de novos tratamentos, valorização do diagnóstico precoce e estratégias para uma triagem genética para FC.

6. REFERÊNCIAS

ABRÃO, M. G.; BILLERBECK, A. E. C.; NISHI, M. Y.; MARUI, S.; MENDONÇA, B. B. Padronização da Técnica de Extração de DNA de Células de Mucosa Oral Com NaCl: Aplicação no Estudo do Gene PROP1. **Arq Bras Endocrinol Metab**, vol. 49, n. 6, p. 978-982, 2005.

ADDE, F. V.; ABREU E SILVA, F. A.; REIS, F. J. C.; BRITTO, M. C. A.; DAMACENO, N.; LUDWIG NETO, L. et al. Roteiro para diagnóstico da fibrose cística. São Paulo: **Laboratórios Roche**; 2002.

AKABAS, M. H.; KAUFMANN, C.; ARCHDEACON, P.; KARLIN, A. Identification of acetylcholine receptor channel-lining residues in the entire M2 segment of the alpha subunit. **Neuron**, vol. 13, n. 4, p. 919-27, 1994.

ALVAREZ, A. E.; RIBEIRO, A. F.; HESSEL, G.; BERTUZZO, C. S.; RIBEIRO, J. D. Fibrose cística em um centro de referência no Brasil: característica clínicas e laboratoriais de 104 pacientes e sua associação com o genótipo e a gravidade da doença. *Jornal de Pediatria*, vol. 80, n. 5, p. 371 – 379, 2004.

ANDERSEN, D. H. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: a clinical and pathological study. **Am J Dis Child**, v. 56, p. 344-99, 1938.

ANDERSON, M. P.; WELSH, M. J. Regulation by ATP and ADP of CFTR chloride channels that contain mutant nucleotide-binding domains. **Science**, vol. 257, n. 5077, p. 1701-4, 1992.

ANDRADE, E. F.; FONSECA, D. L. O.; ABREU E SILVA, F. A.; MENNA-BARRETO, S. S. Avaliação evolutiva da espirometria na fibrose cística. *J. Pneumologia*, vol. 27 n. 3, 2001.

ASSAEL, B. M.; CASTELLANI, C.; OCAMPO, M. B.; IANSA, P.; CALLEGARO, A.; VALSECCHI, M. G., et al. Epidemiology and survival analysis of cystic fibrosis in an area of intense neonatal screening over 30 years. **Am J Epidemiol**, vol. 156, p. 397-401, 2002.

BEAR, C. E.; LI, C.; KARTNER, N.; BRIDGES, R. J.; JENSEN, T. J.; RAMJEESINGH, M.; et al. Purification and functional reconstitution of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (*CFTR*). **Cell**, vol. 68, p. 809, 1992.

BOMBIERI, C.; SEIA, M.; CASTELLANI, C. Genotypes and phenotypes in cystic fibrosis and cystic fibrosis transmembrane regulator-related disorders. **Semin Respir Crit Care Med**, vol. 36, n. 2, p. 180-93, 2015.

BORTHWICK, L. A.; BOTHA, P.; VERDON, B.; BRODLIE, M. J.; GARDNER, A.; BOURN, D. et al. Is CFTR-deltaF508 really absent from the apical membrane of the airway epithelium? **PLoS One**, v. 6, n. 8, e23226, 2011.

BOYLE, M. P.; DE BOECK, K. A new era in the treatment of cystic fibrosis: correction of the underlying CFTR defect. **Lancet Respir Med**, vol. 1, n. 2, p. 158-63, 2013.

CABELLO, G. M. K.; CABELLO, P. H.; ROIG, S. R. S.; FONSECA, A.; CARVALHO, E. C. D. FERNANDES, O. Rastreamento da fibrose cística usando-se a análise combinada do teste de IRT neonatal e o estudo molecular da mutação $\Delta F508$. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 39, n. 1, p. 15-20, 2003.

CAMPOS, J. V. M.; KOTZE, L. M. S.; DAMACENO, N.; CARVALHO, C.R. R. Fibrose Cística – Mucoviscidose. São Paulo. IBEPGE. **Arq. Gastroenterol.**, p. 48, 1996.

CASTELLANI, C.; MASSIE, J.; SONTAG, M.; SOUTHERN, K. W. Newborn screening for cystic fibrosis. **Lancet Respir Med**, vol. 4, n. 8, p. 653-661, 2016.

CHOWBAY, B.; ZHOU, S.; LEE, E.J. An interethnic comparison of polymorphisms of the genes encoding drug-metabolizing enzymes and drug transporters: experience in Singapore. **Drug Metab Rev**, vol. 37, n. 2, p.327-78, 2005.

COLLINS, F. S. Cystic fibrosis: molecular biology and therapeutic implications. **Science**, vol. 256, p. 774-779, 1992.

COLLINS, F.S.; VARMUS H. A new initiative on precision medicine. **N Engl J Med**, vol. 372, n. 9, p. 793–5, 2015.

CORVOL, H.; BLACKMAN, S. M.; BOE`LLE, P.; GALLINS, P. J.; PACE, R. G.; STONEBRAKER, J. R. et al. Genome-wide association meta-analysis identifies five modifier loci of lung disease severity in cystic fibrosis. **Nat Commun**, vol. 29, n. 6, p. 8382, 2015.

DE BOECK, K.; AMARAL, M. D. Progress in therapies for cystic fibrosis. **Lancet Respir Med**, vol. 4, n. 8, p. 662-674, 2016.

DEVLIN, T. M. Manual de bioquímica com correlação clínica, 4ªed., São Paulo, SP: Ed. Edgar Blucher LTDA, 1998.

DAVIS, P. B.; DRUMM, M.; KONSTAN, M. W. Cystic Fibrosis. **Am J Crit Care Med**, vol. 154, p. 1229-1256, 1996.

DIRETRIZES BRASILEIRAS DE DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA FIBROSE CÍSTICA. **J Bras Pneumol**, vol. 43, n. 3, p. 219-245, 2017.

DI SANT'AGNESE, P. A.; DARLING, R. C.; PERERA, G. A. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas. **Pediatrics**, vol. 12, n. 5, p. 549-63, 1953.

FARIA, E. J. **Investigação da Associação Entre os Polimorfismos dos Genes: MBL2, TGF-B1 E CD14 com a gravidade do quadro pulmonar na fibrose cística**. 2007. 140 f. Tese (Dissertação de Doutorado) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

FEUILLET-FIEUX, M. N.; FERREC, M.; GIGAREL, N.; THUILLIER, L.; SERMET I.; STEFFAN, J. et al. Novel *CFTR* mutations in black cystic fibrosis patients. **Clin Genet**, vol. 65, p. 284-87, 2004.

FRISCHMEYER, P. A.; DIETZ, H. C. Nonsense-mediated mRNA decay in health and disease. **Hum Mol Genet**, vol. 8, n. 10, p. 1893-900, 1999.

FORMIGA, C. K. M. R. **Detecção de risco para problemas no desenvolvimento de bebês nascidos pré-termo no primeiro ano**. 2009. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

HAARDT, M.; BENHAROUGA, M.; LECHARDEUR, D.; KARTNER, N.; LUKACS, G. L. C. Terminal truncations destabilize the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator without impairing its biogenesis: a novel class of mutation. **J Biol Chem**, vol. 274, p. 21873-77, 1999.

HENTZE, M. W.; KULOZIK, A. E. A perfect message: RNA surveillance and nonsense-mediated decay. **Cell**, vol. 96, n. 3, p. 307-10, 1999.

HIGHSMITH, W. E.; BURCH, L. H.; ZHOU, Z.; OLSEN, J. C.; BOAT, T. E.; SPOCK, A. et al. A novel mutation in the cystic fibrosis gene in patients with pulmonary disease but normal sweat chloride concentrations. **N Engl J Med**, vol. 331, n. 15, p. 974-80, 1994.

HODSON, R. Precision medicine. **Nature**, vol. 537, n. 7619, 2016.

JORDE, L. B.; CAREY, J. C. C.; BAMSHAD, M. J.; WHITE, R. L. **Genética médica**, 2ªed., Rio de Janeiro, R J, Ed. Guanabara Koogan, 2000.

KEREM, B.; ROMMENS, J. M.; BUCHANAN, J. A.; MARKIEWICZ, D.; COX, T. K.; CHAKRAVARTI A. et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. **Science**, vol. 245, p. 1073-80, 1989.

KNOWLTON, R. G.; COHEN-HAGUENAUER, O.; CONG, N. V.; FRÉZAL, J.; BROWN, V. A.; BRARKER, D. et al. Polymorphic DNA marker linked to cystic fibrosis located on chromosome 7. **Nature**, vol. 318, n. 6044, p. 380-382, 1985.

LITTLEWOOD, J. "History of Cystic Fibrosis." **Cystic Fibrosis Medicine**. Disponível em: <<<http://www.cfmedicine.com/history/>>>. Acesso em: 17 set. 2018.

MARSON, F. A. L.; BERTUZZO, C. S.; RIBEIRO, J. D. Classification of *CFTR* mutation classes. **Lancet Respir Med**, vol. 4, n. 8, p. e37-e38, 2016.

NUSSBAUM, R. L.; MCINNES, R. R.; WILLARD, H. F.; THOMPSON e THOMPSON. **Genética Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 49, 2002.

OTTO, P. A.; NETTO, R. C. M.; OTTO, P. G. **Genética médica**. Roca, São Paulo, p. 214-215, 2013.

- PEREIRA, A. L.; BACHION, M. M. Atualidades em revisão sistemática de literatura, critérios de força e grau de recomendação de evidência. **Rev. Gaúcha Enferm.**, Porto Alegre, v. 27, n. 4, p. 491-498, 2006.
- PERONE, C.; MEDEIROS, G. S., DEL CASTILLO, D. M; AGUIAR, M. J. B.; JANUÁRIO, J. N. The Frequency of 8 CFTR gene mutations in cystic fibrosis patients in Minas Gerais, Brazil, diagnosed by neonatal screening. **Braz. Journal of Medical and Biological Research**, vol. 43, p.134-138, 2010.
- PERROCA, M. G.; GAIDZINSKI, R. R. Avaliando a confiabilidade interavaliadores de um instrumento para classificação de pacientes - coeficiente Kappa. **Rev Esc Enferm USP**, vol. 37, n. 1, p. 72-80, 2003.
- PIER, G. B.; GROUT, M.; ZAIDI, T.; MELULENI, G.; MUESCHENBORN, S. S.; BANTING, G. et al. Salmonella typhi uses CFTR to enter intestinal epithelial cells. **Nature**, vol. 393, n. 6680, p. 79-82, 1998.
- PINHO, J.R.; SITNIK, R.; MANGUEIRA, C.L. Personalized medicine and the clinical laboratory. **Einstein (São Paulo)**, vol 12, n. 3, p. 366-73, 2014.
- RAMSEY, B. W.; DAVIES, J.; MCELVANEY, N. G.; TULLIS, E.; BELL, S. C.; DŘEVÍNEK, P. et al. A CFTR Potentiator in Patients with Cystic Fibrosis and the G551D Mutation. **N Engl J Med**, vol. 365, n. 18, p. 1663–1672, 2011.
- RASKIN, S.; PHILLIPS, J. A. 3RD; KRISHNAMANI, M. R.; VNENCAK-JONES, C.; PARKER, R. A.; ROZOV, T. et al. DNA analysis of cystic fibrosis in brazil by direct PCR amplification from Guthrie cards. **Am J Med Genet**, vol. 46, p. 665-9, 1993.
- RATJEN, F.; BELL, S. C.; ROWE, S. M.; GOSS, C. H.; QUITTNER, A. L.; BUSH, A. Cystic fibrosis. **Nat Rev Dis Primers**, vol. 1, p. 15010, 2015.
- RIBEIRO, J. D.; RIBEIRO, M. A. G; RIBEIRO, A. F. Controvérsias na fibrose cística – do pediatra ao especialista. **J Pediatr**, vol. 78, p. 171-186, 2002.
- RIORDAN, J. R. Identification of the cystic fibrosis gene. **Science**, vol. 245, p. 1066-73, 1989.
- RISPOLI, T.; CASTRO, S. M.; GRANDI, T.; PRADO, M.; FILIPPON, L.; SILVA, C. M. D. et al. A Low-Cost and Simple Genetic Screening for Cystic Fibrosis Provided by the Brazilian Public Health System. **J Pediatr**, vol. 199, p. 272-277, 2018.
- ROMMENS, J. M.; IANNUZZI, M. C.; KEREM, B. Identification of the cystic fibrosis gene II. **Science**, vol. 245, n. 4922, p. 1059-65, 1989.
- ROSENSTEIN, B. J.; CUTTING, G. R. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. **J Pediatr**, vol. 132, p. 589-95, 1998.
- ROWNTREE, R. K.; HARRIS, A. The phenotypic consequences of CFTR mutation. **Annals of Hum Genet**, vol. 67, p. 471-85, 2003.

ROZOV, T.; CUNHA, M. T.; NASCIMENTO, O.; QUITTNER, A. L.; JARDIM, J. R. Validação lingüística dos questionários de qualidade de vida em fibrose cística. **J Pediatr**, Rio de Janeiro, vol. 82, n. 2, p. 151-6, 2006.

SCHWIEBERT, E. M.; EGAN, M. E.; HWANG, T. H.; FULMER, S. B.; ALLEN, S. S.; CUTTING, G. R. et al. CFTR regulates outwardly rectifying chloride channels through an autocrine mechanism involving ATP. **Cell**, vol. 81, n. 7, p. 1063-73, 1995.

SINGH, M.; REBORDOSA, C.; BERNHOLZ, J.; SHARMA, N. Epidemiology and genetics of cystic fibrosis in Asia: In preparation for the next-generation treatments. **Respirology**, v. 20, p.1172- 1181, 2015.

SHEPPARD, D. N.; RICH, D. P.; OSTEDGAARD, L. S.; GREGORY, R. J.; SMITH, A. E.; WELSH, M. J. Mutations in CFTR associated with mild-disease-form Cl⁻ channels with altered pore properties. **Nature**, vol. 362, n. 6416, p. 160-4, 1993.

STREIT, C.; BULAMARQUE-NETO, A. C.; ABREU E SILVA, F.; GIUGLIANI, R.; PEREIRA, M. L. S. *CFTR* gene: molecular analysis in patients from south Brazil. **Mol Genet And Met**, vol. 78, p. 259-64, 2003.

SELIMOVIC, A.; MUJICIC, E.; MILISIC, S.; MESIHOVIC-DINAREVIC, S.; DZINOVIC, A.; CENGIC, S. et al. Analysis of Cystic Fibrosis in Federation of Bosnia and Herzegovina. **Med Arch**. v. 69, n. 4, p. 222-225, 2015.

WELSH, M. J.; SMITH, A. E. Molecular mechanisms of *CFTR* chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. **Cell**, vol. 73, p. 1251-54, 1993.

WELSH, M. J.; SMITH, A. E. The genetic defects underlying this lethal disease have now been shown to eliminate or hobble a critical channel through which a constituent of salt enters and leaves cells. **Sciam.**, v. 52, n. 9,1995.

WHOAntro PLUS [programa de computador]. Version 1.0.2. WORLD HEALTH ORGANIZATION, Geneva, 2007.

ZIELENSKI, J.; TSUI, L. P. Cystic fibrosis: genotype and phenotype variations. **Anu Rev Gen**, vol. 29, p. 777-807, 1995.

ZIELENSKI, J. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. **Respiration**, vol. 67, p. 117-33, 2000.

7. ANEXOS

7.1 Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: INVESTIGAÇÃO CLÍNICO, LABORATORIAL, FUNCIONAL E DE MUTAÇÕES NO GENE *cftr* EM PACIENTES COM FIBROSE CÍSTICA DAS CIDADES DE GOIÂNIA E ANÁPOLIS, GOIÁS.

Pesquisador: Flávio Monteiro Ayres

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 4

CAAE: 56605216.3.0000.5083

Instituição Proponente: Universidade Estadual de Goiás

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.017.126

Apresentação do Projeto:

O presente projeto versa sobre a investigação clínica, funcional e molecular da Fibrose Cística (FC) em participantes da cidade de Goiânia e Anápolis. Os participantes serão recrutados no Hospital das Clínicas de Goiás e na APAE de Anápolis. A avaliação funcional foi inserida na presente emenda.

Objetivo da Pesquisa:

Pesquisar mutações do gene *cftr* em participantes com FC correlacionando a dados clínico, laboratoriais, funcionais e radiológicos

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Para a coleta de material a ser utilizado na presente pesquisa serão utilizadas espátulas estéreis e descartáveis, caracterizando o procedimento como pouco invasivo. O pesquisador aponta os riscos envolvidos como o frequente desconforto inerente à raspagem da mucosa oral, raramente com dor e sem expectativa de sangramento. No que se refere aos testes funcionais e pulmonares, poderá ocorrer vertigem, fadiga, náuseas, sudorese, desoxigenação de forma momentânea. Como

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia **CEP:** 74.001-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpi.ufg@gmail.com



benefício espera-se que os dados desta pesquisa possam fornecer uma nova ferramenta para o diagnóstico e prognóstico para a população de pacientes com fibrose cística do Estado de Goiás, em especial para o diagnóstico precoce.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A presente emenda solicitou a inclusão da análise funcional e pulmonar nos participantes com intuito de detectar a gravidade e a evolução do comprometimento pulmonar sendo importante marcador para o prognóstico da doença. A capacidade funcional será avaliada por meio do teste de caminhada de 6 minutos realizado em um corredor plano de 30 metros, reto, sem obstáculo. Serão utilizados os seguintes instrumentos: oxímetro de pulso, frequencímetro, cronômetro digital, esfigmomanômetro semiautomático e tabela visual da escala de Borg. Serão aferidos pressão arterial (PA), saturação periférica de oxigênio (SatO₂) frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), escala de percepção de esforço de Borg modificado (0-10) imediatamente antes do teste, ao final e após 1 minutos do término do teste. Os participantes serão encorajados a caminhar a maior distância possível em seis minutos de um extremo ao outro da pista (demarcada por cones).

Os participantes serão orientados a interromper o teste caso sintirem algum dos sintomas de intolerância ao exercício, como taquicardia, dispneia excessiva, dor excessiva nos membros inferiores, dor torácica ou qualquer outro desconforto. O oxímetro permanecerá ligado por todo o tempo durante o teste. Caso ocorra dessaturação (abaixo de 88%) ou atinja 85% da frequência cardíaca máxima, o teste será interrompido.

A função pulmonar será avaliada pela Espirometria e Manovacuômetria. A espirometria é um exame que permite avaliar o comportamento de fluxos e volumes pulmonares em diversas etapas da respiração. Geralmente o paciente estará sentado e deverá respirar através de um tubo contendo um bocal, conectado ao espirômetro. Uma presilha de borracha tapará seu nariz, garantindo que toda respiração seja feita pela boca e tenha que passar pelo aparelho. Durante o exame será alternativamente pedido ao paciente que respire tranquilamente por algum tempo; que encha o pulmão completamente; que assope com o máximo de força e rapidez possível e, depois, lentamente. O teste poderá ser repetido, depois de aplicado ao paciente uma medicação broncodilatadora, geralmente sob a forma de spray. A Manovacuômetria é um teste que permite avaliar pressões respiratórias máximas, por meio de um manovacuômetro analógico, previamente calibrado. O equipamento será conectado a uma mangueira, acoplado a um filtro isolador e a uma peça com diâmetro interno de 2,5cm, que se conecta a um bocal. Para evitar escape aéreo, os indivíduos serão orientados a manter firmemente o bocal ao redor dos lábios. O teste será

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.017.126

executado na posição sentada, com os pés apoiados no solo e utilizando-se um clipe nasal. Antes da mensuração das pressões respiratórias máximas, os avaliadores demonstrarão detalhadamente a realização das manobras. Para avaliar a P_{Imáx} será solicitado uma expiração máxima até o volume residual e na sequência uma inspiração máxima forçada sustentada. Para avaliar a P_{Emáx} será solicitado uma inspiração até a capacidade pulmonar total e na sequência uma expiração máxima forçada até o volume residual. Serão realizadas três medidas reprodutíveis, com variação menor que 20% sendo considerada para análise a melhor medida.

O projeto original foi adequado a emenda em todos os seus itens. Foi inserido no TCLE e TALE a avaliação funcional e pulmonar, portanto as pendências foram atendidas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos obrigatórios para avaliação foram anexados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Considerações Finais a critério do CEP:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa/CEP-UFG considera o presente protocolo APROVADO, o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes. Reiteramos a importância deste Parecer Consubstanciado, e lembramos que o(a) pesquisador(a) responsável deverá encaminhar ao CEP-UFG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Resolução CNS n. 466/12. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, prevista para dezembro de 2018.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_875207 E1.pdf	03/04/2017 10:10:57		Aceito
Outros	Itenscorrigidos.pdf	03/04/2017 10:08:05	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMODEASSENTIMENTO_FC.pdf	03/04/2017 09:55:42	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	TCLE_FC.pdf	03/04/2017 09:55:14	Flávio Monteiro Ayres	Aceito

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.017.126

Justificativa de Ausência	TCLE_FC.pdf	03/04/2017 09:55:14	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	emenda1.docx	03/03/2017 11:14:48	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	emenda.docx	03/03/2017 11:09:16	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMODEASSENTIMENTO_atualizado.docx	03/08/2016 15:16:56	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_atualizado.docx	03/08/2016 15:16:32	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEpararesponsavel_atualizado.docx	03/08/2016 15:16:19	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_fc_atualizado.docx	03/08/2016 15:10:33	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	termodeinfraestrutura.docx	30/05/2016 20:53:20	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	docsAPAE.pdf	30/05/2016 20:26:48	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	30/05/2016 20:23:52	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Outros	pedidodeavaliacao.jpg	30/05/2016 20:18:27	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termodecompromissoOrientando2.jpg	30/05/2016 11:26:23	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termodecompromissoOrientando1.jpg	30/05/2016 11:26:02	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termodecompromissoOrientando.jpg	30/05/2016 11:20:57	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	aprovacaomanuseiodeprontuario.jpg	30/05/2016 11:16:06	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	autorizacao_HC.jpg	30/05/2016 11:15:32	Flávio Monteiro Ayres	Aceito

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com



UFG - UNIVERSIDADE
FEDERAL DE GOIÁS



Continuação do Parecer: 2.017.126

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_fc.docx	19/05/2016 19:49:28	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	13/05/2016 19:02:21	Flávio Monteiro Ayres	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

GOIANIA, 17 de Abril de 2017

Assinado por:
João Batista de Souza
(Coordenador)

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com

7.2 Anexo 2 – Normas de publicação do periódico Enciclopédia Biosfera

1) Forma de apresentação: O Trabalho deverá ser apresentado de forma completa – Digitado em formato DOC (**não sendo aceito formato DOCX, PDF ou outro**), contendo Título, nome(s) completo(s) do(s) autor(es) (sem abreviações), e-mail do autor principal, incluindo instituição de origem, cidade e país.

2) O trabalho deve ter: resumo em língua portuguesa, palavras-chave (em ordem alfabética), Título em língua estrangeira, resumo em língua estrangeira (abstract), palavras-chave em língua estrangeira (keywords). O resumo deve ter o máximo de 250 palavras.

3) O artigo científico regular deve apresentar as seções: introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusão (se for o caso), agradecimentos (opcional) e referências bibliográficas. A revisão bibliográfica deve conter as seções: introdução, desenvolvimento, conclusão, agradecimentos (opcional) e referências bibliográficas.

Regras de formatação:

- corpo do texto justificado;
 - espaçamento simples;
 - margem superior e esquerda de 3 cm, margem inferior e direita de 2 cm;
 - fonte: Arial 12;
 - as páginas não devem ser numeradas;
 - Artigo científico regular: mínimo de sete (7) páginas, máximo de 15 páginas;
 - Revisão bibliográfica: mínimo de 15 páginas, máximo de 25 páginas.
- 4) Figuras: Deverão ser apresentadas em formato jpg, com resolução mínima de 300 dpi. Orientamos para que o trabalho tenha preferencialmente tamanho máximo de 1.000Kb. **As figuras devem informar a fonte.**
- 5) As situações não previstas devem seguir o que é determinado pelas normas da ABNT. É fundamental observar exemplo de trabalho dentro destas normas, disponível [aqui](#).

Importante:

Para as referências oriundas de artigos científicos, OBRIGATORIAMENTE inserir a URL e o número de identificação de DOI:

Exemplo:

VIJAYARAGHAVAN, K.; JOSHI, U. M. Hybrid Sargassum-sand sorbent: A novel adsorbent in packed column to treat metal-bearing wastewaters from inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, v. 48, n. 13, p. 1685-1693, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/10934529.2013.815503>>.

doi: 10.1080/10934529.2013.815503

6) São aceitos trabalhos nos idiomas: **português, espanhol e inglês.**

7) Para todas as publicações: devem conter, pelo menos, 60% das referências citadas sendo dos últimos cinco anos. Não citar trabalhos oriundos de resumos de congressos, teses e dissertações.

8) TRABALHOS QUE NÃO ESTIVEREM DENTRO DA FORMATAÇÃO INDICADA NO EDITAL PODERÃO SER RECUSADOS SUMARIAMENTE.

9) As submissões de trabalhos devem ser feitas durante o período de vigência do edital, obedecendo as regras do mesmo.

10) Trabalhos resultantes de pesquisa com pessoas ou animais devem informar o parecer do comitê de ética e número de registro. (esta informação pode ser enviada anexa ao trabalho)

11) Orientações para desenvolvimento do texto:

- Trabalho científico deve ser escrito de forma impessoal.

- Referências no texto devem constar na lista final e vice-versa.

- **NÃO SÃO ACEITOS ARTIGOS DE OPINIÃO.**

- Todos os artigos submetidos recebem resposta dos avaliadores e orientações para que os autores possam melhorar seus trabalhos (quando é o caso).

- Parte de textos de terceiros que não é citada de forma correta é considerado como plágio e o artigo é recusado.

13) Orientamos para a utilização das normas NBR 6023 e NBR 10520 da ABNT.

Atenciosamente,

Profa. Ivonete Parreira

Presidente da Comissão Editorial e Científica

7.3 Anexo 3 – Normas de publicação do periódico RIOS ELETRONICA

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DE ARTIGOS CIENTÍFICOS NA REVISTA RIOS ELETRONICA

TÍTULO DO TRABALHO: Letras Maiúsculas e Subtítulo só com a primeira letra em maiúsculo. Utilizar Fonte Time New Roman, Corpo 12, em Negrito, Centralizado.

Nome do autor

Deve ser escrito em fonte Times New Roman 10, descrever as credenciais: função que exerce atualmente, a instituição que pertence, titulação e e-mail, alinhados à direita.

Se existir mais de um autor, os nomes deverão ser organizados em ordem alfabética.

Caso exista o orientador, na sequência, primeiro o autor depois o orientador.

RESUMO

O resumo deve estar acompanhado por uma tradução em língua estrangeira (inglês, espanhol, francês e alemão) com palavras-chave. Pode ser escrito com, no máximo 250 palavras e apresentar de forma concisa, os objetivos, a metodologia e os principais resultados alcançados e as principais conclusões. Não deve conter citações. O texto deve estar justificado, escrito em times New Roman tamanho 12, recuo de 1,25 cm da direita e esquerda e com espaçamento simples entre linhas. No final do resumo deve-se indicar de três até 5 palavras-chave, separadas por ponto.

Palavras-chave: Pesquisa. Rios. Fasete. Metodologia. Ensino

ABSTRACT

Key- Words:

1 NORMAS GERAIS

Estas normas destinam-se a orientação para elaboração de artigos científicos. Para submeter um artigo científico à Revista RIOS da Faculdade Sete de Setembro - FASETE, o autor deve seguir as normas contidas nesse abreviado.

Somente serão aceitos trabalhos encaminhados na formatação e no modelo padrão. Os artigos serão avaliados pela comissão organizadora da Revista RIOS, podendo ser aprovado ou não.

Trabalhos que estiverem fora das normas serão automaticamente eliminados antes da análise.

1 - Quanto a estrutura textual: o artigo deve ser composto de resumo, introdução,

desenvolvimento e considerações finais mais as referências bibliográficas. As resenhas e notas de livro deverão estar estruturadas de acordo com normas da ABNT, específicas para cada um desses gêneros textuais;

2 - O artigo deverá conter, no mínimo oito e, no máximo 15 laudas. O trabalho deverá ser escrito com fonte Times New Roman, tamanho 12, papel formato A4, com margens superior/direita de 3cm, esquerda/inferior 2. O espaçamento entre linhas e entre parágrafos de 1,5. Antes de iniciar uma seção o parágrafo anterior deverá ter um espaçamento duplo. O parágrafo justificado e numeração de páginas no canto inferior direito.

3 - Os artigos devem ser escritos por, no máximo, três autores, sendo, pelo menos um deles, Mestre(a) ou Doutor(a);

4 - O texto integral do trabalho poderá ser apresentado em português, inglês, francês ou espanhol.

Nesse caso o resumo deve vir na língua em que foi escrito e a tradução em língua portuguesa, com cerca de 300 palavras em espaço um, acompanhado de 3 a cinco palavras-chave;

5 - O título de cada seção deverá iniciar em negrito e maiúsculo. As seções deverão ser enumeradas com exceção da “Introdução” e das “Considerações finais”.

6 - Os subtítulos devem estar em maiúsculo sem negrito

7 - As citações deverão seguir as normas da ABNT em voga. Citações diretas de até três linhas deverão estar inseridas na sequência normal do parágrafo, entre aspas, com a mesma fonte e tamanho de letras, acompanhadas do sobrenome do autor data e página da fonte, ex.: “O poeta é um fingidor” (PESSOA, 1980, p. 34). Caso o texto citado já contenha sinal de pontuação encerrando, a frase, as aspas finais são colocadas após este sinal; caso contrário, as aspas delimitam o final da citação.

8 - Citação direta com mais de três linhas ou citação longa tem regra específica. É transcrita em parágrafo distinto, ou seja, separada do texto em outro parágrafo com espaço duplo entre a citação e os parágrafos anterior e posterior; o tamanho da letra deve ser reduzido (fonte 10). Não deve conter aspas; transcrito com entrelinhas simples; deve receber um destaque especial, com reentrada de **2 cm** da margem esquerda, e terminar na margem direita igual com o texto.

Ex.: Haveis de saber irmãos peixes, que o sal, filho do mar como vós, têm duas propriedades, as quais em vós mesmos experimentam: conservar o são e preservá-lo para que se não corrompa. Estas mesmas propriedades tinham as pregações do vosso

pregador Santo Antonio. Como também os deve ter as de todos os pregadores. (VIEIRA, 2005, p. 46)

9 - Nas citações indiretas também conhecidas por paráfrase. Quando reescrevemos um trecho de uma obra com nossas próprias palavras, ou seja, alteram-se as palavras, mas conservam-se as idéias. Não se usam aspas e a citação deverá estar inserida no texto normalmente, porém com alusão ao autor e a colocação apenas da data, independente da quantidade de linhas. Ex.: [de acordo com a proposta teórica de Moisés (1999) é possível avaliar...]. Em casos de dúvidas e esclarecimento consultar a ABNT.

10 - As fontes citadas no trabalho deverão ser obrigatoriamente mencionadas nas referências bibliográficas. Também não se devem colocar, nas referências, fontes não citadas.

O envio espontâneo de qualquer colaboração implica automaticamente a cessão integral dos direitos autorais à Revista científica RIOS, da FASETE, estando o autor livre para republicá-lo sob outra forma ou em outro veículo. Ressalta-se, também que as ideias e informações transmitidas nas várias modalidades de trabalhos aceitos para publicação na Revista RIOS são de inteira responsabilidade de seus autores, eximindo-se, a FASETE de qualquer responsabilidade.

11 - As notas de rodapé poderão ser utilizadas e devem ser apenas explicativas, a fonte pode ser Times New Roman, tamanho 10, espaçamento simples, justificado. Caso o trabalho já tenha sido divulgado por outro meio, esta informação deverá estar claramente indicada numa nota de rodapé;

1.1. QUANTO AS ILUSTRAÇÕES

Poderão ser inseridas em sequência e de acordo com as normas da ABNT. Devem ser citadas no texto antes e, ao serem expostas, devem conter a referência: ex.: (tabela - 1) e a fonte de onde foram tiradas. A legenda deverá aparecer na parte inferior, seguida de seu número de ordem de ocorrência no texto, em algarismos arábicos, do respectivo título. A ilustração deve figurar o mais próximo possível do texto a que se refere. A fonte e legenda devem ser colocadas imediatamente abaixo da Ilustração com a primeira letra maiúscula, para indicar a autoridade da imagem e/ou informações da Ilustração, precedida da palavra. Usar a fonte Times New Roman tamanho 10, centralizado, espaçamento simples.

1.1.1. Tabelas

As Tabelas devem ter um número em algarismos arábicos, sequencial, escrito na parte superior à esquerda da página, precedida da palavra Tabela. Devem conter um título por extenso, escrito no topo da Tabela, para indicar a natureza e abrangência do seu conteúdo, o título deve ser com fonte Times New Roman, tamanho 12, negrito e alinhado a esquerda. A fonte de informação da Tabela deve ser colocada imediatamente abaixo da Tabela em letra maiúsculo-minúscula para indicar a autoridade dos dados e/ou informações da Tabela, precedida da palavra Fonte. No texto interior deve-se usar a fonte Times New Roman tamanho 10, centralizado, espaçamento simples.

REFERÊNCIAS

A regra geral para elaboração de referencias segue a seguinte estrutura:

SOBRENOME, Nome do autor. **Título da obra**: Subtítulo (se houver). Edição (Só da 2ª em diante) deve se colocar 2 ou 3 ou 4... ed. Local: Editora, Ano.

MALTA, Sérgio Luiz (*et. al*). **Manual de Orientação e Normalização de Trabalhos Científicos**. Paulo Afonso-BA: FASETE, 2008.

7.4 Anexo 4 – Normas de publicação do periódico Ciência & Saúde Coletiva

INSTRUÇÕES PARA COLABORADORES

Ciência & Saúde Coletiva publica debates, análises e resultados de investigações sobre um tema específico considerado relevante para a saúde coletiva; e artigos de discussão e análise do estado da arte da área e das subáreas, mesmo que não versem sobre o assunto do tema central. A revista, de periodicidade mensal, tem como propósitos enfrentar os desafios, buscar a consolidação e promover uma permanente atualização das tendências de pensamento e das práticas na saúde coletiva, em diálogo com a agenda contemporânea da Ciência & Tecnologia.

Política de Acesso Aberto - Ciência & Saúde Coletiva é publicado sob o modelo de acesso aberto e é, portanto, livre para qualquer pessoa a ler e download, e para copiar e divulgar para fins educacionais.

Orientações para organização de números temáticos

A marca da Revista Ciência & Saúde Coletiva dentro da diversidade de Periódicos da área é o seu foco temático, segundo o propósito da ABRASCO de promover, aprofundar e socializar discussões acadêmicas e debates interpares sobre assuntos considerados importantes e relevantes, acompanhando o desenvolvimento histórico da saúde pública do país.

Os números temáticos entram na pauta em quatro modalidades de demanda:

- Por Termo de Referência enviado por professores/pesquisadores da área de saúde coletiva (espontaneamente ou sugerido pelos editores-chefes) quando consideram relevante o aprofundamento de determinado assunto.
- Por Termo de Referência enviado por coordenadores de pesquisa inédita e abrangente, relevante para a área, sobre resultados apresentados em forma de artigos, dentro dos moldes já descritos. Nessas duas primeiras modalidades, o Termo de Referência é avaliado em seu mérito científico e relevância pelos Editores Associados da Revista.
- Por Chamada Pública anunciada na página da Revista, e sob a coordenação de Editores Convidados. Nesse caso, os Editores Convidados acumulam a tarefa de selecionar os artigos conforme o escopo, para serem julgados em seu mérito por pareceristas.
- Por Organização Interna dos próprios Editores-chefes, reunindo sob um título pertinente, artigos de livre demanda, dentro dos critérios já descritos.

O Termo de Referência deve conter: (1) título (ainda que provisório) da proposta do número temático; (2) nome (ou os nomes) do Editor Convidado; (3) justificativa resumida em um ou dois parágrafos sobre a proposta do ponto de vista dos objetivos, contexto, significado e relevância para a Saúde Coletiva; (4) listagem dos dez artigos propostos já com nomes dos autores convidados; (5) proposta de texto de opinião ou de entrevista com alguém que tenha relevância na discussão do assunto; (6) proposta de uma ou duas resenhas de livros que tratem do tema. Por decisão editorial o máximo de artigos assinados por um mesmo autor num número temático não deve ultrapassar três, seja como primeiro autor ou não.

Sugere-se enfaticamente aos organizadores que apresentem contribuições de autores de variadas instituições nacionais e de colaboradores estrangeiros. Como para qualquer outra modalidade de apresentação, nesses números se aceita colaboração em espanhol, inglês e francês.

Recomendações para a submissão de artigos

Recomenda-se que os artigos submetidos não tratem apenas de questões de interesse local, ou se situe apenas no plano descritivo. As discussões devem apresentar uma análise ampliada que situe a especificidade dos achados de pesquisa ou revisão no cenário da literatura nacional e internacional acerca do assunto, deixando claro o caráter inédito da contribuição que o artigo traz.

A revista *C&SC* adota as “Normas para apresentação de artigos propostos para publicação em revistas médicas”, da Comissão Internacional de Editores de Revistas Médicas, cuja versão para o português encontra-se publicada na *Rev Port Clin Geral* 1997; 14:159-174. O documento está disponível em vários sítios na World Wide Web, como por exemplo, www.icmje.org ou www.apmcg.pt/document/71479/450062.pdf. Recomenda-se aos autores a sua leitura atenta.

Seções da publicação

Editorial: de responsabilidade dos editores chefes ou dos editores convidados, deve ter no máximo 4.000 caracteres com espaço.

Artigos Temáticos: devem trazer resultados de pesquisas de natureza empírica, experimental, conceitual e de revisões sobre o assunto em pauta. Os textos de pesquisa não deverão ultrapassar os 40.000 caracteres.

Artigos de Temas Livres: devem ser de interesse para a saúde coletiva por livre apresentação dos autores através da página da revista. Devem ter as mesmas características dos artigos temáticos: máximo de 40.000 caracteres com espaço,

resultarem de pesquisa e apresentarem análises e avaliações de tendências teórico-metodológicas e conceituais da área.

Artigos de Revisão: Devem ser textos baseados exclusivamente em fontes secundárias, submetidas a métodos de análises já teoricamente consagrados, temáticos ou de livre demanda, podendo alcançar até o máximo de 45.000 caracteres com espaço.

Opinião: texto que expresse posição qualificada de um ou vários autores ou entrevistas realizadas com especialistas no assunto em debate na revista; deve ter, no máximo, 20.000 caracteres com espaço.

Resenhas: análise crítica de livros relacionados ao campo temático da saúde coletiva, publicados nos últimos dois anos, cujo texto não deve ultrapassar 10.000 caracteres com espaço. Os autores da resenha devem incluir no início do texto a referência completa do livro. As referências citadas ao longo do texto devem seguir as mesmas regras dos artigos. No momento da submissão da resenha os autores devem inserir em anexo no sistema uma reprodução, em alta definição da capa do livro em formato jpeg.

Cartas: com apreciações e sugestões a respeito do que é publicado em números anteriores da revista (máximo de 4.000 caracteres com espaço).

Observação: O limite máximo de caracteres leva em conta os espaços e inclui da palavra introdução e vai até a última referência bibliográfica.

O resumo/abstract e as ilustrações (figuras/ tabelas e quadros) são considerados à parte.

Apresentação de manuscritos

Não há taxas e encargos da submissão

1. Os originais podem ser escritos em português, espanhol, francês e inglês. Os textos em português e espanhol devem ter título, resumo e palavras-chave na língua original e em inglês. Os textos em francês e inglês devem ter título, resumo e palavras-chave na língua original e em português. Não serão aceitas notas de pé-de-página ou no final dos artigos.

2. Os textos têm de ser digitados em espaço duplo, na fonte Times New Roman, no corpo 12, margens de 2,5 cm, formato Word (de preferência na extensão .doc) e encaminhados apenas pelo endereço eletrônico (<http://mc04.manuscriptcentral.com/csc-scielo>) segundo as orientações do site.

3. Os artigos publicados serão de propriedade da revista *C&SC*, ficando proibida a reprodução total ou parcial em qualquer meio de divulgação, impressa ou eletrônica,

sem a prévia autorização dos editores-chefes da Revista. A publicação secundária deve indicar a fonte da publicação original.

4. Os artigos submetidos à C&SC não podem ser propostos simultaneamente para outros periódicos.

5. As questões éticas referentes às publicações de pesquisa com seres humanos são de inteira responsabilidade dos autores e devem estar em conformidade com os princípios contidos na Declaração de Helsinque da Associação Médica Mundial (1964, reformulada em 1975, 1983, 1989, 1989, 1996 e 2000).

6. Os artigos devem ser encaminhados com as autorizações para reproduzir material publicado anteriormente, para usar ilustrações que possam identificar pessoas e para transferir direitos de autor e outros documentos.

7. Os conceitos e opiniões expressos nos artigos, bem como a exatidão e a procedência das citações são de exclusiva responsabilidade dos autores.

8. Os textos são em geral (mas não necessariamente) divididos em seções com os títulos Introdução, Métodos, Resultados e Discussão, às vezes, sendo necessária a inclusão de subtítulos em algumas seções. Os títulos e subtítulos das seções não devem estar organizados com numeração progressiva, mas com recursos gráficos (caixa alta, recuo na margem etc.).

9. O título deve ter 120 caracteres com espaço e o resumo/abstract, com no máximo 1.400 caracteres com espaço (incluindo a palavra resumo até a última palavra-chave), deve explicitar o objeto, os objetivos, a metodologia, a abordagem teórica e os resultados do estudo ou investigação. Logo abaixo do resumo os autores devem indicar até no máximo, cinco (5) palavras-chave. palavras-chave/key words. Chamamos a atenção para a importância da clareza e objetividade na redação do resumo, que certamente contribuirá no interesse do leitor pelo artigo, e das palavras-chave, que auxiliarão a indexação múltipla do artigo.

As palavras-chave na língua original e em inglês devem constar obrigatoriamente no DeCS/MeSH.

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/e> <http://decs.bvs.br/>).

Autoria

1. As pessoas designadas como autores devem ter participado na elaboração dos artigos de modo que possam assumir publicamente a responsabilidade pelo seu conteúdo. A qualificação como autor deve pressupor: a) a concepção e o delineamento ou a análise e interpretação dos dados, b) redação do artigo ou a sua revisão crítica, e c) aprovação da versão a ser publicada.

2. O limite de autores no início do artigo deve ser no máximo de oito. Os demais autores serão incluídos no final do artigo.

3. Em nenhum arquivo inserido, deverá constar identificação de autores do manuscrito.

Nomenclaturas

1. Devem ser observadas rigidamente as regras de nomenclatura de saúde pública/saúde coletiva, assim como abreviaturas e convenções adotadas em disciplinas especializadas. Devem ser evitadas abreviaturas no título e no resumo.

2. A designação completa à qual se refere uma abreviatura deve preceder a primeira ocorrência desta no texto, a menos que se trate de uma unidade de medida padrão.

Ilustrações e Escalas

1. O material ilustrativo da revista *C&SC* compreende tabela (elementos demonstrativos como números, medidas, percentagens, etc.), quadro (elementos demonstrativos com informações textuais), gráficos (demonstração esquemática de um fato e suas variações), figura (demonstração esquemática de informações por meio de mapas, diagramas, fluxogramas, como também por meio de desenhos ou fotografias). Vale lembrar que a revista é impressa em apenas uma cor, o preto, e caso o material ilustrativo seja colorido, será convertido para tons de cinza.

2. O número de material ilustrativo deve ser de, **no máximo, cinco por artigo**, salvo exceções referentes a artigos de sistematização de áreas específicas do campo temático. Nesse caso os autores devem negociar com os editores-chefes.

3. Todo o material ilustrativo deve ser numerado consecutivamente em algarismos arábicos, com suas respectivas legendas e fontes, e a cada um deve ser atribuído um breve título. Todas as ilustrações devem ser citadas no texto.

4. Tabelas e quadros devem ser confeccionados no programa Word ou Excell e enviados com título e fonte. OBS: No link do IBGE (<http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv23907pdf>) estão as orientações para confeccionar as tabelas. Devem estar configurados em linhas e colunas, sem espaços extras, e sem recursos de “quebra de página”. Cada dado deve ser inserido em uma célula separada. Importante: tabelas e quadros devem apresentar informações sucintas. As tabelas e quadros podem ter no máximo 15 cm de largura X 18 cm de altura e não devem ultrapassar duas páginas (no formato A4, com espaço simples e letra em tamanho 9). 5. Gráficos e figuras podem ser confeccionados no programa Excel, Word ou PPT. O autor deve enviar o arquivo no programa original, separado do texto, em formato

editável (que permite o recurso “copiar e colar”) e também em pdf ou jpeg, TONS DE CINZA. Gráficos gerados em programas de imagem devem ser enviados em jpeg, TONS DE CINZA, resolução mínima de 200 dpi e tamanho máximo de 20cm de altura x 15 cm de largura. É importante que a imagem original esteja com boa qualidade, pois não adianta aumentar a resolução se o original estiver comprometido. Gráficos e figuras também devem ser enviados com título e fonte. As figuras e gráficos têm que estar no máximo em uma página (no formato A4, com 15 cm de largura x 20cm de altura, letra no tamanho 9).

6. Arquivos de figuras como mapas ou fotos devem ser salvos no (ou exportados para o) formato JPEG, TIF ou PDF. Em qualquer dos casos, deve-se gerar e salvar o material na maior resolução (300 ou mais DPI) e maior tamanho possíveis (dentro do limite de 21cm de altura x 15 cm de largura). Se houver texto no interior da figura, deve ser formatado em fonte Times New Roman, corpo 9. Fonte e legenda devem ser enviadas também em formato editável que permita o recurso “copiar/colar”. Esse tipo de figura também deve ser enviado com título e fonte.

7. Os autores que utilizam escalas em seus trabalhos devem informar explicitamente na carta de submissão de seus artigos, se elas são de domínio público ou se têm permissão para o uso.

Agradecimentos

1. Quando existirem, devem ser colocados antes das referências bibliográficas.

2. Os autores são responsáveis pela obtenção de autorização escrita das pessoas nomeadas nos agradecimentos, dado que os leitores podem inferir que tais pessoas subscrevem os dados e as conclusões.

3. O agradecimento ao apoio técnico deve estar em parágrafo diferente dos outros tipos de contribuição.

Referências

1. As referências devem ser numeradas de forma consecutiva de acordo com a ordem em que forem sendo citadas no texto. No caso de as referências serem de mais de dois autores, no corpo do texto deve ser citado apenas o nome do primeiro autor seguido da expressão *et al.*

2. Devem ser identificadas por números arábicos sobrescritos, conforme exemplos abaixo:

ex. 1: “Outro indicador analisado foi o de maturidade do PSF” 11 ...

ex. 2: “Como alerta Maria Adélia de Souza 4, a cidade...”

As referências citadas somente nos quadros e figuras devem ser numeradas a partir do número da última referência citada no texto. 3. As referências citadas devem ser listadas ao final do artigo, em ordem numérica, seguindo as normas gerais dos *Requisitos uniformes para manuscritos apresentados a periódicos biomédicos* (http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).

4. Os nomes das revistas **devem** ser abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>)

5. O nome de pessoa, cidades e países devem ser citados na língua original da publicação.

Exemplos de como citar referências

Artigos em periódicos

1. Artigo padrão (**incluir todos os autores sem utilizar a expressão *et al.***)

Pelegriini MLM, Castro JD, Drachler ML. Equidade na alocação de recursos para a saúde: a experiência no Rio Grande do Sul, Brasil. *Cien Saude Colet* 2005; 10(2):275-286.

Maximiano AA, Fernandes RO, Nunes FP, Assis MP, Matos RV, Barbosa CGS, Oliveira-Filho EC. Utilização de drogas veterinárias, agrotóxicos e afins em ambientes hídricos: demandas, regulamentação e considerações sobre riscos à saúde humana e ambiental. *Cien Saude Colet* 2005; 10(2):483-491.

2. Instituição como autor

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 164(5):282-284.

3. Sem indicação de autoria

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84(2):15.

4. Número com suplemento

Duarte MFS. Maturação física: uma revisão de literatura, com especial atenção à criança brasileira. *Cad Saude Publica* 1993; 9(Supl.1):71-84.

5. Indicação do tipo de texto, se necessário

Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson's disease [carta]. *Lancet* 1996; 347(9011):1337.

Livros e outras monografias

6. Indivíduo como autor

Cecchetto FR. *Violência, cultura e poder*. Rio de Janeiro: FGV; 2004.

Minayo MCS. *O desafio do conhecimento: pesquisa qualitativa em saúde*. 8ª ed. São Paulo, Rio de Janeiro: Hucitec, Abrasco; 2004.

7. Organizador ou compilador como autor

Bosi MLM, Mercado FJ, organizadores. *Pesquisa qualitativa de serviços de saúde*. Petrópolis: Vozes; 2004.

8. Instituição como autor

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). *Controle de plantas aquáticas por meio de agrotóxicos e afins*. Brasília: DILIQ/IBAMA; 2001.

9. Capítulo de livro

Sarcinelli PN. A exposição de crianças e adolescentes a agrotóxicos. In: Peres F, Moreira JC, organizadores. *É veneno ou é remédio*. Agrotóxicos, saúde e ambiente. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. p. 43-58.

10. Resumo em Anais de congressos

Kimura J, Shibasaki H, organizadores. Recent advances in clinical neurophysiology. *Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology*; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

11. Trabalhos completos publicados em eventos científicos

Coates V, Correa MM. Características de 462 adolescentes grávidas em São Paulo. In: *Anais do V Congresso Brasileiro de adolescência*; 1993; Belo Horizonte. p. 581-582.

12. Dissertação e tese

Carvalho GCM. *O financiamento público federal do Sistema Único de Saúde 1988-2001* [tese]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública; 2002.

Gomes WA. *Adolescência, desenvolvimento puberal e sexualidade: nível de informação de adolescentes e professores das escolas municipais de Feira de Santana – BA* [dissertação]. Feira de Santana (BA): Universidade Estadual de Feira de Santana; 2001.

Outros trabalhos publicados

13. Artigo de jornal

Novas técnicas de reprodução assistida possibilitam a maternidade após os 40 anos. *Jornal do Brasil*; 2004 Jan 31; p. 12

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 50,000 admissions annually. *The Washington Post* 1996 Jun 21; Sect. A:3 (col. 5).

14. Material audiovisual

HIV+/AIDS: the facts and the future [videocassette]. St. Louis (MO): Mosby-Year Book; 1995.

15. Documentos legais

Brasil. Lei nº 8.080 de 19 de Setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. *Diário Oficial da União* 1990; 19 set.

Material no prelo ou não publicado

Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. *N Engl J Med*. In press 1996.

Cronemberg S, Santos DVV, Ramos LFF, Oliveira ACM, Maestrini HA, Calixto N. Trabeculectomia com mitomicina C em pacientes com glaucoma congênito refratário. *Arq Bras Oftalmol*. No prelo 2004.

Material eletrônico

16. Artigo em formato eletrônico

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* [serial on the Internet]. 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5];1(1):[about 24 p.]. Available from: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Lucena AR, Velasco e Cruz AA, Cavalcante R. Estudo epidemiológico do tracoma em comunidade da Chapada do Araripe – PE – Brasil. *Arq Bras Oftalmol* [periódico na Internet]. 2004 Mar-Abr [acessado 2004 Jul 12];67(2): [cerca de 4 p.]. Disponível em:

<http://www.abonet.com.br/abo/672/197-200.pdf>

17. Monografia em formato eletrônico

CDI, clinical dermatology illustrated [CD-ROM]. Reeves JRT, Maibach H. CMEA Multimedia Group, producers. 2ª ed. Version 2.0. San Diego: CMEA; 1995.

18. Programa de computador

Hemodynamics III: the ups and downs of hemodynamics [computer program]. Version 2.2. Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

7.5 Anexo 5 - Normas para submissão Jornal Brasileiro de Pneumologia

INSTRUÇÕES

AOS

AUTORES

O Jornal Brasileiro de Pneumologia (J Bras Pneumol) ISSN-1806-3713, publicado bimestralmente, é órgão oficial da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia destinado à publicação de trabalhos científicos referentes à Pneumologia e áreas correlatas.

Todos os manuscritos, após aprovação pelo Conselho Editorial serão avaliados por revisores qualificados, sendo o anonimato garantido em todo o processo de julgamento.

Os artigos que não apresentarem mérito, que contenham erros significativos de metodologia, ou não se enquadrem na política editorial da revista, serão rejeitados diretamente pelo Conselho Editorial, não cabendo recurso. Os artigos podem ser escritos em português, espanhol ou inglês. Na versão eletrônica do Jornal (www.jornaldepneumologia.com.br, ISSN-1806-3756) todos os artigos serão disponibilizados tanto numa versão em língua latina como também em inglês. Não há taxas para submissão e avaliação de artigos.

O Jornal Brasileiro de Pneumologia apóia as políticas para registro de ensaios clínicos da Organização Mundial da Saúde (OMS) e do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), reconhecendo a importância dessas iniciativas para o registro e divulgação internacional de informações sobre estudos clínicos em acesso aberto. Sendo assim, somente serão aceitos para publicação, a partir de 2007, os artigos de pesquisas clínicas que tenham recebido um número de identificação em um dos Registros de Ensaios Clínicos validados pelos critérios estabelecidos pela OMS e ICMJE, cujos endereços estão disponíveis no site do ICMJE. O número de identificação deverá ser registrado ao final do resumo.

Dentro desse contexto, o Jornal Brasileiro de Pneumologia adota a definição de ensaio clínico preconizada pela OMS, que pode ser assim resumida: "qualquer pesquisa que prospectivamente designe seres humanos para uma ou mais

intervenções visando avaliar seus efeitos em desfechos relacionados à saúde. As intervenções incluem drogas, células e outros produtos biológicos, procedimentos cirúrgicos, radiológicos, dispositivos, terapias comportamentais, mudanças de processos de cuidados, cuidados preventivos, etc".

CRITÉRIOS DE AUTORIA

A inclusão de um autor em um manuscrito encaminhado para publicação só é justificada se ele contribuiu significativamente, do ponto de vista intelectual, para a sua realização. Fica implícito que o autor participou em pelo menos uma das seguintes fases: 1) concepção e planejamento do trabalho, bem como da interpretação das evidências; 2) redação e/ou revisão das versões preliminares e definitiva; e 3) aprovou a versão final.

A simples coleta e catalogação de dados não constituem critérios para autoria. Igualmente, não devem ser considerados autores, auxiliares técnicos que fazem a rotina, médicos que encaminham pacientes ou interpretam exames de rotina e chefes de serviços ou departamentos, não diretamente envolvidos na pesquisa. A essas pessoas poderá ser feito agradecimento especial.

Os conceitos contidos nos manuscritos são de responsabilidade exclusiva dos autores.

Com exceção de trabalhos considerados de excepcional complexidade, a revista considera 8 o número máximo aceitável de autores. No caso de maior número de autores, enviar carta a Secretaria do Jornal descrevendo a participação de cada um no trabalho.

APRESENTAÇÃO E SUBMISSÃO DOS MANUSCRITOS

Os manuscritos deverão ser obrigatoriamente encaminhados via eletrônica a partir do sistema de submissão Scholar One: <https://mc04.manuscriptcentral.com/jbpneu->

scielo. As instruções e o processo de submissão estão descritos abaixo.

O formulário de transferência de direitos autorais deve ser assinado a caneta por todos os autores e deve ser carregado como um arquivo complementar assim que o manuscrito for enviado. O modelo disponível aqui: **Declaração de Conflito de Interesse**

Pede-se aos autores que sigam rigorosamente as normas editoriais da revista, particularmente no tocante ao número máximo de palavras, tabelas e figuras permitidas, bem como às regras para confecção das referências bibliográficas. A não observância das instruções redatoriais implicará na devolução do manuscrito pela Secretaria da revista para que os autores façam as correções pertinentes antes de submetê-lo aos revisores.

Instruções especiais se aplicam para a confecção de Suplementos Especiais e Diretrizes e devem ser consultadas pelos autores antes da confecção desses documentos na homepage do jornal.

A revista reserva o direito de efetuar nos artigos aceitos adaptações de estilo, gramaticais e outras.

Com exceção das unidades de medidas, siglas e abreviaturas devem ser evitadas ao máximo, devendo ser utilizadas apenas para termos consagrados. Estes termos estão definidos na Lista de Abreviaturas e Acrônimos aceitos sem definição. Clique aqui (**Lista de Abreviaturas e Siglas**). Quanto a outras abreviaturas, sempre defini-las na primeira vez em que forem citadas, por exemplo: proteína C reativa (PCR). Após a definição da abreviatura, o termo completo não deverá ser mais utilizado. Com exceção das abreviaturas aceitas sem definição, elas não devem ser utilizadas nos títulos e evitadas no resumo dos manuscritos se possível. Ao longo do texto igualmente evitar a menção ao nome de autores, dando-se sempre preferência às citações numéricas apenas.

Quando os autores mencionarem qualquer substância ou equipamento incomum, deverão incluir o modelo/número do catálogo, o nome da fabricante, a cidade e o

país, por exemplo:
"... esteira ergométrica (modelo ESD-01; FUNBEC, São Paulo, Brasil)..."

No caso de produtos provenientes dos EUA e Canadá, o nome do estado ou província também deverá ser citado; por exemplo:
"... tTG de fígado de porco da Guiné (T5398; Sigma, St. Louis, MO, EUA) ..."

PREPARO DO MANUSCRITO

Não aceitamos Relatos de Caso.

Página de identificação (Title page): ela deve conter o título do trabalho, em português e inglês, nome completo e titulação dos autores, instituições a que pertencem, endereço completo, inclusive telefone, celular e e-mail do autor principal, e nome do órgão financiador da pesquisa, se houver. Essa página deve ser enviada como um arquivo a parte em Word, separado do manuscrito principal.

Resumo: Deve conter informações facilmente compreendidas, sem necessidade de recorrer-se ao texto, não excedendo 250 palavras. Deve ser feito na forma estruturada com: Objetivo, Métodos, Resultados e Conclusões. Quando tratar-se de artigos de Revisão o resumo não deve ser estruturado. Para Comunicações Breves não deve ser estruturado nem exceder 100 palavras.

Abstract: Uma versão em língua inglesa, correspondente ao conteúdo do Resumo deve ser fornecida.

Descritores e Keywords: Deve ser fornecido de três a seis termos em português e inglês, que definam o assunto do trabalho.

CONTEÚDO DO ARTIGO:

Artigos originais: O texto deve ter entre 2000 e 3000 palavras, excluindo referências e tabelas. Deve conter no máximo 6 tabelas e/ou figuras. O número de referências

bibliográficas não deve exceder 40. A sua estrutura deve conter as seguintes partes: Introdução, Métodos, Resultados, Discussão, Agradecimentos e Referências. A seção Métodos deverá conter menção a aprovação do estudo pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, ou pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais, ligados a Instituição onde o projeto foi desenvolvido. Nessa seção também deve haver descrição da análise estatística empregada, com as respectivas referências bibliográficas. Ainda que a inclusão de subtítulos no manuscrito seja aceitável, o seu uso não deve ser excessivo e deve ficar limitado às sessões Métodos e Resultados somente.

Revisões e Atualizações: Serão realizadas somente a convite do Conselho Editorial. O texto não deve ultrapassar 5000 palavras, excluindo referências e tabelas. O número total de ilustrações e tabelas não deve ser superior a 8. O número de referências bibliográficas deve se limitar a 60.

Ensaio pictórico: Serão igualmente realizados a convite, ou após consulta dos autores ao Conselho Editorial. O texto não deve ultrapassar 3000 palavras, excluindo referências e tabelas. O número total de ilustrações e tabelas não deve ser superior a 12 e as referências bibliográficas não devem exceder 30.

Comunicações Breves: O texto não deve ultrapassar 1500 palavras, excluindo as referências e tabelas. O número total de tabelas e/ou figuras não deve exceder 2 e o de referências bibliográficas 20. O texto deverá ser confeccionado de forma corrida.

Cartas ao Editor: Devem ser contribuições originais contendo resultados preliminares, não ultrapassando 1000 palavras e com não mais do que 10 referências bibliográficas e 1 tabela e/ou figura.

Correspondência: Serão consideradas para publicação comentários e sugestões relacionadas a matéria anteriormente publicada, não ultrapassando 500 palavras no total.

Imagens em Pneumologia: o texto deve ser limitado ao máximo de 200 palavras, incluindo título, texto e até 3 referências. É possível incluir até o máximo de 3

figuras, considerando-se que o conteúdo total será publicado em apenas uma página.

Tabelas e Figuras: Tabelas e gráficos devem ser apresentados em preto e branco, com legendas e respectivas numerações impressas ao pé de cada ilustração. As tabelas e figuras devem ser enviadas no seu arquivo digital original, as tabelas preferencialmente em arquivos Microsoft Word e as figuras em arquivos JPEG acima de 300 dpi. Fotografias de exames, procedimentos cirúrgicos e biópsias onde foram utilizadas colorações e técnicas especiais serão consideradas para impressão colorida, sem custo adicional aos autores. As grandezas, unidades e símbolos devem obedecer às normas nacionais correspondentes (ABNT: <http://www.abnt.org.br>).

Legendas: Legendas deverão acompanhar as respectivas figuras (gráficos, fotografias e ilustrações) e tabelas. Cada legenda deve ser numerada em algarismos arábicos, correspondendo a suas citações no texto. Além disso, todas as abreviaturas e siglas empregadas nas figuras e tabelas devem ser definidas por extenso abaixo das mesmas.

Referências: Devem ser indicadas apenas as referências utilizadas no texto, numeradas com algarismos arábicos e na ordem em que foram citadas. A apresentação deve estar baseada no formato Vancouver Style, atualizado em outubro de 2004, conforme os exemplos abaixo. Os títulos dos periódicos citados devem ser abreviados de acordo com o estilo apresentado pela List of Journal Indexed in Index Medicus, da National Library of Medicine disponibilizados no endereço: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/journals/loftext.noprov.html>.

Para todas as referências, cite todos os autores até seis. Acima desse número, cite os seis primeiros autores seguidos da expressão et al.

Exemplos:

Artigos

Originais

1. Neder JA, Nery LE, Castelo A, Andreoni S, Lerario MC, Sachs AC et al. Prediction of metabolic and cardiopulmonary responses to maximum cycle ergometry: a randomized study. Eur Respir J. 1999;14(6):1204-13.

Resumos

2. Singer M, Lefort J, Lapa e Silva JR, Vargaftig BB. Failure of granulocyte

depletion to suppress mucin production in a murine model of allergy [abstract]. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161:A863.

Capítulos de Livros

3. Queluz T, Andres G. Goodpastures syndrome. In: Roitt IM, Delves PJ, editors. *Encyclopedia of Immunology*. 1st ed. London: Academic Press; 1992. p. 621-3.

Publicações Oficiais

4. World Health Organization. Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis. *WHO/Tb*, 1994;178:1-24.

Teses

5. Martinez TY. Impacto da dispnéia e parâmetros funcionais respiratórios em medidas de qualidade de vida relacionada a saúde de pacientes com fibrose pulmonar idiopática [thesis]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 1998.

Artigos Publicados na Internet

6. Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12]; 102(6): [about 3 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

Homepages/Endereços Eletrônicos

7. Cancer-Pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>

Outras situações:

Na eventualidade do surgimento de situações não contempladas por estas Instruções Redatoriais, deverão ser seguidas as recomendações contidas em International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. Updated October 2004.

7.6 Anexo 6 – Normas para submissão Journal Pulmonology

INTRODUCTION

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

Types of article

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

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

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

Commentaries: Commentaries, essays, critical analyses or declarations of a position

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

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

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

Letters to the editor: Two types of letter to the editor are considered, clinical notes and correspondence.

Clinical notes stand for a very objective reporting of results of clinical observation or original research for which a detailed development is not appropriate. The text should not exceed 800 words, excluding references and tables, and can include a maximum of two tables or figures and up to 7 references. Correspondence refers to a succinct commentaries on articles published in the Portuguese Journal of Pulmonology, preferably within the previous 6 months. In this case, the text should not exceed 500 words, excluding references and tables, and can include a maximum of one table or figure and up to 5 references. Letters to the editor should not include abstracts. In manuscripts signed by more than 6 authors (3 authors in the case of letters to the editor), there has to be an explicit explanation for such an extensive authorship.

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

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

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

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

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- **Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)**
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal publication](#).

Human and animal rights

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with [The Code of Ethics of the World Medical Association](#) (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans. The manuscript should be in line with the [Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals](#) and aim for the inclusion of representative human populations (sex, age and ethnicity) as per those recommendations. The terms [sex and gender](#) should be used correctly.

Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the [ARRIVE guidelines](#) and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, [EU Directive 2010/63/EU for animal experiments](#), or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed. The sex of animals must be indicated, and where appropriate, the influence (or association) of sex on the results of the study.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding.

Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double-blind) or the manuscript file (if single-blind). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. This summary statement will be ultimately published if the article is accepted. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential

interests to be declared in both places and that the information matches. [More information](#).

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' section of our ethics policy for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [Crossref Similarity Check](#).

Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Clinical trial results

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

Reporting clinical trials

Randomized controlled trials should be presented according to the CONSORT guidelines. At manuscript submission, authors must provide the CONSORT checklist accompanied by a flow diagram that illustrates the progress of patients through the trial, including recruitment, enrollment, randomization, withdrawal and completion, and a detailed description of the randomization procedure. The [CONSORT checklist and template flow diagram](#) are available online.

Registration of clinical trials

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

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the

corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Author

rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information](#).

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Role of the funding source

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

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the Open Access Publication Fee. Details of [existing agreements](#) are available online.

Open access

This is an open access journal: all articles will be immediately and permanently free for everyone to read and download. To provide open access, this journal has an open access fee (also known as an article publishing charge APC) which needs to be paid by the authors or on their behalf e.g. by their research funder or institution. Permitted third party (re)use is defined by the following [Creative Commons user licenses](#):

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

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

No fee is payable by the author as publishing costs are covered by the society.

Elsevier Researcher Academy

[Researcher Academy](#) is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn"

environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's WebShop.

Informed consent and patient details

Studies on patients or volunteers require ethics committee approval and informed consent, which should be documented in the paper. Appropriate consents, permissions and releases must be obtained where an author wishes to include case details or other personal information or images of patients and any other individuals in an Elsevier publication. Written consents must be retained by the author but copies should not be provided to the journal. Only if specifically requested by the journal in exceptional circumstances (for example if a legal issue arises) the author must provide copies of the consents or evidence that such consents have been obtained. For more information, please review the [Elsevier Policy on the Use of Images or Personal Information of Patients or other Individuals](#). Unless you have written permission from the patient (or, where applicable, the next of kin), the personal details of any patient included in any part of the article and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

Submission

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

Submit your article

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

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

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

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

PREPARATION

Peer review

This journal operates a single blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. [More information on types of peer review.](#)

Use of word processing software

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

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Subdivision - unnumbered sections

Divide your article into clearly defined sections. Each subsection is given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line. Subsections should be used as much as possible when cross-referencing text: refer to the subsection by heading as opposed to simply 'the text'.

Introduction

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

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

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

Conclusions

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

Appendices

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

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Structured abstract

A structured abstract, by means of appropriate headings, should provide the context or background for the research and should state its purpose, basic procedures (selection of study subjects or laboratory animals, observational and analytical methods), main findings (giving specific effect sizes and their statistical significance, if possible), and principal conclusions. It should emphasize new and important aspects of the study or observations.

The headings will consist of: «Introduction and Objectives», «Patients or Materials and Methods», «Results» and «Conclusions».

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using British spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

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

Acknowledgements

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

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Units

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

Math formulae

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

Embedded math equations

If you are submitting an article prepared with Microsoft Word containing embedded math equations then please read this [related support information](#).

Artwork

Image manipulation

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

Electronic artwork

General

points

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

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

Formats

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

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

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

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

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

Please do not:

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

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF) or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites). [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

Illustration services

[Elsevier's WebShop](#) offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is

also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

Figure captions

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

Tables

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

References

Citation in text

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

Reference links

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

A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an

issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

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

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. This identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

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

Reference style

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

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

Examples:

Reference to a journal publication:

1. Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *J Sci Commun* 2010;**163**:51–9. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

2. Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *Heliyon*. 2018;**19**:e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Reference to a book:

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

Reference to a chapter in an edited book:

4. Mettam GR, Adams LB. How to prepare an electronic version of your article. In: Jones BS, Smith RZ, editors. *Introduction to the electronic age*, New York: E-Publishing Inc; 2009, p. 281–304.

Reference to a website:

5. Cancer Research UK. Cancer statistics reports for the UK, <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>; 2003 [accessed 13 March 2003].

Reference to a dataset:

[dataset] 6. Oguro M, Imahiro S, Saito S, Nakashizuka T. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, Mendeley Data, v1; 2015. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Note shortened form for last page number. e.g., 51–9, and that for more than 6 authors the first 6 should be listed followed by 'et al.' For further details you are referred to 'Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals' (J Am Med Assoc 1997;**277**:927–34)(see also [Samples of Formatted References](#)).

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the [List of Title Word Abbreviations](#).

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with

your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

RESEARCH DATA

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data page](#).

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving

readers access to underlying data that give them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. Before submitting your article, you can deposit the relevant datasets to Mendeley Data. Please include the DOI of the deposited dataset(s) in your main manuscript file. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

AFTER ACCEPTANCE

Proofs

One set of page proofs (as PDF files) will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post) or, a link will be provided in the e-mail so that authors can download the files themselves. Elsevier now provides authors with PDF proofs which can be annotated; for this you will need to [download the free Adobe Reader](#), version 9 (or

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

Offprints

The corresponding author will be notified and receive a link to the published version of the open access article on [ScienceDirect](#). This link is in the form of an article DOI link which can be shared via email and social networks. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Webshop](#). Authors requiring printed copies of multiple articles may use Elsevier Webshop's 'Create Your Own Book' service to collate multiple articles within a single cover.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch. You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).

7.7 Anexo 7 – Normas de publicação do periódico Fisioterapia e Pesquisa

a. Forma e preparação dos manuscritos

1. 1 – Apresentação:

O texto deve ser digitado em processador de texto Word ou compatível, em tamanho A4, com espaçamento de linhas e tamanho de letra que permitam plena legibilidade. O texto completo, incluindo páginas de rosto e de referências, tabelas e legendas de figuras, deve conter no máximo 25 mil caracteres com espaços.

2. 2 – A página de rosto deve conter:

- a) título do trabalho (preciso e conciso) e sua versão para o inglês;
- b) título condensado (máximo de 50 caracteres);
- c) nome completo dos autores, com números sobrescritos remetendo à afiliação institucional e vínculo, no número máximo de 6 (casos excepcionais onde será considerado o tipo e a complexidade do estudo, poderão ser analisados pelo Editor, quando solicitado pelo autor principal, onde deverá constar a contribuição detalhada de cada autor);
- d) instituição que sediou, ou em que foi desenvolvido o estudo (curso, laboratório, departamento, hospital, clínica, universidade, etc.), cidade, estado e país;
- e) afiliação institucional dos autores (com respectivos números sobrescritos); no caso de docência, informar título; se em instituição diferente da que sediou o estudo, fornecer informação completa, como em “d”); no caso de não-inserção institucional atual, indicar área de formação e eventual título;
- f) endereço postal e eletrônico do autor correspondente;
- g) indicação de órgão financiador de parte ou todo o estudo se for o caso;
- f) indicação de eventual apresentação em evento científico;
- h) no caso de estudos com seres humanos ou animais, indicação do parecer de aprovação pelo comitê de ética; no caso de ensaio clínico, o número de registro do Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos-REBEC (<http://www.ensaiosclinicos.gov.br>) ou no *Clinical Trials*(<http://clinicaltrials.gov>).

OBS: A partir de 01/01/2014 a FISIOTERAPIA & PESQUISA adotará a política sugerida pela Sociedade Internacional de Editores de Revistas em Fisioterapia e exigirá na submissão do manuscrito o registro retrospectivo, ou seja, ensaios clínicos

que iniciaram recrutamento a partir dessa data deverão registrar o estudo ANTES do recrutamento do primeiro paciente. Para os estudos que iniciaram recrutamento até 31/12/2013, a revista aceitará o seu registro ainda que de forma prospectiva.

3. 3 – Resumo, *abstract*, descritores e *keywords*:

A segunda página deve conter os resumos em português e inglês (máximo de 250 palavras). O resumo e o *abstract* devem ser redigidos em um único parágrafo, buscando-se o máximo de precisão e concisão; seu conteúdo deve seguir a estrutura formal do texto, ou seja, indicar objetivo, procedimentos básicos, resultados mais importantes e principais conclusões. São seguidos, respectivamente, da lista de até cinco descritores e *keywords* (sugere-se a consulta aos DeCS – Descritores em Ciências da Saúde da Biblioteca Virtual em Saúde do Lilacs (<http://decs.bvs.br>) e ao MeSH – Medical Subject Headings do Medline (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>)).

4. 4 – Estrutura do texto:

Sugere-se que os trabalhos sejam organizados mediante a seguinte estrutura formal:

- a) Introdução – justificar a relevância do estudo frente ao estado atual em que se encontra o objeto investigado e estabelecer o objetivo do artigo;
- b) Metodologia – descrever em detalhe a seleção da amostra, os procedimentos e materiais utilizados, de modo a permitir a reprodução dos resultados, além dos métodos usados na análise estatística;
- c) Resultados – sucinta exposição factual da observação, em seqüência lógica, em geral com apoio em tabelas e gráficos. Deve-se ter o cuidado para não repetir no texto todos os dados das tabelas e/ou gráficos;
- d) Discussão – comentar os achados mais importantes, discutindo os resultados alcançados comparando-os com os de estudos anteriores. Quando houver, apresentar as limitações do estudo;
- e) Conclusão – sumarizar as deduções lógicas e fundamentadas dos Resultados.

5. 5 – Tabelas, gráficos, quadros, figuras e diagramas:

Tabelas, gráficos, quadros, figuras e diagramas são considerados elementos gráficos. Só serão apreciados manuscritos contendo no máximo cinco desses

elementos. Recomenda-se especial cuidado em sua seleção e pertinência, bem como rigor e precisão nas legendas, as quais devem permitir o entendimento do elemento gráfico, sem a necessidade de consultar o texto. Note que os gráficos só se justificam para permitir rápida compreensão das variáveis complexas, e não para ilustrar, por exemplo, diferença entre duas variáveis. Todos devem ser fornecidos no final do texto, mantendo-se neste, marcas indicando os pontos de sua inserção ideal. As tabelas (títulos na parte superior) devem ser montadas no próprio processador de texto e numeradas (em arábicos) na ordem de menção no texto; decimais são separados por vírgula; eventuais abreviações devem ser explicitadas por extenso na legenda.

Figuras, gráficos, fotografias e diagramas trazem os títulos na parte inferior, devendo ser igualmente numerados (em arábicos) na ordem de inserção. Abreviações e outras informações devem ser inseridas na legenda, a seguir ao título.

6. 6 – Referências bibliográficas:

AAs referências bibliográficas devem ser organizadas em seqüência numérica, de acordo com a ordem em que forem mencionadas pela primeira vez no texto, seguindo os Requisitos Uniformizados para Manuscritos Submetidos a Jornais Biomédicos, elaborados pelo Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas – ICMJE (<http://www.icmje.org/index.html>).

7. 7 – Agradecimentos:

Quando pertinentes, dirigidos a pessoas ou instituições que contribuíram para a elaboração do trabalho, são apresentados ao final das referências. O texto do manuscrito deverá ser encaminhado em dois arquivos, sendo o primeiro com todas as informações solicitadas nos itens acima e o segundo uma cópia cegada, onde todas as informações que possam identificar os autores ou o local onde a pesquisa foi realizada devem ser excluídas.

b. Envio dos manuscritos

Os autores devem encaminhar dois arquivos que contenham o manuscrito (texto + tabelas + figuras) sendo o primeiro com todas as informações solicitadas nos itens acima e o segundo uma cópia cegada, onde todas as informações que possam identificar os autores ou o local onde a pesquisa foi realizada devem ser excluídas.

Para a submissão do manuscrito, o autor deve acessar a Homepage da SciELO (<http://submission.scielo.br/index.php/fp/login>), ou link disponibilizado abaixo, com o seu login e senha. No primeiro acesso, o autor deve realizar o cadastro dos seus dados. Juntamente com o manuscrito, devem ser enviados no item 4 do processo de submissão – TRANSFERÊNCIA DE DOCUMENTOS SUPLEMENTARES, os três arquivos listados abaixo (Download), devidamente preenchidos e assinados, bem como o comprovante de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.

a) **Carta de Encaminhamento** (Download) – informações básicas sobre o manuscrito.

b) **Declaração de Responsabilidade e Conflito de Interesses** (Download) – é declarada a responsabilidade dos autores na elaboração do manuscrito, bem como existência ou não de eventuais conflitos de interesse profissional, financeiro ou benefícios diretos ou indiretos que possam influenciar os resultados da pesquisa.

c) **Declaração de Transferência de Direitos Autorais** (Download)- é transferido o direito autoral do manuscrito para a Revista Fisioterapia & Pesquisa / Physical Therapy & Research, devendo constar a assinatura de todos os autores.

7.8 Anexo 8 – Questionários de Qualidade de vida

Questionário de qualidade de vida - Crianças de 6 a 11 anos

Este questionário é formatado para o uso do entrevistador. Por favor, use esse formato para crianças mais jovens. Para crianças mais velhas, *que parecem ser capazes de ler e responder aos questionários sozinhas*, como as de 12 a 13 anos, use este questionário na forma de auto avaliação.

Para cada seção do questionário, há instruções para o entrevistador. Estas instruções que você *deve ler para a criança estão assinaladas entre aspas*. As instruções que você *deve seguir estão sublinhadas e colocadas em itálico*.

Entrevistador: *Por favor faça as seguintes perguntas:*

A) Qual a data de seu nascimento?

Dia Mês Ano

B) Você é?

Menino Menina

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

Sim Não

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

1 Branca

2 Negra

3 Mulata

4 Oriental

5 Indígena

6 Outra (qual?) _____

7 Prefere não responder

8 Não sabe responder

Em que série você está agora?

1 Infantil (jardim da infância)

2 1ª série

3 2ª série

4 3ª série

5 4ª série

6 5ª série

7 6ª série

8 7ª série

9 não está na escola

Entrevistador: Por favor leia o seguinte para a criança:

"Estas questões são feitas para as crianças que, como você, têm a Fibrose Cística. Suas respostas vão nos ajudar a entender como esta doença é e como seu tratamento lhe ajuda. Responder a estas questões vai ajudar a você e a outros como você, no futuro. Para cada questão que eu pergunto, escolha uma resposta no cartão que eu vou mostrar para você."

* Apresente o cartão laranja para a criança.

Olhe para este cartão e leia comigo o que ele diz: **Sempre é verdade, Quase sempre é verdade, Às vezes é verdade ou Nunca é verdade.**" Aqui está um exemplo: Se eu perguntasse a você se **Sempre é verdade, Quase sempre é verdade, Às vezes é verdade ou Nunca é verdade** que os elefantes voam, qual das 4 respostas do cartão você escolheria?"

* Apresente o cartão azul para a criança.

"Agora olhe para este cartão e leia comigo o que diz: **Sempre / Frequentemente / Às vezes / Nunca.**" Aqui está um outro exemplo: Se eu perguntasse se você vai para a lua **Sempre / Frequentemente / Às vezes / Nunca**, qual das respostas do cartão você escolheria?"

* Apresente o cartão laranja para a criança.

"Agora eu vou fazer algumas perguntas sobre sua vida de todos os dias."

"Fale-me se você acha que o que eu vou ler para você **Sempre é verdade, Quase sempre é verdade, Às vezes é verdade ou Nunca é verdade.**"

Por favor assinale o quadrado da resposta da criança.

"Durante **as últimas duas semanas:**"

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

Entrevistador: *Mostre o cartão azul à criança.*

Por favor assinale o quadrado indicando a resposta da criança.

"E durante **as últimas duas semanas,** diga-me com que frequência:"

	Sempre	Frequentemente	Às vezes	Nunca
7. Você se sentiu cansado(a)				

8. Você se sentiu bravo(a)				
9. Você se sentiu irritado(a)				
10. Você se sentiu preocupado(a)				
11. Você ficou triste				
12. Você teve dificuldade em adormecer				
13. Você teve sonhos ruins ou pesadelos				
14. Você se sentiu bem consigo mesmo(a)				
15. Você teve problemas para comer				
16. Você teve que parar de brincar ou jogar por causa dos seus tratamentos				
17. Você foi forçado(a) a comer				

Entrevistador: *Apresente o cartão laranja à criança.*

"Agora diga se você acha que o que estou lendo para você **Sempre é verdade, Quase sempre é verdade, Às vezes é verdade ou Nunca é verdade.**"

Por favor assinale o quadrado indicando a resposta da criança.

"Durante **as últimas duas semanas:**"

	Sempre é verdade	Quase sempre é verdade	Às vezes é verdade	Nunca é verdade
18. Você conseguiu fazer todos os seus tratamentos				
19. Você gostou de comer				
20. Você brincou muito com os amigos				

21. Você ficou em casa mais que você queria				
22. Você se sentiu bem dormindo fora de casa (na casa do amigo, parente ou outro lugar)				
23. Você se sentiu excluído(a)				
24. Você convidou com frequência os amigos para sua casa				
25. Você foi "gozado(a)" por outras crianças				
26. Você se sentiu bem falando sobre sua doença com outros (amigos, professores)				
27. Você pensou que era muito pequeno(a)				
28. Você pensou que era muito magro(a)				
29. Você pensou que você era diferente fisicamente dos outros de sua idade				
30. Fazer seus tratamentos deixou você chateado(a)				

Entrevistador: Apresente o cartão azul para a criança novamente.

Assinale o quadrado indicando a resposta da criança.

"Diga-me quantas vezes nas **últimas duas semanas:**"

	Sempre	Frequentemente	Às vezes	Nunca
--	---------------	-----------------------	-----------------	--------------

31. Você tossiu durante o dia				
32. Você acordou à noite por causa da tosse				
33. Você tossiu catarro				
34. Você teve falta de ar				
35. Seu estômago doeu				

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

OBRIGADO POR SUA COOPERAÇÃO

Questionário de qualidade de vida - Crianças de 12 a 13 anos

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

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

Por favor, complete as informações abaixo:

A) Qual a data de seu nascimento?

Dia Mês Ano

B) Você é?

Masculino Feminino

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

Sim Não

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

1 Branca

2 Negra

3 Mulata

4 Oriental

5 Indígena

6 Outra (qual?) _____

7 Prefere não responder

8 Não sabe responder

E) Em que série você está agora?

1 5ª série

2 6ª série

3 7ª série

4 8ª série

5 1º colegial

6 não está na escola

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

Durante as **últimas duas semanas**:

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

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

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

	Sempre	Frequentemente	Às vezes	Nunca
7. Você se sentiu cansado(a)				
8. Você se sentiu bravo(a)				
9. Você se sentiu irritado(a)				
10. Você se sentiu preocupado(a)				
11. Você se sentiu triste				
12. Você teve dificuldade em adormecer				
13. Você teve sonhos ruins ou pesadelos				
14. Você se sentiu bem consigo mesmo(a)				
15. Você teve problemas para comer				
16. Você teve que parar de brincar ou jogar por causa dos seus tratamentos				
17. Você foi obrigado(a) a comer				

Por favor, assinale o quadrado indicando a sua resposta.

Durante as últimas duas semanas:

	Sempre é verdade	Quase sempre é verdade	Às vezes é verdade	Nunca é verdade
18. Você foi capaz de fazer todos os seus tratamentos				
19. Você gostou de comer				
20. Você ficou muito com os amigos				

21. Você ficou em casa mais tempo do que você queria				
22. Você se sentiu bem dormindo fora de casa (na casa do amigo, parente ou outro lugar)				
23. Você se sentiu excluído(a)				
24. Você convidou com frequência os amigos para sua casa				
25. Você foi "gozado(a)" por outras crianças				
26. Você se sentiu bem falando sobre sua doença com outros (amigos, professores)				
27. Você pensou que era muito pequeno(a)				
28. Você pensou que você era muito magro(a)				
29. Você pensou que você era diferente fisicamente dos outros de sua idade				
30. Fazer seus tratamentos deixou você chateado(a)				

Por favor, assinale o quadrado indicando a sua resposta.

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

	Sempre	Frequentemente	Às vezes	Nunca
31. Você tossiu durante o dia				

32. Você acordou à noite por causa da tosse				
33. Você tossiu com catarro				
34. Você teve falta de ar				
35. Seu estômago doeu				

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

OBRIGADO POR SUA COOPERAÇÃO!

Questionário de fibrose cística - Adolescentes e adultos (pacientes acima de 14 anos)

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

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

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

SESSÃO I: DEMOGRAFIA

Por favor, complete as informações abaixo:

A) Qual a data de seu nascimento?

Dia Mês Ano

B) Qual o seu sexo?

Masculino Feminino

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

Sim Não

D) Qual o seu estado civil atual?

1 Solteiro(a) / nunca casou

2 Casado(a)

3 Viúvo(a)

4 Divorciado(a)

5 Separado(a)

6 2º casamento

7 Juntado(a)

E) Qual a origem dos seus familiares?

1 Branca

2 Negra

3 Mulata

4 Oriental

5 Indígena

6 Outra (qual?)_____

7 Prefere não responder

8 Não sabe responder

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

1 Escola Fundamental (Primário e Ginásio) Incompleto

2 Escola Fundamental (Primário e Ginásio) Completo

3 Escola Vocacional (Profissionalizante)

4 Curso Médio (colegial ou científico) Incompleto

5 Curso Médio (colegial ou científico) Completo

6 Faculdade / Curso Superior

7 Não frequentou a escola

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

1 Vai à escola

2 Faz cursos em casa

3 Procura trabalho

4 Trabalha em período integral ou parcial (fora ou dentro de casa)

5 Faz serviços em casa - período integral

6 Não vai à escola ou trabalho por causa da saúde

7 Não trabalha por outras razões

SEÇÃO II. QUALIDADE DE VIDA

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

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

	Muita dificuldade	Alguma dificuldade	Pouca dificuldade	Nenhumadificuldade
1. Realizar atividades vigorosas como correr ou praticar esportes				
2. Andar tão depressa quanto os outros				
3. Carregar ou levantar coisas pesadas como livros, pacotes ou mochilas				
4. Subir um lance de escadas				
5. Subir tão depressa quanto os outros				

Por favor, assinale o quadrado, indicando sua resposta.

Durante as últimas duas semanas indique quantas vezes:

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

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

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

13. Qual é a sua dificuldade para andar?

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

14. Como você se sente em relação à comida?

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

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

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

16. Quanto tempo você gasta nos tratamentos diariamente?

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

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

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

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

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

Por favor, selecione o quadrado indicando sua resposta.

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

	Sempre é verdade	Quase sempre é verdade	Às vezes é verdade	Nunca é verdade
19. Eu tenho dificuldade em me recuperar após esforço físico				
20. Eu preciso limitar atividades intensas como correr ou jogar				
21. Eu tenho que me esforçar para comer				
22. Eu preciso ficar em casa mais do que eu gostaria				
23. Eu me sinto bem falando sobre a minha doença com os outros				
24. Eu acho que estou muito magro(a)				
25. Eu acho que minha aparência é diferente dos outros da minha idade				
26. Eu me sinto mal com a minha aparência física				
27. As pessoas têm medo que eu possa ser contagioso(a)				
28. Eu fico bastante com os meus amigos				
29. Eu penso que a minha tosse incomoda os outros				

30. Eu me sinto confortável ao sair de noite				
31. Eu me sinto sozinho(a) com frequência				
32. Eu me sinto saudável				
33. É difícil fazer planos para o futuro (por exemplo frequentar faculdade, casar, progredir no emprego)				
34. Eu levo uma vida normal				

SEÇÃO III. ESCOLA, TRABALHO OU ATIVIDADES DIÁRIAS

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

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

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

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

sempre frequentemente às vezes nunca

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

sempre frequentemente às vezes nunca

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

sempre frequentemente às vezes nunca

SEÇÃO IV. DIFICULDADES NOS SINTOMAS

Por favor, assinale a sua resposta.

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

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

*Se na questão 42 a resposta for **Nada**, vá para a questão 44*

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

1. claro
2. claro para amarelado
3. amarelo – esverdeado
4. verde com traços de sangue
5. não sei

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

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

Por favor, verifique se você respondeu todas as questões.

OBRIGADO POR SUA COOPERAÇÃO!

Questionário de fibrose cística para os pais/cuidadores (crianças de 6 a 13 anos)

A compreensão do impacto da doença e dos tratamentos sobre a vida diária da sua criança pode ajudar a equipe de saúde a acompanhar melhor sua criança e ajustar seu tratamento. Por essa razão, nós desenvolvemos este questionário de qualidade de vida especialmente para pais de crianças com fibrose cística. Agradecemos por sua boa vontade de completar este questionário.

Instruções: O seguinte questionário é a respeito do estado atual da saúde do (da) seu (sua) filho(a), como ela ou ele o percebe. Esta informação vai nos permitir entender melhor como ela ou ele se sente no dia a dia. Por favor, responda todas as questões. **Não há resposta certa ou errada!** Se não tiver certeza da resposta, escolha a que for mais próxima da condição do (da) seu (sua) filho(a).

SESSÃO I: DEMOGRAFIA

Por favor, preencha as informações abaixo ou anote o quadrado indicando sua resposta:

A) Qual a data de nascimento da **sua criança**?

 Dia Mês Ano

B) Qual é o seu parentesco com a criança?

1 Mãe

2 Pai

3 Avó

4 Avô

5 Madrasta

6 Padrasto

7 Outro (qual?) _____

C) Qual das seguintes descreve melhor maneira a origem da sua criança?

1 Branca

2 Negra

- 3 Mulata
- 4 Oriental
- 5 Indígena
- 6 Outra (qual?)_____
- 7 Prefere não responder
- 8 Não sabe responder

D) Durante as **últimas duas semanas** sua criança esteve de férias ou faltou à escola por razões **NÃO** relacionadas a sua saúde?

Sim Não

E) Qual a data do **seu** nascimento?

Dia Mês Ano

F) Qual o seu estado civil atual?

- 1 Solteiro(a) / nunca casou
- 2 Casado(a)
- 3 Viúvo(a)
- 4 Divorciado(a)
- 5 Separado(a)
- 6 2º casamento
- 7 Juntado(a)

G) Qual é maior grau de escolaridade que senhor(a) completou?

Escola Fundamental (Primário e Ginásio) Incompleto

Escola Fundamental (Primário e Ginásio) Completo

Escola Vocacional (Profissionalizante)

Curso Médio (colegial ou científico) Incompleto

Curso Médio (colegial ou científico) Completo

Faculdade / Curso Superior

Não frequentou a escola

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

Procura trabalho

Trabalha em período integral ou parcial (fora ou dentro de casa)

Faz serviços em casa - período integral

Não vai à escola ou trabalho por causa da saúde

Não trabalha por outras razões

SEÇÃO II. QUALIDADE DE VIDA

Por favor, indique como a sua criança se sentiu nas últimas duas semanas.

Assinale o quadrado, indicando sua resposta.

Assinale qual a dificuldade que a sua criança tem para:

	Muita dificuldade	Alguma dificuldade	Pouca dificuldade	Nenhuma dificuldade
1. Realizar atividades vigorosas como correr ou praticar esportes				
2. Andar tão depressa quanto os outros				
3. Subir escadas tão depressa quanto os outros				
4. Carregar ou levantar objetos pesados como livros, mochilas ou maleta da escola				
5. Subir vários lances de escada				

Por favor, assinale o quadrado, indicando sua resposta.

Durante as últimas duas semanas indique com que frequência a sua criança:

	Sempre	Frequentemente	Às vezes	Nunca
6. Pareceu estar feliz				
7. Pareceu estar preocupado(a)				
8. Pareceu estar cansado				
9. Pareceu estar bravo(a)				
10. Pareceu estar bem				
11. Pareceu estar irritado(a)				
12. Pareceu cheio(a) de energia				
13. Faltou ou chegou atrasada da escola ou em outras atividades por causa da sua doença ou dos tratamentos?				

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

Pensando sobre a saúde da sua criança nas últimas duas semanas, indique:

14. Até que ponto a sua criança participou de esportes e de outras atividades tais como aulas de ginástica?

1. Não participou de atividades físicas
2. Participou dos esportes, mas menos que o habitual
3. Participou, como de costume, mas com alguma dificuldade
4. Teve participação nos esportes, sem nenhuma dificuldade

15. Qual é a dificuldade da sua criança para andar?

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

Por favor, assinale o quadrado que indica sua resposta.

Pensando a respeito da sua saúde da sua criança, nas últimas duas semanas, indique a sua resposta para cada sentença:

	Sempre é verdade	Quase sempre é verdade	Às vezes é verdade	Nunca é verdade
16. Minha criança tem dificuldade em se recuperar após esforço físico				
17. As horas das refeições são difíceis				
18. Os tratamentos da minha criança atrapalham suas atividades				
19. Minha criança se sente pequena quando comparada com outras crianças da mesma idade				
20. Minha criança se sente fisicamente diferente de outras crianças da mesma idade				
21. Minha criança pensa que é muito magra				
22. Minha criança se sente saudável				
23. Minha criança tende ser retraído(a)				
24. Minha criança leva vida normal				

25. Minha criança diverte-se menos que o habitual				
26. Minha criança tem dificuldade de conviver com os outros				
27. Minha criança tem dificuldade em se concentrar				
28. Minha criança é capaz de realizar tarefas escolares				
29. Minha criança não está indo bem na escola como costumava ir				
30. Minha criança gasta um monte de tempo nos seus tratamentos diariamente				

Por favor, circule o número indicando sua resposta. Escolha apenas uma resposta para cada questão.

31. Até que ponto é difícil para sua criança fazer os tratamentos (inclusive a medicação) todos os dias?

1. Não é difícil
2. Um pouco difícil
3. Moderadamente difícil
4. É muito difícil

32. O que você acha da saúde da sua criança no momento?

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

SEÇÃO III. DIFICULDADES NOS SINTOMAS

A próxima série de questões foi designada para determinar a frequência com que a sua criança apresenta alguns problemas respiratórios, como a tosse e a dificuldade para respirar (falta de ar).

Por favor, indique como a sua criança tem se sentindo nas últimas duas semanas.

	Muito(a)	Algum(a)	Um pouco	Nada
33. Minha criança teve dificuldade em ganhar peso				
34. Minha criança estava encatarrada				
35. Minha criança tossiu durante o dia				
36. Minha criança teve expectoração com catarro				*

** Vá para a questão 38*

37. O catarro da minha criança tem sido predominantemente:

Claro; claro para amarelado; amarelo - esverdeado; verde com traços de sangue; não sei

Durante as últimas duas semanas:

	Sempre	Frequentemente	Às vezes	Nunca
38. Minha criança teve chiado				
39. Minha criança teve falta de ar				
40. Minha criança acordou à noite porque estava tossindo				
41. Minha criança teve gases				

42. Minha criança teve diarreia				
43. Minha criança teve dor abdominal				
44. Minha criança teve problemas com alimentação				

Por favor, verifique se você respondeu todas as questões.

OBRIGADO POR SUA COOPERAÇÃO!

7.9 Anexo 9 – Questionário de estabilidade clínica

Questionário de estabilidade clínica

Febre na última semana: () Sim () Não

Aumento da tosse: () Sim () Não

Falta de ar: () Sim () Não

Aumento da expectoração e mudança das suas características:

() Sim () Não Observações:

Necessidade e/ou aumento do uso de oxigênio: () Sim () Não

Atendimento no setor de emergência e/ou internação? () Sim () Não

Aumento das medicações: () Sim () Não

Uso de antibióticos (afora os habituais): () Sim () Não

Observações:

Questionário de estabilidade clínica

Febre na última semana: () Sim () Não

Aumento da tosse: () Sim () Não

Falta de ar: () Sim () Não

Aumento da expectoração e mudança das suas características:

() Sim () Não Observações:

Necessidade e/ou aumento do uso de oxigênio: () Sim () Não

Atendimento no setor de emergência e/ou internação? () Sim () Não

Aumento das medicações: () Sim () Não

Uso de antibióticos (afora os habituais): () Sim () Não

Observações:

8. APÊNDICE

8.1 Apêndice 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Meu nome é Flávio Monteiro Ayres sou o pesquisador responsável e minha área de atuação é Genética.

Após ler com atenção este documento ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine em todas as folhas e ao final deste documento, que está em duas vias e também será assinado por mim, pesquisador, em todas as folhas. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com o pesquisador responsável, Dr. Flávio Monteiro Ayres no telefone: (62) 9 8146-2268. A ligação poderá ser realizada a cobrar.

INFORMAÇÕES IMPORTANTES QUE VOCÊ PRECISA SABER SOBRE A PESQUISA:

Título: Investigação clínica laboratorial de mutações do gene *cftr* em pacientes com fibrose cística na cidade de Goiânia e Anápolis, Goiás .

Informações sobre quem está aplicando o termo de consentimento:

- Flávio Monteiro Ayres: Biomédico com doutorado em Ciências Médicas e Dentais, professor da Universidade Estadual de Goiás, e coordenador do Laboratório de Pesquisa em Genética – UEG.
- Yasmim Queiroz Santos: Fisioterapeuta, Discente do programa de pós graduação de Ciências Aplicadas a Produtos da Saúde da Universidade Estadual de Goiás (UEG), pesquisadora do Laboratório de Pesquisa em Genética – UEG.

O estudo tem como objetivo pesquisar mutações do gene *cftr* em pacientes com FC correlacionando a dados clínico-laboratoriais e radiológicos. Ao concordar em participar da pesquisa, um profissional raspará suavemente o interior da sua bochecha (mucosa oral) com uma espátula. Esse profissional usará materiais estéreis e descartáveis, incluindo a troca das luvas entre uma raspagem e outra. O procedimento é considerado como pouco invasivo, podendo causar apenas um leve desconforto. Em caso de algum dano causado ao (a) doador (a) decorrente de sua participação na pesquisa, ele (a) terá total direito de pleitear indenização. Ao aceitar participar da pesquisa, nós esclarecemos que a sua participação não será efetuada nenhum tipo de pagamento ou gratificação. A participação individual na pesquisa contribuirá para aprimorar e desenvolver o conhecimento sobre mutações do gene *cftr* em pacientes com FC correlacionando a dados clínico-laboratoriais e radiológicos. Os benefícios advindos desta pesquisa serão potencialmente revertidos em melhorias nos investimentos e ações de saúde pública no Estado. A participação na pesquisa tem duração apenas no período da coleta e preenchimento dos questionários, que levará alguns minutos. Todas as informações obtidas do (a) doador (a) serão mantidas em sigilo. O indivíduo terá liberdade de não aceitar participar,

bem como de retirar o consentimento. Ao assinar este termo o pesquisador também poderá investigar correlações das mutações com outras manifestações e exames listados em seu prontuário.

Flávio Monteiro Ayres
CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO
DA PESQUISA

Eu, _____, RG/CPF _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo **Investigação clínica laboratorial de mutações do gene *cftr* em pacientes com fibrose cística na cidade de Goiânia e Anápolis, Goiás**, sob a responsabilidade do Dr. Flávio Monteiro Ayres como sujeito voluntário. Fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador _____ sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve à qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/assistência/tratamento.

Local e data: _____

Nome e Assinatura do sujeito ou responsável: _____

Assinatura Dactiloscópica:

Nome e assinatura do Pesquisador Responsável _____

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimento sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar. Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____ Assinatura: _____

Nome: _____ Assinatura: _____

• Observações complementares:

8.2 Apêndice 2 - Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado para participar da pesquisa como voluntário. Meu nome é Flávio Monteiro Ayres, sou o pesquisador responsável e minha área de atuação é Genética. Seus pais permitiram que você participasse. Queremos pesquisar as mutações do gene *cftr* em pacientes com Fibrose Cística (FC) correlacionando a dados clínico-laboratoriais e radiológicos. As crianças que irão participar dessa pesquisa têm de **0 a 17 anos e 11 meses** de idade. Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu não terá nenhum problema se desistir.

A pesquisa será feita no Hospital das Clínicas de Goiás HC-UFG e Associação dos Pais e Amigos dos Excepcionais de Anápolis (APAE), um profissional raspará suavemente a parte interior da sua bochecha (mucosa oral) com uma espátula. Esse profissional usará materiais nunca usados (estéreis e descartáveis), incluindo a troca das luvas entre uma raspagem e outra. O procedimento é considerado como pouco invasivo, podendo causar apenas um leve desconforto. Caso aconteça algo errado, você pode nos procurar pelo telefone (62) 9 8146-2268 do pesquisador Flávio Monteiro Ayres. A ligação poderá ser feita a cobrar.

Mas há coisas boas que podem acontecer como melhorias nos investimentos e ações de saúde pública no Estado para o seu tratamento. Ninguém saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa vão ser publicados, mas sem identificar o seu nome ou nome de seus pais tudo será mantido em segredo sobre quem é você. Quando terminarmos a pesquisa você e seus pais vão poder ter acesso aos resultados por meio da explicação dos pesquisadores. Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar ou ao pesquisador Flávio Monteiro Ayres. Eu escrevi os telefones na parte de cima desse texto.

Eu _____ aceito participar da **Investigação clínica laboratorial de mutações do gene *cftr* em pacientes com fibrose cística na cidade de Goiânia e Anápolis, Goiás**, que tem o objetivo de pesquisar mutações do gene *cftr* em pacientes com FC correlacionando a dados clínico-laboratoriais e radiológicos. Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer. Entendi que posso dizer “sim” e participar. Mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir que ninguém vai ficar furioso. Os pesquisadores tiraram dúvidas e conversaram com os meus responsáveis. Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li e concordo em participar da pesquisa.

_____, ____ de _____ de _____.

Assinatura do menor

Flávio Monteiro Ayres
Pesquisador responsável

8.3 Apêndice 3 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para o Responsável

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA O RESPONSÁVEL

Seu filho está sendo convidado (a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Meu nome é Flávio Monteiro Ayres sou o pesquisador responsável e minha área de atuação é Genética.

Após ler com atenção este documento ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar que ele faça parte do estudo, assine em todas as folhas e ao final deste documento, que está em duas vias e também será assinado por mim, pesquisador, em todas as folhas. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com o pesquisador responsável, Dr. Flávio Monteiro Ayres no telefone: (62) 9 8146-2268. A ligação poderá ser feita à cobrar.

INFORMAÇÕES IMPORTANTES QUE VOCÊ PRECISA SABER SOBRE A PESQUISA:

Título: Investigação clínica laboratorial de mutações do gene *cftr* em pacientes com fibrose cística na cidade de Goiânia e Anápolis, Goiás.

Informações sobre quem está aplicando o termo de consentimento:

- Flávio Monteiro Ayres: Biomédico com doutorado em Ciências Médicas e Dentais, professor da Universidade Estadual de Goiás, e coordenador do Laboratório de Pesquisa em Genética – UEG.
- Yasmim Queiroz Santos: Fisioterapeuta, Discente do programa de pós graduação de Ciências Aplicadas a Produtos da Saúde da Universidade Estadual de Goiás (UEG), pesquisadora do Laboratório de Pesquisa em Genética – UEG.

O estudo tem como objetivo pesquisar mutações do gene *cftr* em pacientes com FC correlacionando a dados clínico-laboratoriais e radiológicos. Ao concordar em participar da pesquisa, um profissional raspará suavemente o interior da bochecha (mucosa oral) do voluntário, com uma espátula. Esse profissional usará materiais estéreis e descartáveis, incluindo a troca das luvas entre uma raspagem e outra. O procedimento é considerado como pouco invasivo, podendo causar apenas um leve desconforto. Em caso de algum dano causado ao (a) doador (a) decorrente de sua participação na pesquisa, ele (a) terá total direito de pleitear indenização. Ao aceitar a participação de seu filho (a) na pesquisa, nós esclarecemos que a participação não será efetuada nenhum tipo de pagamento ou gratificação.

A participação individual na pesquisa contribuirá para aprimorar e desenvolver o conhecimento sobre mutações do gene *cftr* em pacientes com FC correlacionando a dados clínico-laboratoriais e radiológicos. Os benefícios advindos desta pesquisa serão potencialmente revertidos em melhorias nos investimentos e ações de saúde pública no Estado.

A participação na pesquisa tem duração apenas no período da coleta e preenchimento dos questionários, que levará alguns minutos. Todas as informações

obtidas do (a) doador (a) serão mantidas em sigilo. O voluntário também terá liberdade de não aceitar participar, bem como de retirar o consentimento. Os dados coletados serão utilizados apenas para esta pesquisa e não serão armazenados para estudos futuros. Ao assinar este termo o pesquisador também poderá investigar correlações das mutações com outras manifestações e exames listados em prontuário.

Flávio Monteiro Ayres

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DO MENOR COMO SUJEITO
DA PESQUISA

Eu, _____, RG/CPF _____, responsável pelo menor, _____, aceito sua participação no estudo **Investigação clínica laboratorial de mutações do gene *cftr* em pacientes com fibrose cística na cidade de Goiânia e Anápolis, Goiás**, sob a responsabilidade do Dr. Flávio Monteiro Ayres, como sujeito voluntário. Fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador _____ sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes da participação. Foi me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve à qualquer penalidade ou interrupção do acompanhamento/assistência/tratamento do menor envolvido.

Local e data _____

Nome e Assinatura do sujeito ou responsável: _____

Assinatura Dactiloscópica:

Nome e assinatura do Pesquisador Responsável _____

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimento sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar. Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____ Assinatura: _____

Nome: _____ Assinatura: _____

• Observações complementares:

8.4 Apêndice 4 – Ficha para análise de prontuários

Ficha para Análise de Prontuários HC/APAE

Nome/nº:

Data de nascimento:

Naturalidade: 1. Gyn 2. Cid. Int. 3. Ap. de Gyn 4. Outros

Procedência: 1. Gyn 2. Cid. Int. 3. Ap. Gyn 4. Outros

Etnia: 1. Branco 2. Negro 3. Pardo 4. Indígena

Idade do diagnóstico:

Tipo: 1. Clínico 2. IRT Valor:

Clínica: 1. T. Resp. 2. T. Dig. 3. T. Resp. + T. Dig.

Peso:

Altura:

IMC:

Teste do Suor¹:

Teste do Suor²:

Genótipo:

Pancreatina: 0. Não 1. Sim

Comorbidades:

Espirometria: VEF¹

CVF:

FEF:

Antibióticos:

Classificação de colonização:

PA crônico: 0. Não 1. Sim

Fisioterapia: 0. Não 1. Sim

Alfadornase: 0. Não 1. Sim

SK:

Número de Consultas: Internações: Suplemento nutricional: 0. Não 1. Sim

TC tórax:

Idade TC:

TTO Refluxo: 0. Não 1. Sim TTO Asma: 0. Não 1. Sim Diabetes: 0. Não 1. Sim

Obs: