

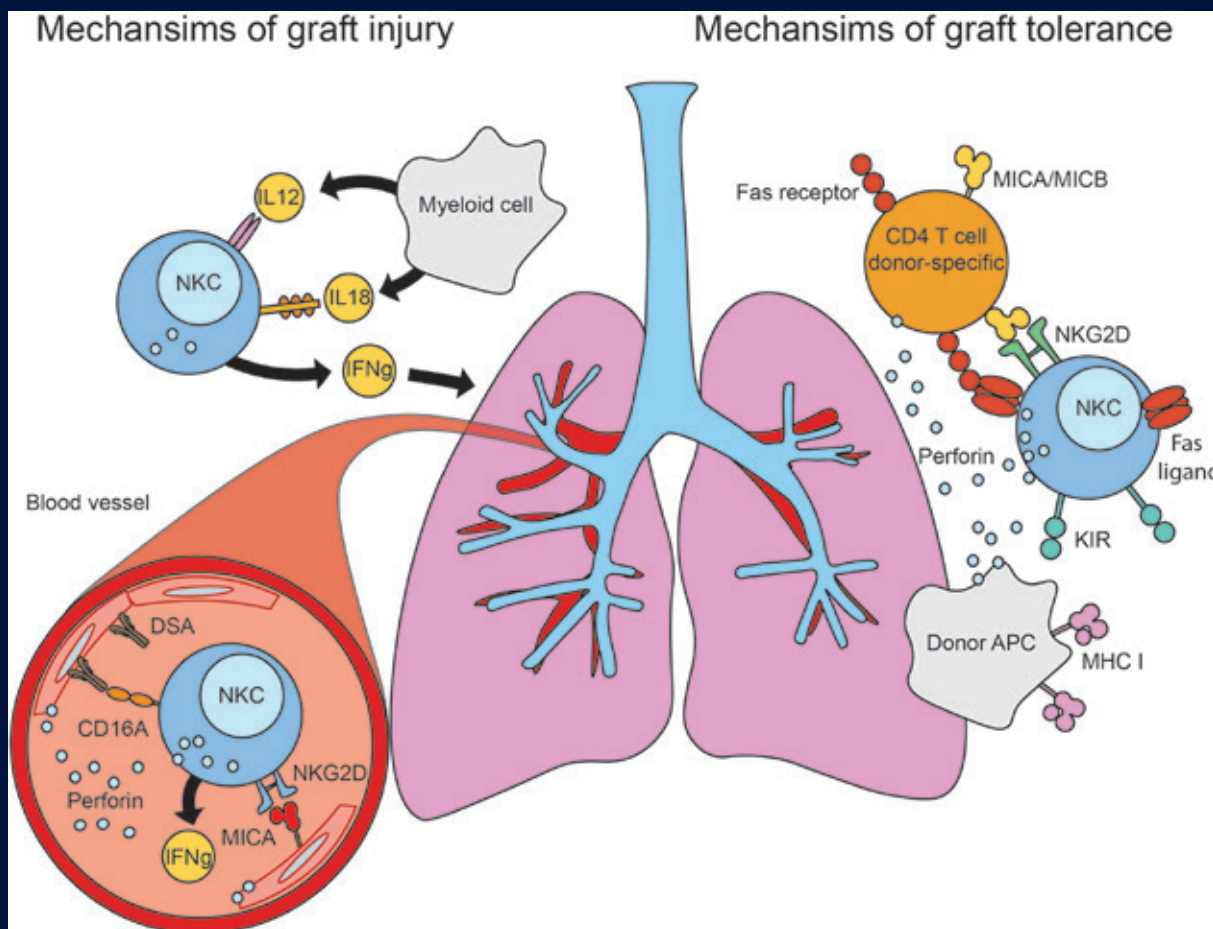
Thorax

ORIGINALITY, RIGOUR & EXCELLENCE IN RESPIRATORY MEDICINE

com artigos do

ARCHIVES OF
DISEASE IN
CHILDHOOD

Edição em Língua Portuguesa



thorax.bmj.com

adc.bmj.com



British
Thoracic
Society

★RCPCH

Royal College of
Paediatrics and Child Health
Leading the way in Children's Health

BMJ



PARECE
UMA SIMPLES
TOSSE.

Tempo médio
de vida:
3 Anos

NEM TUDO O QUE PARECE, É. **ESTEJA ATENTO.** A FIBROSE PULMONAR IDIOPÁTICA (FPI) ESCONDE-SE DA VISTA DE TODOS

A FPI é uma doença respiratória rara, crónica e progressiva.¹

O diagnóstico nem sempre é fácil e pode levar até 2 anos², já que os sintomas da FPI - como é o caso da dispneia, tosse e fadiga - se confundem com os de muitas outras doenças.¹

Contudo, pode ajudar-nos a prolongar a vida destes doentes. Se na auscultação pulmonar ouvir crepitações que se assemelham ao som de tiras de velcro a ser lentamente separadas¹, referencie o doente para um Pneumologista.

PARA MAIS INFORMAÇÕES, VÁ A:



lutarcontraafpi.pt

A APOIAR OS DOENTES COM
FIBROSE PULMONAR IDIOPÁTICA



Roche Farmacêutica Química, Lda.
Estrada Nacional 249-1, 2720-413 Amadora
Telf. +351 214 257 000 • Fax +351 214 186 677
Cont. N.º 500 233 810
www.roche.pt

1. Salvatore M et al. Is It Idiopathic Pulmonary Fibrosis or Not? J Am Board Fam Med. 2018 Jan-Feb; 31(1):151-162
2. Russel AM et al. BMC Pulm Med 2016. 16:10



Journal of the British Thoracic Society
Impact Factor: 9.655
Editors-in-Chief
N Hart (UK)
G Jenkins (UK)
AR Smyth (UK)
Deputy Editor
N Kaminski (USA)
Associate Editors
D Baldwin (UK) B Kampman (UK)
H Bogaard (UK) J-L Pepin (France)
(The Netherlands) M Polkey (UK)
R Chambers (UK) J Quint (UK)
T Coleman (UK) N Rahman (UK)
GJ Criner (USA) K Robinson (USA)
J Davies (UK) S Seglani (UK)
A Floto (UK) R Stevens (USA)
M Griffiths (UK) L Heaney (UK)
L Heaney (UK) C Wainwright (Australia)
N Hopkinson (UK) T Wilkinson (UK)
S Janes (UK) P Wolters (USA)
DL Jarvis (UK)
Statistical Editors
A Douiri (UK)
C Flach (UK)
C Jackson (UK)
S Stanojevic (USA)
Y Wang (UK)
Journal Club Editor
P Murphy (UK)
Multimedia Editor
R Moses (UK)
President, British Thoracic Society
Mark Elliott
Editorial Office
Thorax, BMJ Journals, BMA House,
Tavistock Square, London, WC1H 9JR, UK
T: **+44 (0)20 7383 6373**
E: **thorax@bmj.com**
Twitter: **@ThoraxBMJ**
ISSN: 0040-6376 (print)
ISSN: 1468-3296 (online)
Disclaimer: Thorax is owned and published by the British Thoracic Society and BMJ Publishing Group Ltd, a wholly owned subsidiary of the British Medical Association. The owners grant editorial freedom to the Editor of Thorax. Thorax follows guidelines on editorial independence produced by the World Association of Medical Editors and the code on good publication practice of the Committee on Publication Ethics. Thorax is intended for medical professionals and is provided without warranty, express or implied. Statements in the Journal are the responsibility of their authors and advertisers and not authors' institutions, the BMJ Publishing Group Ltd, the British Thoracic Society or the BMA unless otherwise specified or determined by law. Acceptance of advertising does not imply endorsement. To the fullest extent permitted by law, the BMJ Publishing Group Ltd shall not be liable for any loss, injury or damage resulting from the use of Thorax or any information in it whether based on contract, tort or otherwise. Readers are advised to verify any information they choose to rely on.
Copyright: © 2019 BMJ Publishing Group Ltd and the British Thoracic Society. All rights reserved; no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise without the prior permission of Thorax. Thorax is published by BMJ Publishing Group Ltd, typeset by Exeter Premedia Services Private Ltd, Chennai, India and printed in the UK on acid-free paper. Thorax (ISSN No: 0040-6376) is published monthly by BMJ Publishing Group and distributed in the USA by Air Business Ltd. Periodicals postage paid at Jamaica NY 11431. POSTMASTER: send address changes to Thorax, Air Business Ltd, c/o Worldnet Shipping Inc., 156-15, 146th Avenue, 2nd Floor, Jamaica, NY 11434, USA

Índice Volume 3 Número 2

Thorax com artigos do Archives of Disease in Childhood

março / abril 2019

Edição Portuguesa N.º 2 março / abril 2019 - Volume 3

53	Editorial	78	Fibrose quística
55	Destaques da Guideline	78	A microbiota da expetoração é preditiva de <i>outcomes</i> clínicos a longo prazo em adultos jovens com fibrose quística
55	<i>Guideline</i> da BTS para bronquiectasias em adultos atualizada em 2018: uma abordagem multidisciplinar para o cuidado integral	86	Investigação respiratória
57	Doença pulmonar intersticial	86	Estimativas de prevalência e fatores de risco para a presença de sibilos na primeira infância em toda a Europa: coorte de nascimentos do EuroPrevall
57	Análise da rede de correlação genética para identificar fatores reguladores na fibrose pulmonar idiopática		
64	Artigo original		
64	Hipoventilação desproporcional à gravidade da SAOS em crianças com síndrome de Prader-Willi		

68	Doença pulmonar obstrutiva crónica
68	Índices do volume pulmonar preditivos de morbilidade em fumadores com os valores de espirometria preservados



Thorax

com artigos do Archives of Disease in Childhood

Edição bimestral em língua portuguesa
Editada por:



Rua Bernardo Costa nº127, 1º Esquerdo
2775-809 Carcavelos
Contacto: 938311875
Email: geral@medjournal.pt
www.medjournal.pt
NIF: 510 542 719

General Manager
António Gonçalves

Diretores Médicos
Carlos Robalo Cordeiro
Jaime Correia de Sousa
Mário Morais de Almeida
Teresa Bandeira

Comissão Científica
Cristina Bárbara
Elisa Pedro
José Alves
Rui Costa
Teresa Bandeira
Venceslau Hespagnol

Tiragem: 2000 exemplares

Paginação e impressão
Edifício Ligação Visual
Quinta da Formiga
Casais de São Martinho - Jerumelo
2590-429 Sapatária

Periodicidade: 6 números anuais

Isenta de registo na E.R.C ao abrigo do decreto regulamentar 8/99 de 9/6, artigo 12º nº1-a.

Assinatura anual: 30 € - Avulso 7,5 €

A Medjournal não se responsabiliza pela opinião expressa dos autores.
Proibida a reprodução total ou parcial sob qualquer forma, sem autorização prévia do BMJ Publishing Group.



Editor in Chief
Nick Brown
Deputy Editors
Patrick Cartledge (Commissioning)
Ben Stenson (Fetal & Neonatal)
Ian Wacogne (Education & Practice)
Editorial Office
Archives of Disease in Childhood
BMJ Publishing Group Ltd
BMA House
Tavistock Square
London WC1H 9JR, UK
T: **+44 (0)20 7383 6909**
F: **+44 (0)20 7383 6668**
E: **info.adc@bmj.com**
Twitter: **@ADC_BMJ**
Production Editor
Malcolm Smith
E: **production.adc@bmj.com**
ISSN: 0003-9888 (print)
ISSN: 1468-2044 (online)
Impact factor: 3.258
Journal of the Royal College of Paediatrics and Child Health
Disclaimer: ADC is published by BMJ Publishing Group Ltd (a wholly owned subsidiary of the British Medical Association) and the Royal College of Paediatrics and Child Health. The owners grant editorial freedom to the Editor of ADC. ADC follows guidelines on editorial independence produced by the World Association of Medical Editors and the code on good publication practice of the Committee on Publication Ethics. ADC is intended for medical professionals and is provided without warranty, express or implied. Statements in the journal are the responsibility of their authors and advertisers and not authors' institutions, the BMJ Publishing Group Ltd, the Royal College of Paediatrics and Child Health or the BMA unless otherwise specified or determined by law. Acceptance of advertising does not imply endorsement. To the fullest extent permitted by law, the BMJ Publishing Group Ltd shall not be liable for any loss, injury or damage resulting from the use of ADC or any information in it whether based on contract, tort, or otherwise. Readers are advised to verify any information they choose to rely on.
Copyright © 2019 BMJ Publishing Group Ltd and Royal College of Paediatrics and Child Health. All rights reserved; no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise without prior permission. ADC is published by BMJ Publishing Group Ltd, typeset by Nova Techset Private Limited, Bengaluru & Chennai, India and printed in the UK on acid-free paper from sustainable forests. ADC (ISSN No: 0003-9888) is published monthly by BMJ Publishing Group Ltd and is distributed in the USA by Air Business Ltd. Periodicals postage paid at Jamaica NY 11431 and additional mailing offices. POSTMASTER: send address changes to Archives of Disease in Childhood, Air Business Ltd, c/o Worldnet Shipping Inc., 156-15, 146th Avenue, 2nd Floor, Jamaica, NY 11434, USA

Thorax

ORIGINALITY, RIGOUR AND EXCELLENCE
IN RESPIRATORY MEDICINE

Impact Factor: 9.655

Journal of the
British Thoracic Society

Editorial Board

H Aranibar (Chile)
R Beasley (New Zealand)
J Brown (UK)
J Celedon (USA)
T Fardon (UK)
P Gibson (Australia)
J Grigg (UK)
ML Han (USA)
F Holguin (USA)
I Janahi (Qatar)
A Jones (UK)
A Knox (UK)
F Maltais (Canada)
D Mannino (USA)
S Nathan (USA)
I Pavord (UK)
F Ratjen (Canada)
J Scullion (UK)
J Simpson (UK)
M Steiner (UK)
A Torres (Spain)
Z Udwadia (India)
D Warburton (USA)
M Whyte (UK)

President, British Thoracic Society

Mark Elliot

Publisher

Claire Rawlinson

Associate Publisher

Henry Spilberg

Guidelines for Authors and Reviewers

Full instructions are available online at <http://thorax.bmj.com/pages/authors/>. Articles must be submitted electronically <https://mc.manuscriptcentral.com/thorax>. Authors retain copyright but are required to grant *Thorax* an exclusive licence to publish <https://authors.bmj.com/policies/copyright-and-authors-rights/>

Aims and Scope: *Thorax* aims to cover all areas of respiratory medicine from paediatric to adults through publishing original papers, systematic reviews and meta-analyses, trial protocols, state of the art reviews, invited editorials, case-based discussions and images. The priorities are originality, rigour and excellence.

Editors-in-Chief

N Hart (UK)
G Jenkins (UK)
AR Smyth (UK)

Deputy Editor

N Kaminski (USA)

Associate Editors

D Baldwin (UK)
H Bogaard (The Netherlands)
R Chambers (UK)
T Coleman (UK)
GJ Criner (USA)
J Davies (UK)
A Floto (UK)
M Griffiths (UK)
L Heaney (UK)
N Hopkinson (UK)
S Janes (UK)
DL Jarvis (UK)
B Kampman (UK)
I Noth (USA)
B Mokhelesi (USA)

JL Pepin (France)
M Polkey (UK)
J Quint (UK)
N Rahman (UK)
K Robinson (USA)
S Seglani (UK)
R Stevens (USA)
C Wainwright (Australia)
T Wilkinson (UK)
P Wolters (USA)

Statistical Editors

A Douiri (UK)
C Flach (UK)
C Jackson (UK)
S Stanojevic (USA)
R Szczesniak (USA)
Y Wang (UK)

Journal Club Editor

P Murphy (UK)

Multimedia Editor

R Moses (UK)

Contact Details

Editorial Office

Thorax, BMJ Journals, BMA House, Tavistock Square, London, WC1H 9JR, UK
E: thorax@bmj.com
Twitter: @ThoraxBMJ

British Thoracic Society

17 Doughty Street, London WC1N 2PL, UK
T: +44 (0)20 7831 8778
E: bts@brit-thoracic.org.uk
W: <https://www.brit-thoracic.org.uk/>

Customer Support

For general queries and support with subscriptions:
T: +44 (0)20 7111 1105
E: support@bmj.com
W: <https://myaccount.bmj.com/myaccount/customerservice/support-home.html>

Self-archiving and permissions

E: bmj.permissions@bmj.com
W: bmj.com/company/products-services/rights-and-licensing/

Advertising

W: bmj.com/company/for-advertisers-and-sponsor/

Display Advertising ROW

Sophie Fitzsimmons
T: +44 (0)20 3655 5612
E: sfittsimmons@bmj.com

Online Advertising ROW

Marc Clifford
T: +44 (0)20 3655 5610
E: mclifford@bmj.com

Display & Online Advertising Sales Americas

American Medical Communications (AMC)
T: +1 973 214 4374
E: rgordon@americanmedicalcomm.com

Author Reprints

BMJ Reprints Team
E: admin.reprints@bmj.com

Commercial Reprints ROW

Nadia Gurney-Randall
M: +44 (0)7866 262344
E: ngurneyrandall@bmj.com

Commercial Reprints Americas

Ray Thibodeau
T: +1 267 895 1758
M: +1 215 933 8484
E: ray.thibodeau@contentednet.com

Production Editor

Amber Gunn
E: production.thorax@bmj.com

For all other journal contacts:

<https://thorax.bmj.com/pages/contact-us/>

Subscription Information

Thorax is published monthly (subscribers receive all supplements)

Institutional Rates 2019

Print
£790

Online

Site licences are priced on FTE basis and allow access by the whole institution. Details available online at <http://www.bmj.com/company/bmj-for-institutions/> or contact Subscription (see above right).

Personal Rates 2019

Print (includes online access at no additional cost)
£333

Online only

£182
ISSN 0040-6376 (print)
ISSN 1468-3296 (online)

Personal print or online only and institutional print subscriptions may be purchased online at <http://thorax.bmj.com/pages/subscribe/> (payment by (MasterCard/Visa only).

Residents of some EC countries must pay VAT; for details call us or visit <http://www.bmj.com/company/eu-vat-rates/>

Editorial

É com grande satisfação que trazemos aos leitores mais um número da tradução de artigos selecionados das Revistas Thorax e Archives of Disease of Childhood, dedicados aos Sócios das Sociedades Científicas de Pneumologia, Alergologia e Imunologia Clínica, Medicina Geral e Familiar e Pediatria. Neste número destacamos alguns artigos pela importância das suas conclusões e pelo potencial contributo para a mudança da prática clínica.

O primeiro realce vai para a publicação no Reino Unido das novas recomendações (*guideline*) da British Thoracic Society (BTS) para bronquiectasias em adultos. Este artigo fornece um resumo dos principais destaques das novas recomendações da BTS e aborda o que investigar, que exames devem ser realizados e a estratégia de tratamento. As bronquiectasias são cada vez mais comuns. Dados dos cuidados de saúde primários no RU confirmaram a comorbilidade em dois terços dos doentes, sendo a asma e a doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) as comorbilidades mais comuns.

O segundo destaque vai para o artigo “*Análise da rede de correlação genética para identificar fatores reguladores na fibrose pulmonar idiopática*”. Este estudo fornece uma nova visão sobre as vias biológicas na FPI e identifica várias vias que justificam mais investigação, incluindo disfunções na resposta imune e formação de vasos sanguíneos. Adicionalmente, a assinatura epitelial pode ser detetada no sangue e ser relacionada com a sobrevida.

O terceiro artigo que destacamos é “*Hipoventilação desproporcional à gravidade da SAOS em crianças com síndrome de Prader-Willi*”. O aumento da gravidade da SAOS em crianças com SPW é acompanhado por períodos de hipoventilação desproporcionalmente mais longos em comparação com crianças com desenvolvimento típico e frequência semelhante de eventos obstrutivos. Adicionalmente à oximetria e à capnometria anual recomendadas em doentes com SPW, os pediatras devem estar à alerta para manifestações clínicas que indicam a deterioração dos distúrbios respiratórios do sono.

O próximo destaque vai para o artigo “*Índices do volume pulmonar preditivos de morbilidade em fumadores com os valores de espirometria preservados*”. Este artigo apresenta uma análise retrospectiva dos registos eletrónicos de saúde dos Veterans Affairs dos EUA e mostrou que os volumes pulmonares anormais que representam retenção de ar são comuns em fumadores sem DPOC e estão associados a uma maior utilização dos cuidados de saúde, morte e declínio da função pulmonar. Porque vale a pena ler este artigo? Porque é extremamente importante compreender os preditores da morbilidade e da progressão da doença em fumadores sem DPOC para o seu prognóstico e intervenção precoce.

O destaque seguinte é para o artigo “*A microbiota da expetoração é preditiva de outcomes clínicos a longo prazo em adultos jovens com fibrose quística*”. O grupo de investigadores avaliou o risco de progressão para doença pulmonar terminal precoce e aceleração do declínio da função pulmonar numa coorte de adultos jovens com FQ, cujas amostras da expetoração tinham sido recolhidas 5 anos antes. Uma das conclusões é que, enquanto os patogénios de cultura tradicional não se correlacionavam com os “*outcomes*” subsequentes, uma comunidade microbiana de diversidade limitada, dominada por *Pseudomonas*, previu independentemente um prognóstico negativo. Este estudo sugere que a análise da comunidade microbiana pode servir como um novo biomarcador para identificar os indivíduos com FQ que têm maior risco de progressão da doença.

Por último, destaca-se o importante artigo “*Estimativas de prevalência e fatores de risco para a presença de sibilos na primeira infância em toda a Europa: coorte de nascimentos do EuroPrevall*”. A pergunta-chave foi como varia a prevalência de sibilos na primeira infância em toda a Europa e quais são os principais fatores de risco? A avaliação iniciou-se à nascença com o seguimento dos participantes aos 12 e 24 meses, utilizando questionários padronizados baseados nos utilizados em estudos epidemiológicos anteriores como o ISAAC. Os questionários foram realizados por telefone ou pessoalmente, por pessoal treinado. As avaliações adicionais, incluindo teste cutâneo, medição de IgE específica com ou sem TACPDO foram realizadas de acordo com um protocolo padronizado, sempre que os pais relataram sintomas sugestivos de alergia alimentar nas suas crianças. O estudo foi realizado em nove centros: Reiquiavique (Islândia), Southampton (Reino Unido), Amsterdão (Holanda), Berlim (Alemanha), Lodz (Polónia), Vilnius (Lituânia), Madrid (Espanha), Milão (Itália) e Atenas (Grécia). O estudo demonstrou que a prevalência de sibilos na primeira infância varia consideravelmente em toda a Europa e que as infeções do trato respiratório inferior, tabagismo materno pós-natal, frequência de creches e sexo masculino são fatores de risco importantes. Este é o primeiro estudo multicêntrico de coorte para comparar a prevalência e que fornece dados exclusivos sobre a prevalência e os fatores de risco para a sibilância na primeira infância em toda a Europa. Os autores concluem que são necessários mais estudos para identificá-los. Enquanto isto, a prevenção das infeções do trato respiratório e a minimização à exposição pós-natal ao fumo podem ajudar a reduzir a carga de sibilos na primeira infância.

A revista serve igualmente para levar ao conhecimento da comunidade científica a realização de reuniões e eventos científicos relevantes. Vem a propósito a informação sobre dois eventos científicos relevantes, ambos a decorrer em Lisboa no mês de Junho: o primeiro é o Congresso da EAACI de 2019 que terá lugar de 1 a 5 na FIL e na Altice Arena. O segundo evento a destacar são as Jornadas do GRESP que irão ocorrer igualmente em Lisboa de 7 a 8 no Centro de Congressos da Portugal Telecom.

Esperamos que a seleção seja do vosso agrado e desejamos uma boa leitura.

Jaime Correia de Sousa

Editor in Chief
Nick Brown

Deputy Editors
Patrick Cartledge
(Commissioning)
Ben Stenson (Fetal & Neonatal)
Ian Wacogne (Education & Practice)

Senior Editor
Martin Ward Platt

Drug Therapy Editor
Dan Hawcutt

Global Child Health Editor
Trevor Duke

Health Policy Editor
John Puntis

Images Editor
Mark Tighe

Quality Improvement Editor
Claire Lemer

Adolescent Health Editor
Dougal Hargreaves

Social Media and Archimedes Editor
Bob Phillips

Archivist, Lucina and Voices Editor
Robert Scott-Jupp

Associate Editors
Rachel Agbeko
Karel Allegaert
Diana Baralle
Martin Bellman
Lori Billingham
Frances Bu'lock
Tim Cheetham
Ronny Cheung
David Cottrell
Georgina Hall
Peter Hoyer
Fyezah Jehan
Stephanie Läer
Vic Larcher
Cynthia Mollen
D G Murdoch-Eaton
Colin Powell
A V Ramanan
Andrew Riordan
Helen Sammons
Robert Tasker
Paul Turner
Colin Wallis

Guidelines for Authors and Reviewers

Full instructions are available online at <https://adc.bmj.com/pages/authors/>. Articles must be submitted electronically <https://mc.manuscriptcentral.com/adc>. Authors retain copyright but are required to grant *ADC* an exclusive licence to publish (<https://adc.bmj.com/pages/authors/>)

Archives of Disease in Childhood focuses on all aspects of child health and disease from the perinatal period through adolescence

Statistical Editor
Tim Cole

Statistical Advisors
Emmanouil Bagkeris
Mario Cortina Borja
Sarah Donegan
Sara Godward
Katie Harron
Eirini Koutoumanou
Sarah Nevitt
Snehal Pinto Pereira
Deborah Ridout
Andrea Sherriff
Angie Wade

International Advisors
Zulfi A Bhutta
Leyla Namazova-Baranova

RCPCH Liaison
Anne Greenough Vice President
Science & Research

RCPCH
Royal College of Paediatrics and Child Health
Leading the way in Children's Health

NPPG
Neonatal & Paediatric Pharmacists Group

The Journal of the Royal College of Paediatrics and Child Health

ADC is the official journal of NPPG. NPPG members receive online access to *ADC* via the NPPG website.

ESDPPP
The European Society for Developmental, Perinatal and Paediatric Pharmacology

Don't wait to read the latest *ADC* articles

Most articles accepted for publication in *ADC* are published online well before they appear in a print issue

- Read the latest articles by following the Online First link at the top right of the homepage (adc.bmj.com)
- Sign up for an email alert to be notified when new content is added (adc.bmj.com/cgi/alerts/etoc)
- Comment on the articles in the *ADC* Blog (<http://blogs.bmj.com/adc/>)

Education & Practice Section Editors

Best practice
Ian Wacogne

Problem solving in clinical practice
Mark Anderson, Mark Tighe

Illuminations
Helen Williams

Dermatophile
Peter Lio

Interpretations
Sam Behjati, Thomas Waterfield

Learning and teaching
Debbie Murdoch-Eaton

Epilogue
Mark Tighe, Lisa Brown

Guidelines
Philippa Prentice, Emma Dyer

Picket
Giordano Perez-Gaxiola

Equipped and Equipment
Alice Roueche, Jane Runnacles

Public Health
Ronny Cheung

Research in Practice
Bob Phillips, John Apps

Medicines update
Emma McDonough

Contact Details

Editorial Office

Archives of Disease in Childhood
BMJ Publishing Group Ltd
BMA House, Tavistock Square
London, WC1H 9JR, UK
E: info.adc@bmj.com

Customer Support

For general queries and support with existing and new subscriptions:
T: +44 (0)20 7111 1105
<https://myaccount.bmj.com/myaccount/customerservice/support-home.html>

Self-archiving and Permissions

W: bmj.com/company/products-services/permissions-and-licensing/
E: bmj.permissions@bmj.com

Publisher

Christiane Notarmarco

Associate Publisher

Richard Sands

Publishing Executive

James Smallbone
E: jsmallbone@bmj.com

Senior Production Editor

Malcolm Smith
E: production.adc@bmj.com

Supplement enquiries

E: rsands@bmj.com

Subscriptions (except USA)

For all subscription enquiries and orders
T: +44 (0)20 7111 1105
<https://adc.bmj.com/pages/subscribe/>

Display Advertising Sales – Rest of World

Sophie Fitzsimmons
T: +44 (0)20 3655 5612
E: sfitzsimmons@bmj.com
<https://www.bmj.com/company/for-advertisers-and-sponsor/>

Online Advertising Sales

Marc Clifford
T: +44 (0)20 3655 5610
E: mclifford@bmj.com
<http://group.bmj.com/advertising/>

Display & Online Advertising Sales – North America

American Medical Communications (AMC)
T: +1 973 214 4374
E: rgordon@americanmedicalcomm.com

Author Reprints

BMJ Reprints Team
E: admin.reprints@bmj.com

Commercial Reprints – Rest of World

Nadia Gurney-Randall
T: +44 (0)20 8445 5825
M: 07866 262344
E: ngurneyrandall@bmj.com

Commercial Reprints – North America

Ray Thibodeau
T: +1 267 895 1758 (toll free in the USA)
T: +1 215 933 8484 (outside the USA)
E: ray.thibodeau@contentednet.com

Royal College of Paediatrics and Child Health

5–11 Theobalds Road
London WC1X 8SH
T: +44 (0)20 7092 6000
E: enquiries@rcpch.ac.uk
www.rcpch.ac.uk

For all other *Archives* journal contacts
<http://adc.bmj.com/site/help/index.xhtml>

Subscription information

Archives of Disease in Childhood is published monthly plus *Fetal & Neonatal* Edition bimonthly and *Education & Practice* Edition bimonthly (subscribers receive all editions and supplements)

Institutional rates 2019

Print
£986

Online

Site licences are priced on FTE basis and allow access by the whole institution. Print is available for online subscribers; details available online at <http://group.bmj.com/subscribe?adc> or contact the Subscription Manager in the UK (see above right)

Personal rates 2019

Print (includes online access at no additional cost)
£452

Online only

£203

ISSN 0003-9888 (print); 1468-2044 (online)

Personal print or online only and institutional print subscriptions may be purchased online at <https://adc.bmj.com/pages/subscribe/> (payment by Visa/Mastercard only)

Residents of some EC countries must pay VAT; for details, call us or visit support@bmj.com

Guideline da BTS para bronquiectasias em adultos atualizada em 2018: uma abordagem multidisciplinar para o cuidado integral

Adam T Hill,¹ Sally A Welham,² Anita L Sullivan,³ Michael R Loeblinger⁴

RESUMO

Foi publicada a nova *guideline* da British Thoracic Society (BTS) para bronquiectasias em adultos. Este artigo fornece um resumo dos principais destaques da nova *guideline* da BTS e aborda o que investigar, que exames devem ser realizados e a estratégia de tratamento.

INTRODUÇÃO

Internacionalmente, as bronquiectasias são cada vez mais comuns, atualmente com taxas de prevalência à volta de 5 para 1.000 de habitantes, na população do Reino Unido.¹ Os dados dos cuidados primários confirmaram a comorbilidade em dois terços dos doentes, sendo a asma e a doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) as comorbilidades mais comuns com 42% e 36%, respetivamente.¹ O sistema de pontuação internacional *Bronchiectasis Severity Index* foi desenvolvido para avaliar o prognóstico, com o aumento da mortalidade em doentes com bronquiectasias graves.²

A nova *guideline* da British Thoracic Society (BTS) para bronquiectasias em adultos abrange doentes adultos com bronquiectasias clinicamente significativas (não-fibrose quística), ou seja, doentes com a síndrome clínica de bronquiectasias com confirmação radiológica.³ Foi publicado separadamente um resumo completo de todas as recomendações e boas práticas.⁴

A nova *guideline* baseia-se na melhor evidência disponível e a metodologia utilizada respeita estritamente os critérios definidos pela colaboração AGREE II (Appraisal of Guidelines for Research and Evaluation).⁵ Disponibiliza uma atualização atempada da primeira *guideline* para bronquiectasias da BTS publicada em 2010.⁶ A *guideline* tem novas secções, incluindo um guia rápido, um plano de tratamento passo a passo, um plano de tratamento passo a passo para a fisioterapia, como tratar o doente em caso de agravamento e as recomendações para estudos de investigação disponibilizadas no formato PICO.

DIAGNÓSTICO E EXAMES

A investigação de bronquiectasias é recomendada em doentes com produção persistente de expectoração mucopurulenta ou purulenta, particularmente quando associada a fatores de risco relevantes. A DPOC é uma

comorbilidade comum das bronquiectasias e numa recente Revisão Nacional de Bronquiectasias realizada pela BTS, a DPOC esteve presente em cerca de 24% dos casos.⁷ As *guidelines* recomendam ter em atenção as bronquiectasias em doentes com DPOC com agudizações frequentes (duas ou mais por ano) e/ou culturas de expectoração positivas para microrganismos potencialmente patogénicos (incluindo *Pseudomonas aeruginosa*), quando estão estáveis.

Os exames para as bronquiectasias devem incluir uma radiografia torácica inicial, que é um exame de primeira linha útil para excluir outras patologias, e uma TAC ao tórax, por a radiografia torácica não ter sensibilidade e especificidade para o diagnóstico das bronquiectasias.

Como as comorbilidades e as condições associadas estão frequentemente presentes, devem ser registadas as comorbilidades e a história médica. Os exames recomendados para todos os doentes concentraram-se em etiologias que têm tratamentos específicos que alterariam o tratamento das bronquiectasias e incluem aspergilose broncopulmonar alérgica, imunodeficiência e anomalias ciliares. Para a investigação da aspergilose broncopulmonar alérgica devem ser realizados em todos os doentes o hemograma completo, medição da imunoglobulina sérica total (Ig e a IgE específica ou o teste *prick* para o *Aspergillus*). Devem ser medidas as IgG, IgA e IgM séricas para excluir a imunodeficiência e os níveis dos anticorpos específicos para os polissacarídeos capsulares da *Streptococcus pneumoniae* para investigar a deficiência de anticorpos específicos. Os doentes com baixos níveis de anticorpos antipneumocócicos devem ser imunizados com a vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente, e 4 a 8 semanas mais tarde deve ser realizada uma nova medição dos níveis dos anticorpos específicos. Se os níveis permanecerem abaixo do ideal, e no caso de ser necessária a substituição regular da terapia IgG subcutânea ou intravenosa recomenda-se a discussão da alteração com um imunologista.

Os testes da fibrose quística (FQ) devem ser realizados de acordo com o National Institute for Health and Care Excellence Guidelines para a FQ para os doentes que apresentem características clínicas⁸ suspeitas, assim devem ser investigados os doentes que apresentem características clínicas de discinesia ciliar primária (DCP).⁹ A medição do óxido nítrico nasal é um exame de primeira linha recomendado para a DCP.

MONITORIZAÇÃO

O grupo responsável pelas *guidelines* forneceu orientações atualizadas sobre as

recomendações de monitorização dos doentes com bronquiectasias moderadas e graves. Para as bronquiectasias moderadas, deve-se avaliar:

1. Inicialmente: pontuação da gravidade, de acordo com o *Bronchiectasis Severity Index*; TAC ao tórax; cultura bacteriana e micobacteriana da expectoração; avaliação da etiologia; avaliação das comorbilidades, espirometria inicial e medição dos níveis de saturação de oxigénio.

2. Anualmente: índice de massa corporal; avaliação das agudizações; cultura bacteriana da expectoração; índice de dispneia do *Medical Research Council* (MRC); espirometria; níveis de saturação de oxigénio.

3. Doente com agravamento: repetir a TAC ao tórax; cultura bacteriana e micobacteriana da expectoração; avaliação da etiologia; avaliação das comorbilidades.

Para as bronquiectasias graves, aplicam-se os mesmos procedimentos, com a exceção de que se devem realizar 6 avaliações mensais da história das agudizações, do índice de dispneia do MRC, dos níveis de saturação de oxigénio no ar ambiente e da cultura bacteriana da expectoração.

Não existem ensaios clínicos randomizados que comprovem a eficácia da *clearance* regular das vias aéreas, mas o grupo responsável pelas *guidelines* considera que este procedimento deveria ser o tratamento de primeira linha para todos os doentes. Todos os doentes devem consultar um fisioterapeuta respiratório de modo a aprenderem o ciclo ativo das técnicas respiratórias e considerar a drenagem postural assistida pela gravidade. A frequência da *clearance* das vias aéreas será aconselhada pelo fisioterapeuta, mas nos casos de doença mais avançada, será recomendada pelo menos duas vezes por dia, com sessões com uma duração entre 10 a 30 minutos no máximo. Deve ser realizada uma reavaliação ao fim de 3 meses. Se as recomendações acima expostas não forem efetivas ou se verificar-se uma baixa adesão, devem ser considerados os dispositivos de pressão positiva expiratória oscilatória e a técnica de expiração forçada. Também deve ser considerada a nebulização com solução salina isotónica (solução salina a 0,9%) ou hipertónica (3% ou mais).

As *guidelines* da BTS e da European Respiratory Society (ERS) não recomendam a utilização de nebulização com DNase, com base na forte evidência de que este tratamento conduz a resultados desfavoráveis.³

TRATAMENTO PASSO A PASSO

Um ponto de melhoria importante desta *guideline* foi o desenvolvimento de um plano de tratamento passo a passo (ver a figura 1). O primeiro passo considera cinco elementos-chave para todos os doentes: tratamento da causa subjacente, se identificada; realização de técnicas de *clearance* das vias aéreas; vacinação anual contra a gripe; um plano de autogestão (por exemplo, no *site* da BTS¹¹); e a utilização imediata de antibióticos apropriados para as agudizações, quando necessário. Os antibióticos são usados para tratar agudizações associadas a uma deterioração aguda do estado (geral-

¹Departamento de Medicina Respiratória, Royal Infirmary of Edinburgh, Edimburgo, Reino Unido

²British Thoracic Society, Londres, Reino Unido

³Departamento de Medicina Respiratória, Queen Elizabeth Hospital, Birmingham, Reino Unido

⁴Host Defence Unit, Divisão de Medicina Respiratória, Royal Brompton Hospital, Londres, Reino Unido

Correspondência para Professor Adam T Hill, Departamento de Medicina Respiratória, Royal Infirmary de Edimburgo, Edimburgo, Escócia EH16 4SA, Reino Unido; adam.hill318@nhs.net

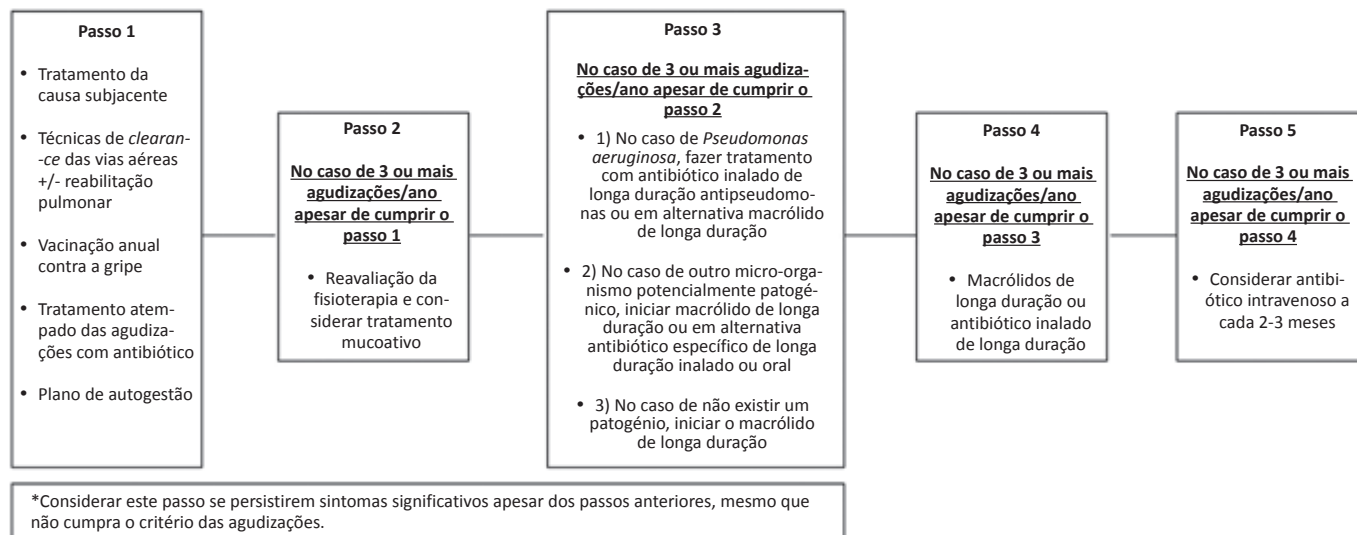


Figura 1 Tratamento passo a passo.

Os antibióticos são utilizados para o tratamento das agudizações quando associadas a uma deterioração aguda do estado (normalmente durante vários dias) com o agravamento dos sintomas locais (tosse, aumento do volume da expectoração ou alteração da viscosidade, aumento da purulência da expectoração com ou sem aumento dos sibilos, dispneia, hemoptise) e/ou mau estar geral.

Figura 1 Tratamento passo a passo.

mente ao longo de vários dias) com agravamento dos sintomas locais (tosse, aumento do volume da expectoração ou alteração da viscosidade, aumento da purulência da expectoração com ou sem aumento dos sibilos, dispneia, hemoptise) e/ou mau estar geral e deve ser administrado sem esperar pelos resultados da cultura da expectoração, por poder levar a um atraso no tratamento da agudização.

Se os doentes sofrem três ou mais agudizações por ano, apesar de implementadas as medidas acima listadas, devem ser reavaliados novamente pelo fisioterapeuta respiratório, já que, na prática, os doentes são pouco cumpridores com a *clearance* regular das vias aéreas. Nesta fase, podem ser considerados os tratamentos mucoativos.

Os passos 3 e 4 consideram a adição de um antibiótico de longa duração em monoterapia ou em associação (figura 1) ao tratamento dos doentes com três ou mais agudizações por ano, apesar da otimização, e dá orientações baseadas nos resultados bacteriológicos da expectoração.

Com base na evidência disponível e enquanto se aguarda novos ensaios de fase III, para as terapias com antibióticos inalados, o antibiótico antipseudomonas inalado recomendado em primeira linha é a colistina¹² e em segunda linha é a gentamicina inalada.¹³ Para os doentes que permanecem muito sintomáticos e com elevadas taxas de agudizações (> 5 por ano), pode considerar-se a terapia regular com antibióticos intravenosos a cada 2 a 3 meses.

Outra nova secção da *guideline* refere-se ao tratamento do doente em deterioração, definida como uma deterioração significativa e prolongada dos sintomas, aumento inesperado da frequência ou gravidade das agudizações, internamentos frequentes, recidivas precoces após o tratamento de uma agudização ou rápido declínio da função pulmonar. É sugerida uma abordagem ampla que inclui:

1. Avaliação: avaliação do entendimento do doente; exclusão de etiologias especifi-

cas (no doente em deterioração deve ser considerada a repetição dos exames em particular na FQ, aspergilose broncopulmonar alérgica, doença do refluxo gastroesofágico, imunodeficiência comum variável e doença inflamatória intestinal); avaliação da progressão da doença com TAC ao tórax, testes de função pulmonar e níveis de saturação de oxigénio; reavaliação dos patógenos na expectoração (bactérias, fungos e micobactérias) e considerar a expectoração induzida ou lavagem broncoalveolar; avaliação das comorbilidades (por exemplo, hipertensão pulmonar, sinusite, embolia pulmonar).

2. Otimização: reavaliação da *clearance* das vias aéreas pelo fisioterapeuta respiratório para avaliar a *compliance* do doente, o regime, a necessidade de reabilitação pulmonar e o tratamento mucoativo; reavaliação do tratamento das agudizações.
3. Tratamento: considerar a terapia com antibióticos endovenosos ou com antibióticos de longa duração e avaliar a oxigenoterapia de longa duração, ventilação não invasiva, cirurgia, transplante ou cuidados paliativos, conforme apropriado.

Recomenda-se o acompanhamento pelos cuidados secundários dos doentes com: *P. aeruginosa* crónica, colonização por *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina ou por micobactérias não tuberculosas; bronquiectasias em deterioração com declínio da função pulmonar; agudizações recorrentes (≥3 por ano); terapia com antibióticos de longa duração (oral, inalada ou nebulizada); associada a artrite reumatoide, imunodeficiência, doença inflamatória do intestino, DCP e aspergilose broncopulmonar alérgica; doença avançada e aos que esteja indicado o transplante.

As *guidelines* vêm enriquecer oportunamente a literatura e destacam áreas de revisão e para investigações futuras.

Colaboradores ATH liderou o desenvolvimento do artigo.

Todos os autores estiveram envolvidos na edição final e aprovaram o documento final.

Financiamento Os autores não declararam nenhuma subvenção específica para esta investigação por parte de nenhuma agência de financiamento nos setores público, comercial ou sem fins lucrativos.

Conflito de interesses Todos os autores preencheram o formulário anual de Declaração de Conflitos de Interesses de acordo com a política da BTS. A ATH declarou receber financiamento da Bayer Healthcare, Boehringer Ingelheim. A MRL declarou financiamento da Bayer Healthcare, da Insmad, Pulmocide, Griffiths, Polyphor, Savara.

Proveniência e revisão por pares Não comissionados; revisado internamente por pares.

© Autor(es) (ou seu(s) empregador(es)) 2019. Não é permitida a utilização com fins comerciais. Consultar direitos e autorizações. Publicado pelo BMJ.



Para citar Hill AT, Welham SA, Sullivan AL, et al. Thorax 2019;74:1-3.

Recebido a 9 de agosto de 2018

Revisão a 1 de novembro de 2018

Aceite a 5 de novembro de 2018



► <http://dx.doi.org/10.1136/thoraxjnl-2018-212463>

Thorax 2019;74:1-3.

doi:10.1136/thoraxjnl-2018-212468

REFERÊNCIAS

1. Quint JK, Millett ER, Joshi M, et al. Changes in the incidence, prevalence and mortality of bronchiectasis in the UK from 2004 to 2013: a population-based cohort study. Eur Respir J 2016;47:186-93.
2. Chalmers JD, Goeminne P, Aliberti S, et al. The bronchiectasis severity index. An international derivation and validation study. Am J Respir Crit Care Med 2014;189:576-85.
3. Hill AT, et al. BTS Guideline for bronchiectasis in adults. Thorax 2019;74:1-3.
4. Hill AT, et al. BTS Guideline for bronchiectasis in adults summary of recommendations. BMJ Open Respiratory Research. 2018.
5. AGREE II. <https://www.agreetrust.org/agree-ii/>
6. Paster MC, Bilton D, Hill AT. British Thoracic Society guideline for non-CF bronchiectasis. Thorax 2010;65(Suppl 1):i1-58.
7. Hill AT. British thoracic society national audit report: Adult and paediatric bronchiectasis audits. 2017. <https://www.brit-thoracic.org.uk/document-library/audit-and-quality-improvement/audit-reports/bt-bronchiectasis-audits-combined-report-2017/>
8. NICE Guideline Cystic Fibrosis: diagnosis and management. 2017. NG78.
9. Lucas JS, Barbato A, Samuel A, et al. European respiratory society guidelines for the diagnosis of primary ciliary dyskinesia. European Respiratory Journal 2016;42(Issue 2).
10. Polverino E, Goeminne PC, McDonnell MJ, et al. European Respiratory Society guidelines for the management of adult bronchiectasis. Eur Respir J 2017;50:1700629.
11. BTS Quality Standards for clinical significant bronchiectasis in adults Appendix 1, Self Management Plan. 2012. <https://www.brit-thoracic.org.uk/standards-of-care/quality-standards/bts-bronchiectasisquality-standards/>
12. Haworth CS, Poweraker JE, Wilkinson P, et al. Inhaled colistin in patients with bronchiectasis and chronic Pseudomonas aeruginosa infection. Am J Respir Crit Care Med 2014;189:975-82.
13. Murray MP, Govan JR, Doherty CJ, et al. A randomized controlled trial of nebulized gentamicin in non-cystic fibrosis bronchiectasis. Am J Respir Crit Care Med 2011;183:491-9.

Análise da rede de correlação genética para identificar fatores reguladores na fibrose pulmonar idiopática

John E McDonough,¹ Naftali Kaminski,² Bernard Thienpont,³ James C Hogg,⁴

Bart M Vanaudenaerde,¹ Wim A Wuyts¹

► Material adicional publicado exclusivamente *online*. Para consultar, por favor visite o jornal *online* (<http://dx.doi.org/10.1136/thoraxjnl-2018-211929>).

¹Laboratório de Doenças Respiratórias, Departamento de Doenças Crônicas, Metabolismo e Envelhecimento, KU Leuven, Leuven, Bélgica

²Seção de Pneumologia, Cuidados Intensivos e Medicina do Sono, Universidade de Yale, New Haven, Connecticut, EUA

³Laboratório de Epigenética Funcional, Departamento de Genética Humana, KU Leuven, Leuven, Bélgica

⁴Centro de Inovação do Coração Pulmão, Hospital St. Paul, Universidade da Colúmbia Britânica, Vancouver, Colúmbia Britânica, Canadá

Correspondência para

Dr. John E McDonough, Laboratório de Doenças Respiratórias, Departamento de Doenças Crônicas, Metabolismo e Envelhecimento, KU Leuven, Leuven B-3000, Bélgica; john.mcdonough@kuleuven.be

Recebido a 12 de abril de 2018
Revisto a 21 de setembro de 2018

Aceite a 24 de setembro de 2018
Publicado inicialmente online a 26 de outubro de 2018
Publicado primeiro *online* a 15 de dezembro de 2017

© Autor(es) (ou seu(s) empregador(es)) 2019. É permitida a reutilização de acordo com CC BY-NC. Não é permitida a reutilização comercial. Consultar direitos e permissões. Publicado pelo BMJ.



Para citar: McDonough JE, Kaminski N, Thienpont B, et al. Thorax 2019;74:132–140.

RESUMO

Enquadramento A fibrose pulmonar idiopática (FPI) é uma doença pulmonar grave caracterizada por extensas alterações patológicas. O objetivo deste estudo foi identificar a rede genética e reguladores subjacentes à patologia da doença na FPI e a sua relação com a função pulmonar.

Métodos O conjunto de dados do Lung Tissue Research Consortium que incluíam 262 doentes com FPI e dos indivíduos de controlo (GSE47460) foi aleatoriamente dividido em dois grupos não sobrepostos para análise da expressão diferencial genética com validação cruzada. O consenso da análise ponderada da rede de coexpressão genética identificou sobreposições dos módulos de coexpressão genética em ambos os grupos FPI. Os módulos foram correlacionados com a função pulmonar (capacidade de difusão, DLCO; volume expiratório forçado num 1s, FEV₁; capacidade vital forçada, FVC) e com análises de enriquecimento utilizadas para identificar a função biológica e os fatores de transcrição. A correlação do módulo com os dados de miARN (GSE72967) identificou reguladores associados. A relevância clínica na FPI foi avaliada num conjunto de dados de expressão genética do sangue periférico (GSE93606) para identificar os módulos relacionados com a sobrevida.

Resultados A análise da rede de correlação identificou 16 módulos na FPI. Os módulos regulados positivamente foram associados com os cílios, replicação e reparação do ADN, fibras contráteis, resposta das células B e das proteínas desdobradas, e matriz extracelular. Os módulos regulados negativamente estavam associados com os vasos sanguíneos, respostas das células T e do interferon, ativação e desgranulação dos leucócitos, metabolismo do surfactante e processos metabólicos e catabólicos celulares. A função pulmonar está correlacionada com nove módulos (oito com a DLCO, cinco com o FVC). A rede intermodular dos fatores de transcrição e o miARN apresentaram aglomerados de fibrose, resposta imune e módulos contráteis. O módulo associado aos cílios foi capaz de prever a sobrevida ($p = 0,0097$) numa coorte independente de FPI de sangue periférico.

Conclusões Identificamos na FPI uma rede de expressão de correlação genética com reguladores associados que fornece uma nova visão sobre o processo patológico desta doença.

ENQUADRAMENTO

A fibrose pulmonar idiopática (FPI) é uma doença pulmonar grave e complexa, caracterizada pela destruição fibrosa do parênquima e presença de pneumonia intersticial comum, com alterações tipo “favo de mel” nas regiões basal e periférica do pulmão. Embora a fibrose seja a principal característica desta doença e tenha sido extensivamente investigada em estudos transcriptômicos e histológicos, outras vias associadas à FPI não foram bem caracterizadas.

Vários estudos sobre a FPI utilizaram análises de transcriptoma que forneceram informações importantes sobre a doença.^{1–3} Os métodos usados nesses estudos geralmente têm sido testar genes individualmente, enquanto *in vivo*, os genes funcionam via redes de genes coexpressos com função biológica similar. A nossa hipótese é que a identificação destes padrões de coexpressão forneceria uma visão adicional das vias biológicas associadas à doença.

O presente estudo teve como objetivo aplicar a análise ponderada das redes de coexpressão genética

Mensagens-chave

Qual é a pergunta-chave?

► Embora as vias relacionadas com a fibrose tenham sido associadas e estudadas em profundidade na fibrose pulmonar idiopática (FPI), outras vias, em particular que envolvem a resposta imune ou o padrão em “favo de mel”, não foram bem identificadas ou caracterizadas nos estudos genéticos.

Que conclusão foi alcançada?

► As vias identificadas através da análise da rede de coexpressão genética foram capazes de determinar uma estrutura reguladora para a FPI e associação com a sobrevida.

Porque vale a pena ler este artigo?

► Este estudo fornece uma nova visão sobre as vias biológicas na FPI e identificou várias vias que justificam novas pesquisas, incluindo disfunções na resposta imune e formação de vasos sanguíneos. Adicionalmente, a assinatura epitelial pode ser detetada no sangue e ser relacionada com a sobrevida.

(WGCNA),⁴ uma abordagem de sistemas biológicos para identificar interações genéticas nos conjuntos de dados transcriptômicos, em genes diferencialmente expressos na FPI gerados anteriormente (GSE47460)^{5–7} e armazenados na expressão genética Omnibus (GEO). Estes dados foram derivados de tecido pulmonar obtido através do National Institute of Health - National Heart, Lung and Blood Institute (NIH-NHLBI), financiado pelo Lung Tissue Research Consortium (LTRC) e que consiste em amostras de doentes com FPI e de controlos que foram submetidos a ressecção pulmonar ou transplante. A função pulmonar foi correlacionada com os módulos genéticos e com as análises de enriquecimento utilizadas para determinar a função biológica, como tem sido relatado em vários estudos sobre doenças pulmonares.^{8–10}

Foi utilizada a codificação de enriquecimento com o ChIP-seq para determinar os fatores de transcrição associados a cada módulo e a expressão de miARN (conjunto de dados de LTRC GSE72967) foi correlacionada com cada módulo. Finalmente, a relevância clínica dessas vias foi determinada através de um conjunto de dados de ARN de do sangue periférico da FPI (GSE93606) para identificar os módulos relacionados com a sobrevida.

MÉTODOS

População do estudo

Todos os dados foram obtidos a partir dos conjuntos de dados GEO GSE47460, GSE72967 e GSE93606

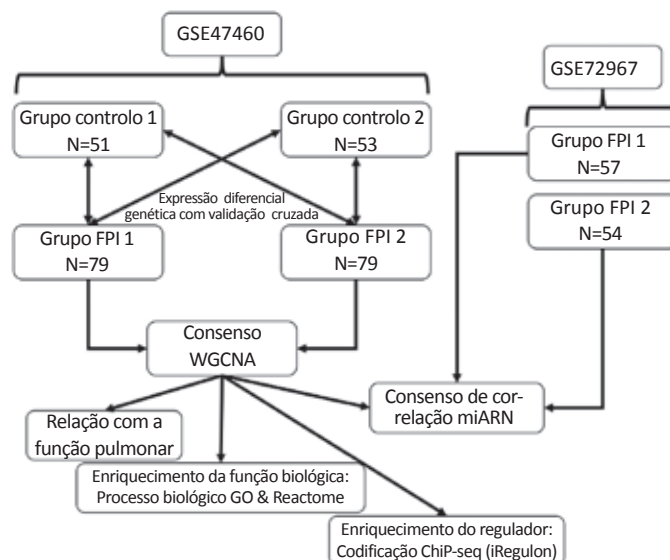


Figura 1 Fluxograma das metodologias utilizadas neste estudo. GSE47460 foi dividido em dois conjuntos de dados não sobrepostos para análise de expressão diferencial genética com validação cruzada. De seguida foi aplicado um consenso WGCNA nos dois grupos FPI usando como entrada os genes expressos diferencialmente. Os módulos identificados foram então analisados por associação com a função pulmonar e análises de enriquecimento para a função biológica e reguladores do fator de transcrição. As amostras do GSE72967 foram combinadas com os grupos FPI e correlacionadas com o módulo eigengene para determinar a sua associação. GO, ontologia genética; FPI, fibrose pulmonar idiopática; WGCNA, análise ponderada de rede de coexpressão genética.

(www.ncbi.nlm.nih.gov/geo). As amostras de tecido pulmonar foram compostas por 268 doentes submetidos à cirurgia torácica. As amostras de FPI (n = 160) foram provenientes de doentes com doença pulmonar intersticial (DPI) diagnosticada com a FPI através da história clínica, TAC e patologia cirúrgica. As amostras de controlo (n = 108) foram provenientes de doentes que foram submetidos a cirurgia devido a suspeita de nódulo pulmonar, mas que não tinham diagnóstico de doença pulmonar crônica através de TAC ou patologia. As amostras de sangue incluíram uma coorte independente de 57 doentes com FPI com seguimento até o transplante /morte ou declínio da capacidade vital forçada (FVC) > 10% num período de 6 meses. Os dados demográficos disponíveis incluíram idade, sexo, hábitos tabágicos e função pulmonar (% do previsto da capacidade de difusão para monóxido de carbono (DL_{CO}), % do previsto do volume expiratório forçado num 1s (FEV₁) e % do previsto da capacidade vital forçada (FVC).

A FPI e as amostras de tecido do pulmão de controlo foram divididas aleatoriamente em dois grupos não sobrepostos (grupo FPI 1, grupo FPI 2, grupo de controlo 1 e grupo de controlo 2) para análise de dados com validação cruzada. O esquema geral dos métodos usados neste estudo é apresentado na figura 1.

Análise da expressão genética diferencial

Os dados do microensaio foram normalizados utilizando a abordagem cíclica de *loess* como previamente descrito¹¹ com o maior sinal médio da sonda selecionado por gene. Estavam disponíveis para análise, no arquivo matricial *online*, um total de 15 180 genes por amostra. Foi utilizado o agrupamento hierárquico de amostras para identificar *outliers* em cada grupo (figura suplementar *online* S1). Os genes diferencialmente expressos foram determinados através da comparação de cada grupo FPI com ambos os grupos de controlo usando um modelo linear multivariado controlado para idade, sexo e hábitos tabágicos. Os dados foram corrigidos para comparações múltiplas através do ajuste da taxa de falsas descobertas (FDR do inglês *false discovery rate*) e os genes com valores de p ajustados para a FDR <0,05 nas quatro comparações foram considerados diferencialmente expressos. A análise dos componentes principais dos genes diferencialmente expressos foi realizada para mostrar a existência de grupos de amostras de doença e de controlo.

Análise ponderada da rede de coexpressão genética

O consenso WGCNA foi conduzido usando o R/Bioconductor para determinar os genes coexpressos entre os dois grupos FPI usando apenas genes expressos diferencialmente. A configuração da análise incluiu a correlação média uniforme (corType = 'bicor') para considerar os *outliers*, sinal de correlações entre vizinhos (TOMtype e networkType = 'signed') e um parâmetro de deteção do módulo com

maior sensibilidade (deepSplit = 3). Os módulos foram identificados por um número de acordo com o tamanho do módulo. A classificação dos módulos foi aplicada aos dados de controlo e mostrou uma boa preservação dos agrupamentos baseados nas estatísticas de preservação dos módulos. O módulo eigengene (ME) foi calculado como sendo o primeiro componente principal da expressão genética para o módulo e a inter-relação de cada módulo pelo agrupamento de redes eigengene (figura suplementar *online* S2). A sobre ou sub-regulação de cada módulo foi determinada pela variação da dobra de cada gene, calculada como expressão genética média da FPI dividida pela expressão genética média do controlo.

Os MEs foram comparados com os dados demográficos usando a correlação de Spearman corrigida para sexo, idade e hábitos tabágicos e os valores de p foram ajustados para comparações múltiplas pela FDR. Os módulos de consenso foram definidos como módulos significativamente correlacionados com a função pulmonar em ambos os grupos FPI e na mesma direção (correlação positiva ou negativa). Os MEs de controlo foram correlacionados os dados da função pulmonar, de acordo com os outros conjuntos de dados. A associação ao módulo, uma medida da associação de um gene ao seu módulo, foi determinada pela correlação de Pearson da expressão genética para o ME e usada para classificar a conectividade do módulo.

Análise do enriquecimento para a função biológica e fatores de transcrição

A função biológica do módulo foi determinada utilizando o gProfiler¹² para determinar o enriquecimento para as vias de Processo Biológico de ontologia genética (GO) e as vias Reactome seguida do mapeamento do enriquecimento em Cytoscape (V.3.5.1) para definir cada grupo funcional. O enriquecimento dos tipos de células foi determinado por Enrichr através da biblioteca Human Gene Atlas.¹³

Os fatores de transcrição para cada módulo foram identificados pelo iRegulon V.1.3 plugin no Cytoscape com um Minimum Normalized Enrichment Score (NES) de 4,014 utilizando dados de 1120 registos ChIP-seq da base de dados Encode. No quadro suplementar *online* S1, apresentamos o número de genes regulados por cada fator de transcrição identificado dentro de cada módulo. A rede reguladora dos módulos e fatores de transcrição foi registada no Cytoscape para identificar reguladores comuns compartilhados entre os módulos.

Análise da correlação do miARN

Os indivíduos do GSE47460 e do GSE72967 foram utilizados para determinar a associação do microARN (miARN). Foram emparelhados um total de 111 indivíduos, 57 no grupo FPI 1 e 54 no grupo FPI 2. Os MEs foram correlacionados com os 338 miARNs do con-

Quadro 1 Dados demográficos para todos os indivíduos incluídos neste estudo

	Controlo (tecido)		FPI (tecido)		FPI (sangue)
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 1	Grupo 2	-
N	51	53	79	79	57
Idade (anos)	64,5±10,5	64,0±11,4	65,1±8,0	63,4±8,6	67,4±8,0
Sexo (%)					
Feminino	29 (57)	26 (49)	23 (29)	26 (33)	19 (33)
Masculino	22 (43)	27 (51)	56 (71)	53 (67)	38 (67)
Hábitos tabágicos (%)					
Nunca	12 (24)	17 (32)	26 (33)	32 (41)	-
Ex-fumador	32 (63)	31 (58)	49 (62)	45 (57)	-
Fumador atual	2 (4)	0 (0)	0 (0)	2 (3)	-
DL _{CO} (% previsto)	80,8±14,4	87,4±18,6	48,5±16,6	46,9±19,0	39,2±14,1
FEV ₁ (% previsto)	92,6±10,6	97,7±14,1	70,8±17,9	71,2±18,4	-
FVC (% previsto)	92,6±11,4	96,2±14,9	63,5±16,5	64,8±17,1	72,2±20,3

Os dados são apresentados como média ± DP.

FEV₁, volume expiratório forçado num segundo; FVC, capacidade vital forçada; FPI, fibrose pulmonar idiopática.

junto de dados utilizados na correlação de Pearson ajustados por FDR para comparações múltiplas. Os valores de $p < 0,005$ ajustados em ambos os grupos foram considerados significativos. Os genes alvo associados aos miARNs para cada um destes módulos foram identificados utilizando o conjunto de dados alvo validado (miR-TarBase) da base de dados multi-miR (<http://multimir.ucdenver.edu/>) e listados no quadro suplementar *online* S2.¹⁵

Validação dos conjuntos de dados

A validação de genes diferencialmente expressos na FPI foi realizada em dois conjuntos de dados provenientes de tecidos pulmonares independentes (GSE53845, GSE110147). Os genes diferencialmente expressos também foram utilizados para mostrar a separação das amostras de FPI das amostras controlo e de outras doenças pulmonares, incluindo doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC), pneumonite por hipersensibilidade, pneumonia intersticial não específica e bronquiolite respiratória, que compuseram o conjunto completo de dados LRTC.

Análise da sobrevida

A relevância clínica de cada módulo foi determinada utilizando amostras de sangue periférico de doentes com FPI no momento do diagnóstico com dados disponíveis da expressão do gene de ARN e de sobrevida (GSE93606). Os genes correspondentes a cada módulo foram utilizados para agrupar os doentes em dois grupos utilizando a incorporação de gráficos invertidos (DDRTree), um algoritmo de redução de dados de aprendizagem de estruturas de gráficos adequado para ordenar dados transcriptômicos através de mudanças progressivas¹⁶ e agrupamento k-means. Para determinar os módulos relacionados com a sobrevida foi utilizado um modelo univariado de riscos proporcionais de Cox com correção de Bonferroni para comparações múltiplas. O modelo de riscos proporcionais de Cox multivariado, incluindo FVC, idade e sexo, foi então aplicado aos módulos significativos para determinar os efeitos das variáveis de confusão na previsão de sobrevida do módulo.

RESULTADOS

Dados demográficos

As amostras de tecido de FPI e dos controlos foram divididas em dois grupos para análise com validação cruzada. Após a remoção dos *outliers*, permaneceram em cada grupo de controlo 51 e 53 amostras e permaneceram 79 amostras em ambos os grupos de FPI. A idade e o sexo foram emparelhados em todos os grupos, a função pulmonar também foi combinada em ambos os grupos FPI. Os dados demográficos sobre estes indivíduos são apresentados no quadro 1.

Análise da expressão genética diferencial

A comparação com validação cruzada dos grupos FPI e dos controlos identificou 6425 genes expressos diferencialmente na FPI (figura 2A). A análise dos componentes principais destes genes mostrou a sobreposição de amostras dentro dos grupos FPI ou dos controlos e boa separação entre FPI e controlo (figura 2B). Os genes diferencialmente expressos também foram utilizados para traçar a separação entre as amostras dos controlos e da FPI em dois conjuntos de dados independentes, bem como o conjunto completo de

dados LTRC para mostrar a separação da FPI de outros fenótipos de doença, como DPOC (figura complementar *online* S3).

Identificação do módulo WGCNA

O consenso WGCNA identificou 16 módulos na coorte da FPI, 6 módulos foram regulados positivamente na FPI e 10 foram regulados negativamente (figura 2C). Os cinco genes mais ligados para cada módulo são apresentados no quadro 2.

A função pulmonar correlacionada com os nove módulos em ambos os grupos FPI. A DL_{CO} foi correlacionada negativamente com ME3, ME4, ME5 e ME14 e correlacionada positivamente com ME2, ME10, ME13 e ME16. A FVC correlacionou-se negativamente com ME4, ME5 e ME9 e correlacionou-se positivamente com ME10 e ME16. Nenhuma correlação significativa estava presente nas amostras de controlo. O mapa de calor dos módulos correlacionados é apresentado na figura 3 (as comparações completas entre o módulo e as características estão disponíveis nas figuras suplementares *online* S4-S7).

Função biológica do módulo

Os módulos foram agrupados por vias de enriquecimento em várias categorias: resposta imunológica (ME5, ME7, ME9, ME11, ME12); matriz extracelular ou fibras contráteis (ME3, ME6, ME13, ME14); vias de desenvolvimento de estruturas pulmonares específicas (ME1, ME2); divisão celular, replicação de ADN e reparação de ADN (ME4); processos metabólicos e catabólicos celulares (ME8, ME15, ME16) e metabolismo do surfactante (ME10). O enriquecimento da função biológica para estas categorias é apresentado no quadro 3 e os módulos principais encontram-se resumidos abaixo. Confirmamos a validade da identificação da via GO dos módulos por localização dos genes mais ligados de cada módulo a um grupo específico de células que correspondem à sua respetiva via GO usando um conjunto de dados de um única célula de tecido pulmonar que geramos anteriormente¹⁷ (figura suplementar *online* S8).

Resposta imunitária

Os módulos relacionados com a resposta imunitária exibiram vias inflamatórias específicas e tipos celulares do atlas dos genes. Os módulos regulados negativamente incluem ME7, ME12 e ME11. O ME7 foi enriquecido para a ativação de leucócitos (GO:0045321, $p = 2,55 \times 10^{-10}$), desgranulação (GO:0043299, $p = 4,75 \times 10^{-8}$) e CD14 + monócitos ($p = 7,96 \times 10^{-11}$) e CD33 + células mielóides ($p = 6,08 \times 10^{-7}$). O ME12 foi enriquecido para a ativação de leucócitos mielóides (GO:0002274, $p = 8,31 \times 10^{-4}$) e desgranulação de leucócitos (GO:0043299, $p = 0,00171$), mas não foi associado a um tipo de célula específica pelo atlas genético. O ME11 foi relacionado com a ativação de células T (GO:0042110, $p = 2,53 \times 10^{-8}$), sinalização de interferon (REAC:913531, $p = 1,38 \times 10^{-15}$), resposta a vírus (GO:0009615, $p = 9,0 \times 10^{-9}$) e processamento e apresentação de antígenos mediados por CHP Classe I (REAC:983169, $p = 2,34 \times 10^{-5}$), sugestivos de um fenótipo antiviral mediado por células T. O atlas de genes humanos mostrou enriquecimento para células CD56 + células Natural Killer ($p = 7,32 \times 10^{-18}$), CD8 + células T ($p = 2,5 \times 10^{-8}$) e CD4 + células T ($p = 4,32 \times 10^{-6}$).

O ME9 foi regulado negativamente na FPI, mas foi o único módulo que mostrou uma tendência inversa em relação à função

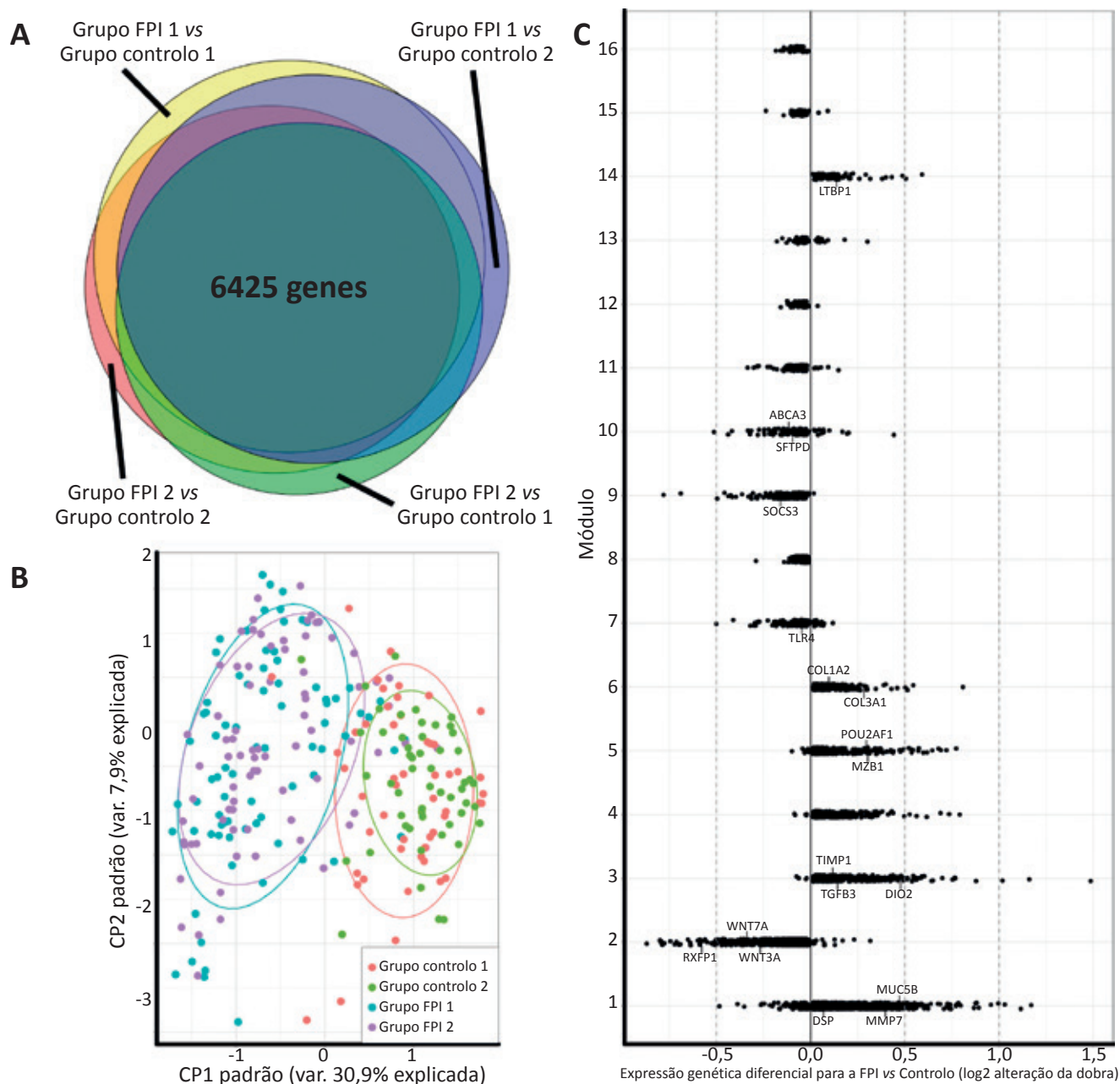


Figura 2 (A) Diagrama de Euler do número de genes diferencialmente expressos identificados como significativos (FDR ajustada $p < 0,05$) para as comparações com validação cruzadas. De 15180 genes, 10237 foram identificados como significativos em pelo menos uma comparação e 6425 genes foram significativos em todas as quatro comparações. (B) Parcela dos componentes principais dos 6425 genes mostrando sobreposição entre as amostras em cada um dos grupos FPI ou controle e separação entre doença e controle. (C) Gráfico da alteração da dobra dos genes em cada módulo para determinar a regulação positiva ou negativa do módulo. Os genes marcados são os que demonstraram ter uma associação conhecida com a FPI ou com a função biológica desse módulo. FPI, fibrose pulmonar idiopática.

pulmonar, com o aumento do ME9 associado a um declínio na FVC. Foi enriquecido para resposta a bactérias (GO:0009617, $p = 5,52 \times 10^{-7}$), processo de apoptose (GO:0006915, $p = 7,2 \times 10^{-6}$), regulação da expressão genética (GO:0010468, $p = 8,75 \times 10^{-6}$) e o CD33 + células do tipo mielóide ($p = 2,46 \times 10^{-9}$).

O único módulo de resposta imunitária que aumentou na doença e se correlacionou negativamente com os valores da função pulmonar DLCO e FVC foi o ME5, que foi associado à ativação das células B (GO:0042113, $p = 3,95 \times 10^{-5}$) e à via de resposta da proteína desdobrada (REAC:381119, $p = 2,64 \times 10^{-6}$). O atlas genético identificou este módulo como enriquecido para CD19 + células B ($p = 5,95 \times 10^{-5}$) e incluiu genes associados ao desenvolvimento das células B em centros germinais e células plasmáticas como POU2AF1 e MZB1.

Resposta fibrótica

A via de organização da matriz extracelular foi enriquecida no ME3 (REAC:1474244, $p = 5,11 \times 10^{-11}$) e no ME6 (REAC:1474244, $p = 3,34 \times 10^{-7}$). O ME6 foi composto pelos marcadores de colagénio COL1A2 e COL3A1, enquanto o ME3 incluiu COL14A1, COL15A1 e TGFB3. Enquanto ambos os módulos foram regulados positivamente na FPI, apenas o ME3 foi negativamente correlacionado com o declínio da

DL_{CO}. O ME14 foi intimamente associado aos módulos ECM por agrupamento eigengene, e associado com a contração muscular (REAC:397014, $p = 4,56 \times 10^{-8}$) e à alfa-actina do músculo liso. A combinação das fibras contráteis e da matriz extracelular sugere que estes módulos estão relacionados a uma assinatura de miofibroblastos.

Resposta de desenvolvimento

O ME2 associado ao desenvolvimento da vasculatura (GO:0001944, $p = 5,39 \times 10^{-15}$) e às vias de biossíntese do colesterol (REAC:191273, $p = 0,00701$). Este módulo foi regulado negativamente na FPI e correlacionado positivamente com a DL_{CO}. Foi identificado um grande número de genes para este módulo, incluindo o DISP1, necessário para a sinalização hedgehog eficaz, que é uma via importante na angiogénese¹⁸ e CAV1, que regula a angiogénese estimulada por VEGF.¹⁹ Este módulo também incluiu os genes WNT, WNT3A e WNT7A.

O ME1 foi regulado positivamente na FPI e esteve fortemente associado à organização dos cílios (GO:0044782, $p = 9,88 \times 10^{-43}$). Os cílios nos pulmões estão presentes principalmente nas células epiteliais bronquiais ciliadas, sugerindo que este módulo pode estar relacionado com a patologia das vias aéreas, incluindo o desenvolvimento de estruturas bronquiolares em cistos “favos de mel”.²⁰ Curiosamente,

Quadro 2 Lista dos cinco principais genes por ligação dentro de cada módulo

Módulo	Cinco principais genes ligados				
ME1	DNAJA4	SPA17	SPATA18	RBKS	C11orf70
ME2	NDRG4	KIAA1462	EPAS1	CCDC85A	MYZAP
ME3	IGF1	COL14A1	STEAP1	COL15A1	CTHRC1
ME4	CDC45	MELK	CCBN2	TPX2	CEP55
ME5	FKBP11	SSR4	STARD5	PIM2	SPAG4
ME6	COL1A2	LOXL2	COL3A1	HEPH	GLI2
ME7	TRVP2	DOK2	CSF2RA	FLVCR2	FCGR3A
ME8	ARAF	TYK2	FRX2	EDC4	PQLC1
ME9	GADD45B	IL6	MAFF	CSRN1	FOSL2
ME10	CACNA2D2	PLA2G4F	LGI3	ABCA3	HPN
ME11	HLA-E	BIN2	PSMB9	IL12RB1	PRF1
ME12	PKN1	DBNL	CNPPD1	KLC1	AP1M1
ME13	KANK2	AOC3	RECK	PGR	FZD1
ME14	ACTA2	CNN1	ACTG2	TPM2	H5PB7
ME15	DLGAP4	FMR1	C6orf106	PTPN14	EXOC3
ME16	PRLCZ	NEDD4L	VSIG2	RASSF7	PPP1R9A

este módulo também foi enriquecido para genes relacionados com a expressão genética viral (GO:0019080, $p = 6,24 \times 10^{-6}$).

Reguladores do módulo

Os 16 módulos foram enriquecidos por 25 fatores de transcrição e 21 miARNs (figura 4). Os maiores valores de enriquecimento foram para os fatores de transcrição associados a regulação negativa da resposta imunitária viral ME11, STAT2 (NES = 9,068) e IRF1 (NES = 9,789), para o módulo de cílios regulado positivamente ME1, ZBTB7B (NES = 9,935) e para o módulo de replicação do ADN o ME4, E2F4 (NES = 10,072). Foram também incluídos vários fatores de transcrição no módulo associado sugerindo um ciclo de *feed-*

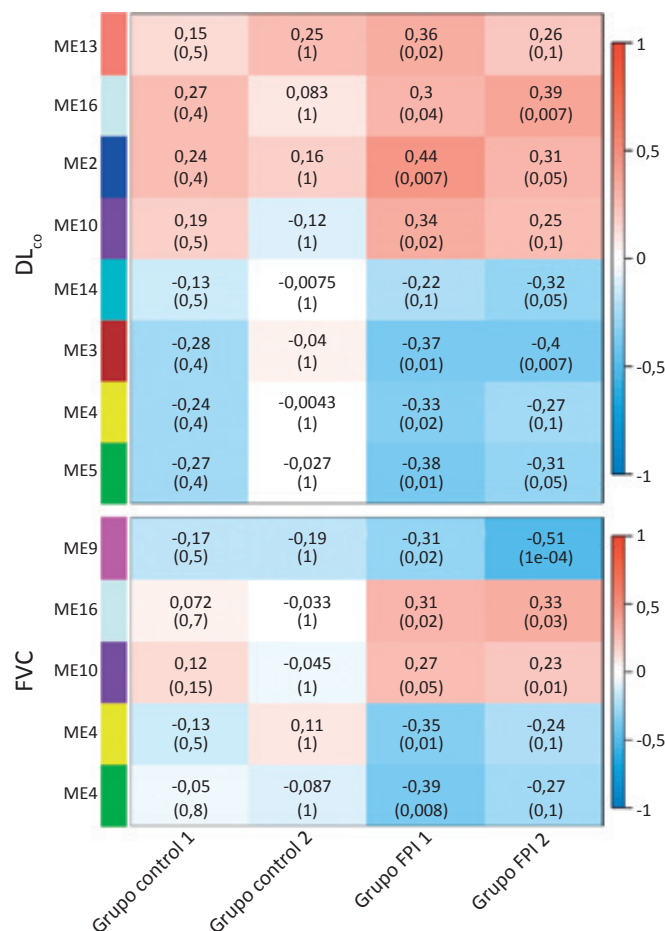


Figura 3 Módulos de consenso para ambos os grupos FPI que foram significativamente correlacionados com a DL_{co} (superior) ou FVC (inferior). Não foi encontrada nenhuma correlação significativa no grupo controle. O número é o valor de R para cada correlação. O número entre parênteses é o de valor de p corrigido para a FDR. DL_{co}, capacidade de difusão; FVC, capacidade vital forçada; FPI, fibrose pulmonar idiopática; ME, módulo eigengene.

Quadro 3 Funções biológicas representativas para cada módulo com base no agrupamento de mapas de enriquecimento da ontologia genética: processo biológico e termos Reactome

Módulo	Expressão na doença	Nenhum gene no módulo	Função biológica
ME1	POSITIVA	1579	Organização ciliar
ME2	NEGATIVA	1404	Desenvolvimento de vasos sanguíneos
ME3	POSITIVA	396	Organização da Matriz Extracelular
ME4	POSITIVA	380	Divisão celular / replicação de ADN / reparação de ADN
ME5	POSITIVA	371	Ativação de células B / resposta da proteína desdobrada
ME6	POSITIVA	207	Organização da Matriz Extracelular
ME7	NEGATIVA	204	Ativação / desgranulação de leucócitos
ME8	NEGATIVA	188	Processo metabólico celular
ME9	NEGATIVA	163	Resposta a bactérias / apoptose / transcrição de ARN
ME10	NEGATIVA	158	Metabolismo do surfactante
ME11	NEGATIVA	116	Ativação de células T / atividade do complexo de histocompatibilidade principal (CHP) classe I / resposta do interferon
ME12	NEGATIVA	107	Ativação / desgranulação de leucócitos
ME13	NEGATIVA	80	Contração muscular / desenvolvimento de órgãos
ME14	POSITIVA	75	Fibras contracteis / interações da matriz extracelular
ME15	NEGATIVA	58	Mecanismo catabólico da proteína celular
ME16	NEGATIVA	39	Organização de junção célula-célula

back positivo; Estes reguladores incluem FOXM1 (ME4), MYBL2 (ME4), IRF1 (ME11), STAT1 (ME11) e TCF12 (ME14).

No geral, estes fatores de transcrição são capazes de regular diretamente 44% dos genes identificados nestes módulos (quadro suplementar online S1). O módulo ME1 apresentou o maior número de correlações e mais fortes de miARNs entre todos os módulos. Estes miARNs correlacionados foram principalmente de duas famílias, miR-34/449 (miR-34b: $p = 1,91 \times 10^{-8}$, $r = 0,80$; miR-34c-3p, miR-34c-5p, miR-449a, miR-449b) e miR-200/429 (miR-200a: $p = 6,00 \times 10^{-9}$, $r = 0,80$; miR-200b: $p = 5,55 \times 10^{-13}$, $r = 0,86$; miR-429: $p = 7,49 \times 10^{-8}$, $r = 0,73$). Os miARNs miR-205 ($p = 8,86 \times 10^{-10}$, $r = 0,84$) e miR-31 ($p = 3,09 \times 10^{-9}$, $r = 0,82$) também foram fortemente correlacionados e ligados a este módulo com o ME2 (miR-205: $3,83 \times 10^{-3}$, $r = -0,68$; miR-31: $p = 6,76 \times 10^{-4}$, $r = -0,66$). Os miR-30s correlacionaram-se com ME2 (miR-30a: $p = 1,87 \times 10^{-6}$, $r = 0,68$; miR-30b: $p = 1,10 \times 10^{-4}$, $r = 0,72$), ME3 (miR-30a: $p = 3,19 \times 10^{-4}$, $r = -0,62$; miR-30b: $p = 3,19 \times 10^{-4}$, $r = -0,66$) e ME5 (miR-30a: $p = 2,47 \times 10^{-4}$, $r = -0,59$; miR-30b: $p = 2,47 \times 10^{-4}$, $r = -0,70$), apoiando ainda mais uma ligação entre a fibrose e as células B. O módulo de fibras contráteis ME14 também foi correlacionado com dois miARNs (miR-133b: $p = 1,08 \times 10^{-4}$, $r = 0,77$ e miR-143: $p = 2,65 \times 10^{-3}$, $r = 0,64$).

Descobrimos que muitos destes reguladores demonstraram, em estudos anteriores, ter um papel significativo nos módulos associados. Em relação ao módulo ME1, estes modelos confirmaram ter um papel importante para a família miR-34/449 na gênese de cílios e a família miR-200/429 como sendo regulada positivamente sob condições de hipóxia.^{21 22} O módulo ME14 foi enriquecido para os fatores de transcrição SRF e TCF12, e ambos foram considerados necessários para a diferenciação de miofibroblastos e para a atividade contrátil dos fibroblastos.^{23 24} De particular interesse é a transcrição ZBTB7B, que foi fortemente enriquecida como um regulador para o módulo ME1. Este gene é normalmente associado ao comprometimento da linhagem das células T com o fenótipo CD425, mas não foi demonstrado anteriormente que regula o epitélio. Examinando o atlas de proteínas humanas, descobrimos que o ZBTB7B é altamente expresso em todos os tipos de células epiteliais (pele e trato digestivo) e a proteína altamente expressa nas células epiteliais brônquicas. Adicionalmente, um exame utilizando o conjunto de dados de célula única de pulmão encontrou que ZBTB7B está altamente expresso nas células epiteliais, apoiando ainda mais o seu papel no desenvolvimento de células epiteliais (figura complementar online S9).

Análise da sobrevida

A relevância clínica destes módulos foi avaliada usando uma coorte independente de 57 doentes com perfis de expressão de ARN do

sangue periférico na FPI com o modelo de riscos proporcionais multivariado de Cox, usado para avaliar a influência de cada módulo na predição da sobrevida. A mediana da expressão genética para genes que componham cada módulo foi avaliada para determinar se a assinatura genética era detetável nas amostras de sangue (figura suplementar online S10). Dos 16 módulos que identificamos, quatro módulos foram significativamente associados à sobrevida após o ajuste de Bonferroni para comparações múltiplas (ME1 $p = 0,038$, ME8 $p = 0,008$, ME9 $p = 0,042$, ME12 $p = 0,041$). O modelo de riscos proporcionais multivariado de Cox ajustado à FVC, idade e sexo foi aplicado a estes quatro módulos e mostrou que ME1 tem a maior associação com a sobrevida com uma concordância geral de 0,777, um valor de p *log-rank* ajustado de 0,001, e um ME1 HR de 2,73 (IC 95% 1,28 a 5,87; $p = 0,0097$) (figura 5).

DISCUSSÃO

A análise da rede de consenso foi utilizada para identificar os módulos diferencialmente expressos com função biológica associada e reguladores de transcrição expressos na FPI com relação ao declínio da função pulmonar. Semelhante ao realizado em estudos anteriores, que utilizaram conjuntos de dados de alto rendimento para examinar a FPI, estes módulos foram enriquecidos para vias relacionadas com a resposta imunitária, fibrose e desenvolvimento. Os reguladores que interligam estes módulos incluem o coativador de transcrição p300 e TCF12, bem como os miARNs, miR-205 e miR-30s. Várias observações podem ser feitas a partir destes dados. A primeira é que, a FPI apresenta uma resposta imunitária disfuncional destacada pela diminuição do interferon, apresentação do CHP classe I e ativação de células T e diminuição das vias relacionadas com a ativação e desgranulação de leucócitos. Curiosamente, enquanto o módulo relacionado com a detecção de bactérias foi regulado negativamente na FPI, correlacionou-se negativamente com o declínio da função pulmonar. Tem sido demonstrado que os doentes com um declínio mais rápido da função pulmonar têm um aumento da carga bacteriana pulmonar²⁶, o que sugere que, apesar da resposta imunitária antibacteriana negativa, o pulmão responde à presença destes microrganismos. Pensa-se que as infeções virais também estão

envolvidas na FPI, mas faltam evidências.^{27,28} De um modo geral, as respostas imunitárias disfuncionais podem estar relacionadas com a falta de depuração dos microrganismos, resultando num aumento da presença dos mesmos na FPI. Essas respostas imunitárias negativas também seriam exacerbadas pelo tratamento com fármacos anti-inflamatórios e podem explicar o aumento da mortalidade nos doentes com FPI quando tratados com corticosteroides.

Apesar de uma redução geral da resposta imunitária, a resposta imunitária humoral foi regulada positivamente, especificamente relacionada com a ativação das células B. Esta teoria é apoiada pelo aumento da presença e do número de células B e de folicúlos linfóides terciários, relatado anteriormente na FPI²⁹, bem como observado num estudo transcriptômico no qual foi registado o aumento da ativação das células B, mas não das células T.³⁰

Embora permaneça desconhecido o papel das células B na FPI, o marcador de células plasmáticas, MZB1, tem sido associado a numerosas doenças fibróticas.³¹ Outro suporte para a ligação entre as células B e a fibrose são os miR-30s que foram correlacionados com o módulo das células B e ME3, um dos módulos associados à matriz extracelular. Foi demonstrado que estes miARNs estão envolvidos tanto na fibrose quanto na transição epitélio-mesênquima³² e reprimem a expressão do fator de ativação das células B (BAFF) nas células B.³³

Em segundo lugar, os nossos dados mostram que estão ativos dois processos fibróticos paralelos. Os genes mais altamente ligados no módulo ME6 são o colagénio 1 e 3 (COL1A2 e COL3A1), que formam as estruturas primárias na MEC. O ME3 foi altamente ligado ao colagénio 14 (COL14A1), que tem um papel na ligação cruzada do colagénio 1 e no desenvolvimento de estruturas fibróticas mais avançadas.

Enquanto ambos os módulos foram regulados positivamente na FPI, apenas o ME3 foi correlacionado (negativamente) com o declínio da função pulmonar. Ainda não se sabe quais dessas vias são afetadas pelos antifibróticos, o que justifica mais pesquisas nessa área.

Finalmente, o maior módulo foi associado aos cílios (ME1). Estudos prévios identificaram uma assinatura de cílios na FPI e descobriram que estava relacionada com o aspeto “favo de mel” ao microscópio.¹³ Ao comparar os nossos módulos com um conjunto de dados

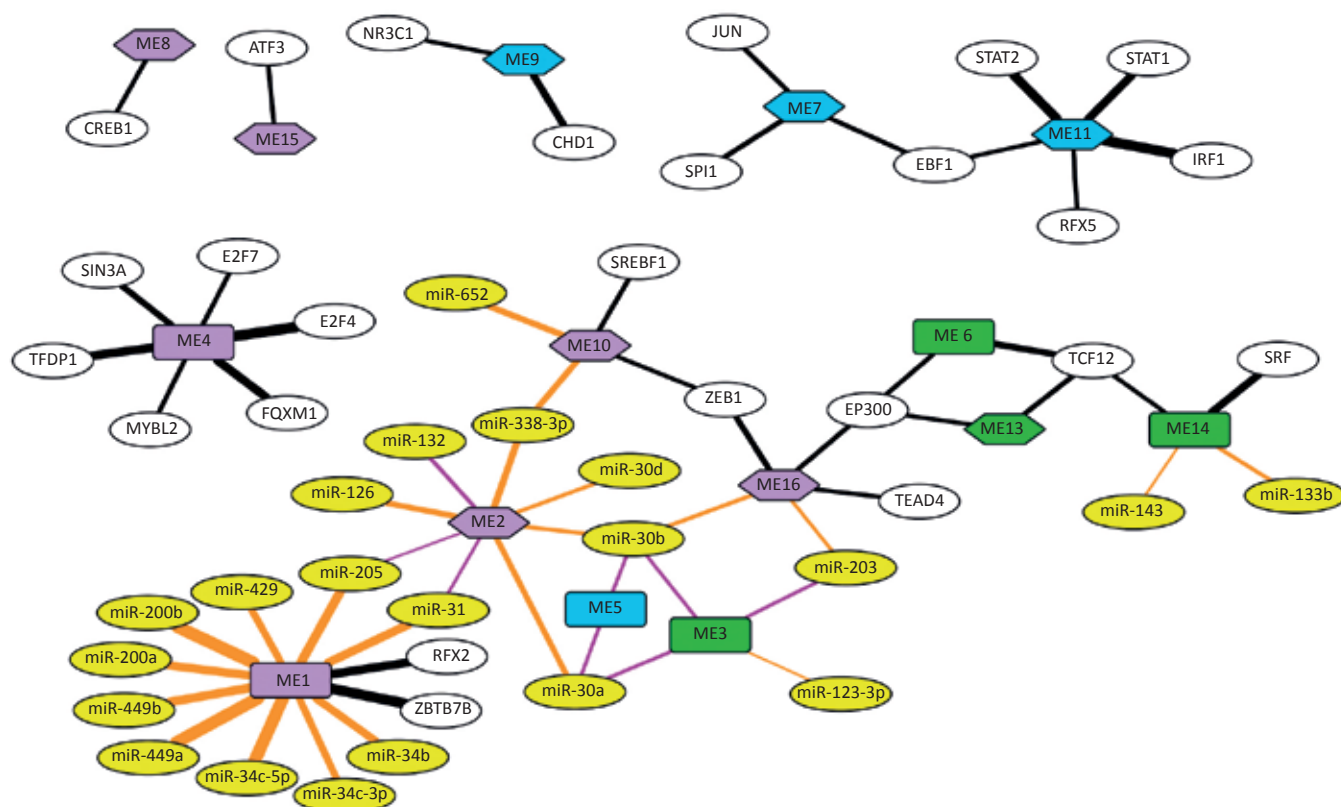


Figura 4 Rede de fatores de transcrição enriquecidos (branco) e miARN correlacionado (amarelo) com cada módulo. Os módulos regulados positivamente na doença são apresentados como retângulos e os módulos regulados negativamente na doença são apresentados como hexágonos. O aumento das pontuações normalizadas de enriquecimento é denotado pelo aumento da espessura do traço. A função biológica foi categorizada para a resposta imunitária (azul) e para a fibrose (verde), com os demais módulos marcados a roxo. O fator de transcrição EP300 (linhas vermelhas) e TCF12 (linhas laranjas) foram destacados como formadores de uma rede de ligação entre os módulos associados a fibrose e a resposta imunitária.

independente, mostramos que o ME1 melhora significativamente os modelos de sobrevida em doentes com FPI. Os biomarcadores epiteliais das proteínas séricas já foram identificados anteriormente como preditores da sobrevida em doentes com FPI.³⁴⁻³⁶ Entretanto, este é o primeiro relato de que estamos cientes de que usamos uma assinatura epitelial de ARN no sangue como biomarcador da FPI. Embora a detecção de uma assinatura epitelial no sangue possa parecer contraintuitiva, há um precedente em estudos sobre cancro em que as células cancerosas epiteliais circulantes estão presentes nas amostras sanguíneas.³⁷ As células epiteliais circulantes também foram detetadas em doenças crônicas inflamatórias do intestino, sugerindo que um processo semelhante pode estar presente na FPI.³⁸

Uma limitação do estudo foi que enquanto realizávamos uma análise com validação cruzada entre os dois grupos de amostras não sobrepostas, esta não era verdadeiramente independente. O nosso conjunto de dados consistiu em 160 amostras de tecido pulmonar FPI e não existe um conjunto de dados de igual dimensão para utilização numa coorte de replicação adequada, com a maioria dos conjuntos de dados compostos por menos de 15 amostras. (Consulte a quadro suplementar online S3 para obter uma lista completa dos conjuntos de dados relacionados com a FPI.)

Em alternativa, acreditamos que a nossa abordagem com validação cruzada e baseada num consenso fornece uma validação suficiente para ser considerada robusta. Adicionalmente, embora o nosso estudo tenha sido capaz de identificar várias vias novas na FPI, foi limitado pelos dados clínicos disponíveis e vieses inerentes às análises de enriquecimento. Os dados da função pulmonar estavam disponíveis para a maioria das amostras, mas o histórico de tabagismo era limitado ao *status* (nunca, fumador ou ex-fumador) sem ter em conta os maços-ano. A análise de enriquecimento (GO ou Human Cell Atlas) também foi limitada na identificação de vias ou tipos de células, uma vez que se baseia em listas de genes validados que resultam na sobre-representação de vias bem caracterizadas. Este aspeto pode estar refletido no número de módulos de resposta imunitária que identificamos, garantindo a necessidade de mais estudos para validar o papel dessas vias na FPI e determinar o seu significado funcional na progressão da doença.

Em conclusão, estes dados demonstram a existência de várias vias na FPI compatíveis com o conhecimento atual da patologia. Acreditamos que este estudo gerador de hipóteses fornece uma nova visão sobre as vias biológicas na FPI e identifica vários reguladores candidatos a alvos de intervenção.

Colaboradores JEM concebeu e realizou o estudo. BT contribuiu com o conjunto de dados de célula única. NK, JCH, BMV e WW estiveram envolvidos na redação e edição do manuscrito.

Financiamento Financiado por doações de KULeuven (C24 / 15/30) e NIH (R01HL127349). JEM foi financiado através de uma bolsa do ERS (RESPIRE2-2015-9192).

Conflitos de interesses NK é inventora de uma patente pendente sobre o uso de hormona da tireoide como um agente antifibrótico (licenciado), bem como uma patente de novos biomarcadores na FPI (não licenciada). NK consultou a Biogen Idec, a Boehringer Ingelheim, a Numedix, a MMI, a Pliant, a Third Rock, a Indaloo e a Samumed. NK tem uma colaboração contínua com a MiRagen mas sem financiamento.

Consentimento do doente Não foi necessário.

Proveniência e revisão por pares Não comissionados; revisto externamente por pares.

Acesso aberto Este é um artigo de acesso aberto distribuído de acordo com a licença Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 4.0), que permite que outros o distribuam, adaptem, construam a partir do trabalho de forma não comercial e licenciem os trabalhos decorrentes em termos diferentes, desde que o trabalho original seja devidamente citado, e seja dado o crédito apropriado, que sejam indicadas quaisquer alterações feitas e o uso não tenha fim comercial. Consultar: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

REFERÊNCIAS

- Yang iV, coldren cD, leach SM, et al. expression of cilium-associated genes defines novel molecular subtypes of idiopathic pulmonary fibrosis. *Thorax* 2013;68:1114-21.
- DePianto DJ, chandriani S, abbas ar, et al. Heterogeneous gene expression signatures correspond to distinct lung pathologies and biomarkers of disease severity in idiopathic pulmonary fibrosis. *Thorax* 2015;70:48-56.
- Wang Y, Yella J, chen J, et al. Unsupervised gene expression analyses identify iPSeverity correlated signatures, associated genes and biomarkers. *BMC Pulm Med* 2017;17:133.
- Langfelder P, Horvath S. Wgcna: an R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinformatics* 2008;9:559.
- Bauer Y, tedrow J, de Bernard S, et al. a novel genomic signature with translational significance for human idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2015;52:217-31.
- Kim S, Herazo-Maya JD, Kang DD, et al. integrative phenotyping framework (iPF): integrative clustering of multiple omics data identifies novel lung disease subphenotypes. *BMC Genomics* 2015;16:924.
- Kusko rJ, Brothers JE, tedrow J, et al. integrated genomics reveals convergent transcriptomic networks underlying chronic obstructive pulmonary disease and idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2016;194:948-60.
- Modena BD, Blecker er, Busse WW, et al. gene expression correlated with severe asthma characteristics reveals heterogeneous mechanisms of severe disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2017;195:1449-63.
- Molyneux PI, Willis-Owen Sag, cox MJ, et al. Host-microbial interactions in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2017;195:1640-50.
- Obeidat M, nie Y, chen Y, et al. network-based analysis reveals novel gene signatures in peripheral blood of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Res* 2017;18:72.
- Wu W, Dave n, tseng gc, et al. comparison of normalization methods for codeLink Bioarray data. *BMC Bioinformatics* 2005;6:309.
- Reimand J, arak t, adler P, et al. gProfiler-a web server for functional interpretation of gene lists (2016 update). *Nucleic Acids Res* 2016;44:W83-W89.
- Kuleshov MV, Jones MR, rouillard aD, et al. enrichr: a comprehensive gene set enrichment analysis web server 2016 update. *Nucleic Acids Res* 2016;44:W90-W97.
- Janky r, Verfaillie a, imrichová H, et al. iregulon: from a gene list to a gene regulatory network using large motif and track collections. *PLoS Comput Biol* 2014;10:e1003731.
- Ru Y, Kechris KJ, tabakoff B, et al. the multiMir r package and database: integration of microRNA-target interactions along with their disease and drug associations. *Nucleic Acids Res* 2014;42:e133.
- Mao Q, Wang J, goodison S, et al. Dimensionality reduction via graph structure learning. *Proceedings of the 21th ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining*. new York: nY, U.S.a: acM, 2015;765-74.
- Lambrechts D, Wauters e, Boeckx B, et al. Phenotype molding of stromal cells in the lung tumor microenvironment. *Nat Med* 2018;24:1277-89.
- Renault M, robesyns F, chapouly c, et al. Hedgehog-dependent regulation of angiogenesis and myogenesis is impaired in aged mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013;33:2588-96.
- Tahir S, Park S, thompson tc. caveolin-1 regulates VegF-stimulated angiogenic activities in prostate cancer and endothelial cells. *Cancer Biol Ther* 2009;8:2284-94.
- Seibold M, Smith RW, Urbanek c, et al. the idiopathic pulmonary fibrosis honeycomb cyst contains a mucociliary pseudostratified epithelium. *PLoS One* 2013;8:e58658.
- Song r, Walentek P, Spöner n, et al. mir-34/449 mirnas are required for motile ciliogenesis by repressing cp110. *Nature* 2014;510:115-20.
- Bartoszewski S, Kamysh W, Jakiela B, et al. mir-200b downregulates cFtr during hypoxia in human lung epithelial cells. *Cell Mol Biol Lett* 2017;22:23.
- Chai J, norng M, tarnawski aS, et al. a critical role of serum response factor in myofibroblast differentiation during experimental oesophageal ulcer healing in rats. *Gut* 2007;56:621-30.
- Tang X, Hou Y, Yang g, et al. Stromal mir-200s contribute to breast cancer cell invasion through caF activation and ecM remodeling. *Cell Death Differ* 2016;23:132-45.
- Wang L, Wildt KF, castro e, et al. the zinc finger transcription factor Zbtb7b represses cD8-lineage gene expression in peripheral CD4+ t cells. *Immunity* 2008;29:876-87.
- Molyneux PI, cox MJ, Willis-Owen Sa, et al. the role of bacteria in the pathogenesis and progression of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2014;190:906-13.
- Wootton Sc, Kim DS, Kondoh Y, et al. Viral infection in acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;183:1698-702.
- Moore BB, Moore ta. Viruses in idiopathic pulmonary fibrosis: etiology and exacerbation. *Ann Am Thorac Soc* 2015;12 Suppl 2(Suppl 2):S186-92.
- Marchal-Somme J, Uzunhan Y, Marchand-adam S, et al. cutting edge: nonproliferating mature immune cells form a novel type of organized lymphoid structure in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Immunol* 2006;176:5735-9.
- Zuo F, Kaminski n, eugui e, et al. gene expression analysis reveals matrix metalloproteinase 1 as a key regulator of pulmonary fibrosis in mice and humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:6292-7.
- Schiller HB, Mayr cH, leuschner g, et al. Deep proteome profiling reveals common prevalence of mzb1-positive plasma b cells in human lung and skin fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2017;196:1298-310.
- Duisters rJ, tijssen al, Schroeen B, et al. mir-133 and mir-30 regulate connective tissue growth factor: implications for a role of microRNAs in myocardial matrix remodeling. *Circ Res* 2009;104:170-8.
- alsaleh g, François a, Philippe l, et al. Mir-30a-3p negatively regulates baFF synthesis in systemic sclerosis and rheumatoid arthritis fibroblasts. *PLoS One* 2014;9:e11266.
- Kinder BW, Brown KK, McCormack FX, et al. Serum surfactant protein-a is a strong predictor of early mortality in idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest* 2009;135:1557-63.
- Barlo nP, van Moorsel cH, ruven HJ, et al. Surfactant protein-D predicts survival in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2009;26:155-61.
- Maier TM, Oballa e, Simpson JK, et al. an epithelial biomarker signature for idiopathic pulmonary fibrosis: an analysis from the multicentre ProFile cohort study. *Lancet Respir Med* 2017;5:946-55.
- Tanaka F, Yoneda K, Kondo n, et al. circulating tumor cell as a diagnostic marker in primary lung cancer. *Clin Cancer Res* 2009;15:6980-6.
- Pantel K, Denève e, nocca D, et al. circulating epithelial cells in patients with benign colon diseases. *Clin Chem* 2012;58:936-40.

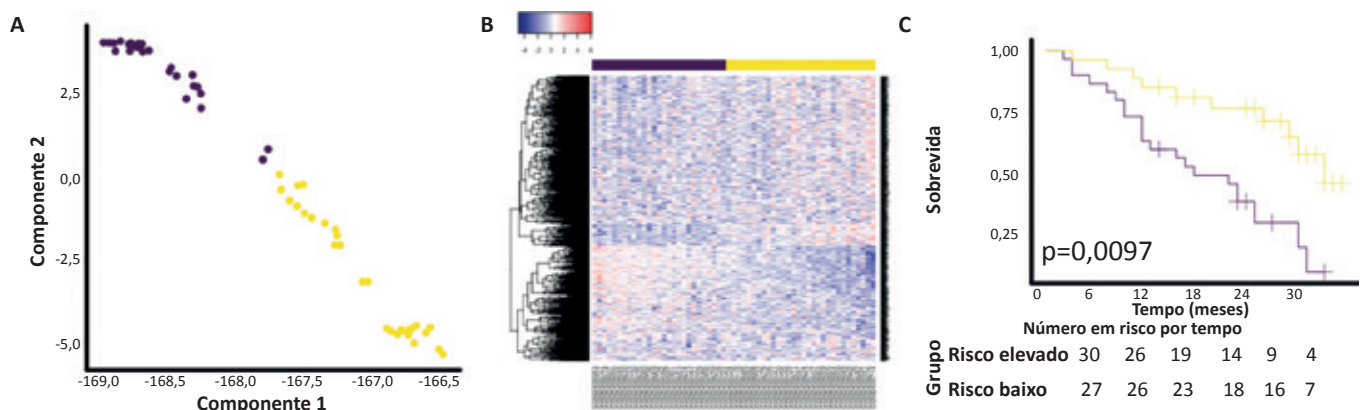


Figura 5 (A) Gráfico da redução de dimensão discriminativa (DDR do inglês *discriminative dimension reduction*) de GSE93606 dados de ARN do sangue periférico na FPI usando a lista de genes do módulo ME1 (cílios).

O agrupamento *K-means* foi utilizado para separar as amostras em dois grupos (amarelo e roxo). (B) Mapa de calor da expressão genética classificada por pontuação DDR. (C) Curvas de Kaplan-Meier para os grupos definidos por agrupamento DDR *k-means* de genes ME1 em grupos de dados de sangue periférico. O modelo de riscos proporcionais multivariado de Cox dos grupos de módulos, FVC, sexo e idade mostrou que ME1 teve associação significativa com a sobrevida ($p = 0,0097$). FPI, fibrose pulmonar idiopática; ME, módulo eigengene.

Hipoventilação desproporcional à gravidade da SAOS em crianças com síndrome de Prader-Willi

Francois Abel,¹ Hui-Leng Tan,² Valentina Negro,² Nicola Bridges,³ Thomas Carlisle,² Elaine Chan,¹ Aidan Laverty,¹ Michael Miligkos,^{4,5} Martin Samuels,¹ Athanasios G Kaditis⁴

► Informação adicional encontra-se publicado apenas *online*. Para a consultar, visite por favor o jornal *online* (<http://dx.doi.org/10.1136/archdischild-2017-314282>).

¹Departamento de Medicina Respiratória Pediátrica, Great Ormond Street Hospital, Londres, Reino Unido

²Departamento de Medicina Respiratória Pediátrica, Royal Brompton Hospital, Londres, Reino Unido

³Departamento de Endocrinologia Pediátrica, Chelsea and Westminster Hospital, Londres, Reino Unido

⁴Unidade de Pneumologia Pediátrica, First Department of Paediatrics, National and Kapodistrian University of Athens School of Medicine, Atenas, Grécia

⁵Departamento de Biomatemática, Faculdade de Medicina da Universidade de Tessália, Larissa, Grécia

Correspondência para

Dr. Athanasios G Kaditis, First University Department of Paediatrics, Aghia Sophia Children's Hospital, Atenas 11527, Grécia; kaditia@hotmail.com

FA e H-LT contribuíram igualmente.

Recebido a 13 de outubro 2017
Revisto a 16 de junho de 2018
Aceite a 20 de junho de 2018
Publicado inicialmente online a 14 de julho de 2018



© Os autor(es) ou o(s) seu(s) empregador(es) 2019. Não é permitida a reutilização com fins comerciais. Consultar direitos e permissões. Publicado pelo BMJ.

Para citar: Abel F, Tan H-L, Negro V, et al. Thorax 2019;104:166-171.

RESUMO

Objetivo Testar a hipótese de que as crianças com síndrome de Prader-Willi (SPW) e síndrome da apneia obstrutiva do sono (SAOS) apresentam hipercapnia numa maior proporção do tempo total de sono (TTS) do que as crianças sem síndrome mas com semelhante índice de apneia-hipopneia obstrutiva (IAHO).

Desenho do estudo Estudo transversal.

Local Dois hospitais de nível terciário.

Doentes Doentes com SPW e crianças sem síndrome mas com roncopatia, submetidos a poligrafia e com idade semelhante, com *z-score* do índice de massa corporal (IMC) e IAHO.

Outcome principal Os dois grupos foram comparados em relação à % do TTS com CO_2 transcutâneo (PtcCO_2) > 50 mmHg. A interação entre o diagnóstico de SPW e a gravidade da SAOS (IAHO <1 episódio/h vs 1-5 episódios/h vs > 5 episódios/h) em relação à % do TTS com PtcCO_2 > 50 mmHg foi testada através de regressão linear múltipla.

Resultados Foram incluídas 48 crianças com SPW e 92 controlos (mediana de idades 2,3 (intervalo 0,2–14,1) anos vs 2,2 (0,3–15,1) anos; *z-score* do IMC $0,7 \pm 1,9$ vs $0,8 \pm 1,7$; mediana do IAHO 0,5 (0–29,5) episódios/h vs 0,5 (0–33,9) episódios/h; $p > 0,05$). Os dois grupos não diferiram relativamente à % do TTS com PtcCO_2 > 50 mmHg (mediana 0% (0–100%) vs 0% (0–81,3%), respetivamente; $p > 0,05$). No entanto, a interação entre a SPW e a gravidade da SAOS em relação à duração da hipoventilação foi significativa ($p < 0,01$); as diferenças médias estimadas da % do TTS com PtcCO_2 > 50 mmHg entre crianças com SPW e os controlos para o IAHO <1 episódio/h, 1–5 episódios/h e > 5 episódios/h foram + 0,2%, + 1% e +33 %, respetivamente.

Conclusão O aumento da gravidade da obstrução das vias aéreas superiores durante o sono em crianças com SPW é acompanhado por períodos desproporcionalmente mais longos de hipoventilação, quando comparadas com crianças sem síndrome com frequência semelhante de eventos obstrutivos.

INTRODUÇÃO

Numa revisão sistemática de 14 estudos publicados, quase 80% das crianças com síndrome de Prader-Willi (SPW) apresentavam síndrome da apneia obstrutiva do sono (SAOS), sendo de gravidade ligeira em 50% dos casos.¹ A frequência de SAOS é maior nas idades mais jovens e no percentil de índice de massa corporal (IMC) mais elevado.^{1,2} A síndrome da apneia central do sono e a hipoxemia noturna não relacionada com a SAOS são dois padrões adicionais de distúrbios respiratórios do sono (DRS) que afetam crianças com SPW.^{2–4} Numa coorte retrospectiva de bebés e crianças com SPW, 25% dos doentes apresentavam síndrome da apneia central do sono e o distúrbio foi mais comum em crianças com menos de 2 anos em comparação com os de idade mais avançada (43% vs 5%).

O controlo respiratório central anormal, como indicado pelas respostas ventilatórias anormais hiperápnicas e hipóxicas, está provavelmente envolvido na patogénese da SAOS e da síndrome da apneia central do sono.^{6–8} A obesidade, hipertrofia adenotonsilar, hipoplasia da face média, micrognatia e hipotonia são fatores adicionais que predisõem as crianças com SPW ao aparecimento da SAOS.³ A hipoventilação relacionada com o sono é outro padrão de DRS que tem sido discutido no contexto da SPW, e pode ser uma consequência clínica da

O que já se sabe sobre este tema?

► As crianças com síndrome de Prader-Willi (SPW) têm respostas ventilatórias atenuadas à hipoxemia e à hipercapnia e uma elevada prevalência de síndrome da apneia obstrutiva do sono (SAOS). No entanto, a frequência de hipoventilação noturna é desconhecida.

O que este estudo vem acrescentar?

► O aumento da gravidade da SAOS em crianças com SPW é acompanhado por períodos de hipoventilação desproporcionalmente mais longos em comparação com crianças com desenvolvimento típico e frequência semelhante de eventos obstrutivos.

► Adicionalmente à oximetria e à capnometria anual recomendadas em doentes com SPW, os pediatras devem estar à alerta para manifestações clínicas que indicam a deterioração dos distúrbios respiratórios do sono.

obstrução das vias aéreas superiores, obesidade e resposta ventilatória atenuada à hipercapnia e à hipoxemia.^{3,9} No entanto, a sua prevalência e gravidade não foram estudadas na literatura existente sobre a SPW.¹⁰

Em crianças saudáveis que participaram no Childhood Adenotonsillectomy Trial (CHAT), a percentagem de tempo total de sono com pressão parcial de dióxido de carbono expirado > 50 mmHg (% do TTS com EtCO_2 > 50 mmHg) no ar exalado correlacionou-se significativamente com o índice de apneia-hipopneia obstrutiva (IAHO) e a frequência de hipoventilação aumentou progressivamente com a gravidade da SAOS.¹² De facto, os participantes do grupo de adenotonsilectomia precoce tiveram uma maior redução significativamente na % do TTS com EtCO_2 > 50 mmHg quando comparado com o grupo em espera sob vigilância. Em comparação, num caso relatado de uma criança obesa com SPW e SAOS grave, a hipoventilação noturna não se resolveu completamente apesar do alívio da obstrução das vias aéreas superiores com traqueostomia.¹³ Portanto, a SAOS não é o único fator que contribui para a hipoventilação relacionada com o sono na SPW. Neste estudo, comparamos doentes com SPW e crianças saudáveis com roncopatia, hipertrofia adenotonsilar e/ou obesidade com idades semelhantes, *z-score* do IMC e IAHO. A nossa hipótese é de que as crianças com SPW estão em hipoventilação numa maior proporção de tempo de sono em comparação com as crianças controlo com SAOS com gravidade semelhante, conforme indicado pelo IAHO.

DOENTES E MÉTODOS

Crítérios de inclusão e exclusão para doentes com SPW e indivíduos de controlo

A presente análise retrospectiva incluiu doentes com SPW com idades compreendidas entre os 0 e os 18 anos, que

realizaram o primeiro estudo de poligrafia na Unidade Respiratória do Sono do Great Ormond Street Hospital (GOSH) num período de 9 anos ou no Centro do Sono do Royal Brompton Hospital (RBH) (Londres, Reino Unido) num período de 3 anos. Para fins de comparação, também analisamos dados de crianças saudáveis (controles) que (1) foram submetidas a poligrafia durante os mesmos períodos do estudo devido a roncopatia relacionada com a hipertrofia adenotonsilar e/ou obesidade; e (2) eram semelhantes aos doentes com SPW em relação à idade, *z-score* do IMC e IAHO. Como não foi estudada anteriormente a gravidade da hipoventilação noturna em crianças com SPW - um distúrbio relativamente raro - e como é desconhecida a dimensão da diferença deste parâmetro relativamente a crianças com desenvolvimento típico, não foi realizado o cálculo do tamanho da amostra. Portanto, foram analisados os dados de todos os doentes com SPW submetidos a poligrafia nas duas instituições durante o período do estudo.

Não foram analisados os dados de doentes com SPW ou controles se havia história de (1) tratamento com hormona de crescimento; (2) qualquer intervenção prévia para a SAOS (ou seja, adenoidectomia e/ou tonsilectomia; pressão positiva contínua nas vias aéreas; ventilação não invasiva com pressão positiva); (3) síndromes craniofaciais e malformações congénitas das vias aéreas superiores; (4) distúrbios neuromusculares; (5) doenças genéticas que não a SPW; ou (6) doença pulmonar crônica ou cardiopatia congénita. Assim, todos os doentes com SPW e indivíduos de controlo incluídos na análise eram *naive* para o tratamento da SAOS. O processo de seleção dos doentes com SPW e das crianças controlo encontra-se detalhado na informação complementar *online*. Para cada doente com SPW, foram selecionados dois controlos com idades compreendidas no intervalo de ± 1 ano da idade do doente, *z-scores* do IMC no intervalo de $\pm 0,5$ do índice de IMC do doente e IAHO no intervalo de ± 2 episódios/h do IAHO do doente.

Poligrafia

Os indivíduos foram monitorizados como se fossem doentes internados e a poligrafia foi assistida por pessoal treinado. Os detalhes sobre o equipamento utilizado, sinais registados e pontuação dos eventos respiratórios estão disponíveis na informação complementar *online*. No GOSH, a monitorização transcutânea da pressão parcial do dióxido de carbono (P_{tCO_2}) foi obtida utilizando um monitor transcutâneo TCM TOSCA 500 (Radiometer Medical ApS, Dinamarca). O TOSCA 500 utiliza uma calibração totalmente automática baseada numa câmara de calibração integrada com um calibrador de gás. A calibração é realizada uma vez a cada 24 horas, após a troca da membrana do sensor ou sempre que o fisiologista considerar necessário.

No RBH, a monitorização transcutânea do CO_2 foi registada utilizando um monitor transcutâneo TCM40 (Radiometer Medical ApS). O TCM40 é calibrado automaticamente utilizando uma câmara de calibração integrada que contém 7,5% de CO_2 , 20,9% de O_2 e N_2 (calibração automática integrada SmartCal). A calibração foi realizada no início da poligrafia e novamente às 5 horas do estudo ou sempre que o fisiologista considerasse necessário. Como não foi registado nenhum eletroencefalograma, foram aplicadas medidas de substituição para a deteção dos despertares e estimativa do TTS, ou seja, o movimento/despertar na gravação de vídeo ou outros meios de registo ou aumento da frequência cardíaca. O índice de apneia-hipopneia (IAH) foi calculado como o total de todas as apneias e hipopneias por hora de TTS; para cálculo do IAHO, foi subtraído ao IAH o número de apneias centrais e hipopneias centrais por hora de TTS (informação complementar *online*). A SAOS ligeira correspondeu a um IAHO de 1 a 5 episódios/h e a SAOS moderada a grave a um IAHO > 5 episódios/h.¹ A hipoventilação noturna foi definida como $P_{tCO_2} > 50$ mmHg para $> 25\%$ do TTS.¹⁴

Outcome e variáveis explanatórias

O *outcome* primário foi a % do TTS com $P_{tCO_2} > 50$ mm Hg. A média e o pico de P_{tCO_2} e a proporção de indivíduos com hipoventilação noturna foram *outcomes* secundários.

Análise de dados

Para confirmar que os dois grupos do estudo (doentes com SPW e controlos) eram semelhantes relativamente à idade, *z-score* do IMC e IAHO, foram comparados em relação às características dos indivíduos e aos resultados da poligrafia utilizando o teste χ^2 para variáveis categóricas, teste t de Student para variáveis contínuas normalmente distribuídas e o teste U de Mann-Whitney para variáveis contínuas não distribuídas normalmente. Foram utilizados testes semelhantes para comparar os dois grupos do estudo relativamente aos *outcomes* primário e secundários.

Para testar a hipótese de que as crianças com SPW hipoventilam por períodos mais longos do TTS em qualquer nível de gravidade de obstrução das vias aéreas superiores, foi aplicado um modelo de regressão linear múltipla incluindo a % do TTS com $P_{tCO_2} > 50$ mmHg como variável dependente e nível de gravidade da SAOS (IAHO < 1 episódio/h vs 1–5 episódios/h vs > 5 episódios/h), diagnóstico (indivíduo controlo vs SPW) e como variáveis explanatórias a interação entre a gravidade da SAOS e o diagnóstico.¹ Foram introduzidos como covariáveis a idade, sexo e *z-score* do IMC. Uma interação ocorre quando o diagnóstico de SPW tem um efeito diferente na % do TTS com $P_{tCO_2} > 50$ mmHg dependendo da gravidade da SAOS, por exemplo, o grupo SPW e os controlos são semelhantes relativamente à % do TTS com hipoventilação quando o IAHO < 1 episódio/h ou 1–5 episódios/h, mas os dois grupos diferem significativamente na duração da hipoventilação quando o IAHO > 5 episódios/h.

Foram testadas todas as hipóteses de regressão linear múltipla. As parcelas residuais não indicaram violações relevantes das suposições de homocedasticidade/linearidade e normalidade. Adicionalmente, foi calculada a distância de Cook e não foi identificado nenhum *outlier*.

Os dois modelos adicionais de análise de regressão linear múltipla foram ajustados considerando apenas a coorte GOSH ou apenas a coorte RBH, respetivamente. A análise de regressão também foi repetida separadamente para crianças mais jovens (idade ≤ 2 anos) e mais velhas (idade > 2 anos).⁵ Foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman para testar a associação entre o índice de apneia obstrutiva e a percentagem de TTS com $P_{tCO_2} > 50$ mmHg.

RESULTADOS

Características dos participantes

Foram considerados para inclusão no presente estudo transversal dados de 81 doentes com SPW e 1525 potenciais controlos de ambos os centros (figura 1). Em oito doentes com SPW, registou-se uma grande perda do sinal de capnografia e as respetivas poligrafias foram excluídas da análise. A grande maioria dos potenciais controlos (653 de 745 sem comorbidades) foram excluídos porque não tinham idade, *z-score* do IMC ou IAHO semelhantes a nenhuma das crianças do grupo SPW. Para quatro casos de doentes com SPW, apenas foi identificado um indivíduo controlo por doente com características semelhantes.

Assim, foram retidos para análise dados referentes a 48 crianças com SPW (0,2 a 14,1 anos de idade; 58,3% do sexo feminino) e 92 crianças de controlo (0,3 a 15,1 anos de idade; 42,4% do sexo feminino). O resumo das estatísticas e das comparações dos achados demográficos e poligráficos em crianças com SPW e crianças de controlo são apresentados no quadro 1. Os dois grupos do estudo não diferiram em idade, *z-score* do IMC e IAHO. A maioria das crianças com SPW (58,3%) apresentava um IAHO < 1 episódio/h e um grupo menor (14,6%) apresentava SAOS moderada a grave. No geral, uma minoria dos indivíduos com SPW (27,1%) eram obesos, mas a prevalência de obesidade foi elevada entre os que apresentavam uma SAOS moderada a grave (43%).

A maior % de TTS com $P_{tCO_2} > 50$ mmHg no grupo com SPW foi registada numa criança com obesidade mórbida e escoliose grave (P_{tCO_2} média noturna de 56,6 mmHg e PCO_2 capilar de 62,5 mmHg; PCO_2 arterial diurna de 46,5 mmHg). No grupo de controlo, a maior proporção de sono com hipoventilação noturna foi demonstrada numa criança com obesidade mórbida (81,3% do TTS com $P_{tCO_2} > 50$ mmHg). Uma criança do grupo de controlo com obstrução grave das vias aéreas superiores apresentou a maior % de TTS com $SpO_2 < 90\%$ entre todos os participantes.

Outcomes e o efeito da interação entre a severidade da SAOS e o diagnóstico de SPW na duração do P_{tCO_2} noturno elevado

Entre os indivíduos com SAOS ligeira ou sem SAOS, 4,9% dos doentes com SPW e 5% das crianças controlo apresentaram evidência de hipoventilação. Em comparação, a prevalência de hipoventilação noturna entre os indivíduos com SAOS moderada a grave foi de 57,1% em doentes com SPW e 16,7% nas crianças de controlo.

As crianças com SPW e as de controlo apresentaram resultados semelhantes na % de TTS com $P_{tCO_2} > 50$ mm Hg ($p > 0,05$), mas a média do P_{tCO_2} tendeu a ser maior nos doentes com SPW comparativamente com os controlos ($p = 0,05$; quadro 2). Adicionalmente, o pico de P_{tCO_2} e a proporção de indivíduos com hipoventilação (12,5% no grupo SPW versus 6,5% nos controlos) não diferiram significativamente entre os dois grupos do estudo ($p > 0,05$; quadro 2). Não houve associação significativa entre o índice de apneia obstrutiva e a percentagem de TTS com $P_{tCO_2} > 50$ mmHg ($r = 0,09$; $p = 0,29$). O efeito da interação entre o diagnóstico de SPW e do nível de gravidade da SAOS na %

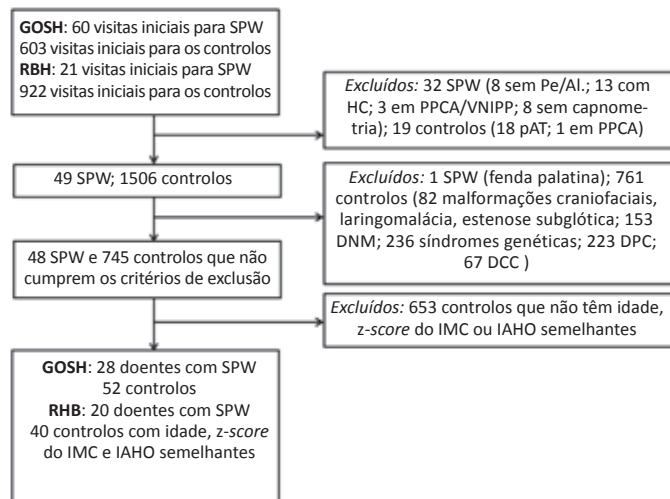


Figura 1 Processo de seleção de doentes com síndrome de Prader-Willi e crianças saudáveis da mesma faixa etária, z-score do IMC e índice de apnéia-hipopnéia obstrutiva acompanhado de roncopia. IMC, índice de massa corporal; DCC, doença cardíaca congênita; DPC, doença pulmonar crônica; PPCA, pressão positiva contínua nas vias aéreas; HC, hormona de crescimento; GOSH, Great Ormond Street Hospital; Al, Altura; DNM, doença neuromuscular; VNIPP, ventilação não invasiva com pressão positiva; IAHO, índice de apnéia-hipopnéia obstrutiva; pAT, pós-adenotomilectomia; SPW, síndrome de Prader-Willi; RBH, Royal Brompton Hospital; Pe, peso.

de TTS com $PtcCO_2 > 50$ mmHg após ajuste para idade, sexo e z-score do IMC foi significativo ($p < 0,01$) (quadro 3 e informação complementar online, equação 1). As diferenças médias na % de TTS com $PtcCO_2 > 50$ mmHg entre crianças com SPW e as de controlo para o IAHO < 1 /h, 1-5 /h e $+ 5$ /h, calculadas a partir da equação de regressão linear múltipla, foram de $+ 0,2\%$, $+ 1\%$ e $+ 33\%$, respetivamente (figura 2).

É importante salientar que a interação entre o diagnóstico de SPW e a gravidade da SAOS persistiu quando foram considerados apenas os doentes estudados no GOSH ($p = 0,04$) ou apenas os doentes estudados no RBH ($p = 0,05$). A interação foi significativa para crianças com idade ≤ 2 anos ($n = 67$; $p < 0,01$; quadro 1 da informação complementar online), mas não para indivíduos mais velhos ($n = 73$; $p > 0,05$; quadro 2 da informação complementar online).

DISCUSSÃO

No presente estudo, os doentes com SPW e as crianças do controlo com SAOS ligeira ou sem SAOS não diferiram quanto à proporção do tempo de sono com $PtcCO_2$ elevada. Em comparação, os doentes com SPW e SAOS moderada a grave passaram períodos significativamente mais longos do tempo de sono com uma $PtcCO_2$ elevada em comparação com as crianças controlo com IAHO igualmente elevado. Assim, no contexto da SAOS moderada a grave, as crianças com SPW têm uma menor capacidade de manter a ventilação alveolar normal e têm maior probabilidade de se tornarem hipercápnicas.

A frequência da hipoventilação não foi descrita nas coortes publicadas de indivíduos com SPW usando a definição proposta no manual da Academia Americana de Medicina do Sono (AASM).¹¹ Numa coorte retrospectiva de 37 crianças e adultos jovens com SPW, a prevalência de hipercápnica definida como pico de $EtCO_2 > 50$ mmHg foi de 62%.¹⁰ Neste relatório, a prevalência de hipoventilação noturna - baseada na definição do manual da AASM - para crianças controlo com SAOS ligeira / sem SAOS ou com SAOS moderada a grave (5% e 16,7%, respetivamente) foi comparável com a de crianças recrutadas para participarem no CHAT (8,9% e 26,9%, respetivamente).¹² Embora os doentes com SPW e SAOS ligeira ou sem SAOS tivessem uma frequência igualmente baixa de hipoventilação (4,9%), a respetiva prevalência nos doentes com SAOS moderada a grave foi muito elevada (57,1%). A maior tendência para hipoventilação foi evidente particularmente entre os doentes com SPW que tinham menos de 2 anos de idade, uma faixa etária com elevada prevalência da síndrome de apnéia do sono central.⁵

A hipoventilação noturna é preocupante em doentes com SPW. As crianças obesas com SPW têm uma resposta ventilatória hipercápnica atenuada em relação aos indivíduos saudáveis não obesos, enquanto a resposta ventilatória hipóxica está ausente ou acentuadamente reduzida, independentemente do grau de adiposidade.⁶ Numa série internacional de 27 doentes falecidos com SPW que não recebiam hormona de cresci-

Quadro 1 Resumo das estatísticas e das comparações relativamente às características dos participantes e aos resultados da poligrafia das crianças com SPW e dos participantes de controlo que foram incluídos na análise

Variáveis	Crianças com SPW n=48	Crianças de controlo n=92	Valores de p
Idade, anos	2,3 (0,2–14,1)	2,2 (0,3–15,1)	0,31
Sexo, feminino (%)	28 (58,3)	39 (42,4)	0,07
GOSH (%)	28 (58,3)	52 (56,5)	0,84
RBH (%)	20 (41,7)	40 (43,5)	
z-score do IMC	0,7±1,9	0,8±1,7	0,93
Obesidade* (%)	13 (27,1)	26 (28,3)	0,88
TTS, min	535,7±99,7	539,9±104,6	0,82
Índice de apnéia obstrutiva, episódios /h	0 (0–23,5)	0 (0–19,9)	0,23
IAHO, episódios /h	0,5 (0–29,5)	0,5 (0–33,9)	0,43
IAH, episódios /h	3,1 (0,1–37,6)	2,7 (0–35)	0,07
Índice de apnéia central, episódios /h	1 (0–11)	0 (0,7–10,8)	0,08
SpO ₂ médio, %	97,1 (89,1–99,5)	97,6 (85,4–100)	0,23
Nadir de SpO ₂ , %	86 (49–95)	90 (64–96)	<0,01
Dessaturação de oxigénio ($\geq 3\%$) do índice de hemoglobina, episódios /h	5 (0–68)	3,9 (0,1–44,2)	0,03
% TTS com SpO ₂ <90%	0 (0–53,7)	9 (0–94,1)	0,13
Gravidade da SAOS (%)			
IAHO <1 episódio /h	28 (58,3)	57 (62)	0,18
IAHO 1 - 5 episódios /h	13 (27,1)	23 (25)	
IAHO > 5 episódios /h	7 (14,6)	12 (13)	

As variáveis contínuas são expressas como média $\pm$ DP ou como mediana (valor mínimo - valor máximo).

* A obesidade foi definida como z-score de IMC $\geq 1,645$.

IAH, índice de apnéia-hipopnéia; IMC, índice de massa corporal; GOSH, Great Ormond Street Hospital; IAHO, índice de apnéia-hipopnéia obstrutiva; SAOS, síndrome da apnéia obstrutiva do sono; SPW, síndrome de Prader-Willi; RBH, Royal Brompton Hospital; TTS, tempo total de sono.

mento, a hipoventilação e a infeção concomitante do trato respiratório superior ou inferior foram as causas mais comuns de morte súbita nos primeiros 5 anos de idade.¹⁵ Estes achados foram reproduzidos numa outra revisão de 64 óbitos em crianças e adolescentes com SPW, 44% dos quais foram tratados com hormona do crescimento.¹⁶

A pneumonia ou a broncopneumonia e a agudização da SAOS por uma infeção do trato respiratório superior aumentam a carga mecânica para os músculos respiratórios (aumento da resistência do sistema respiratório e diminuição da complacência). Na presença de hipercápnica ou hipoxemia, as crianças com SPW aumentam inadequadamente a ventilação alveolar.⁶ É plausível que a insuficiência respiratória hipercápnica não reconhecida se desenvolva num subgrupo de doentes com infeção respiratória aguda, conduzindo a narcose pelo CO_2 e morte inesperada durante o sono.

A SPW é caracterizada pela ausência de expressão de vários genes de origem paterna localizados no cromossomo 15q11-q13, incluindo o gene da proteína NECDIN. A regulação anormal da respiração na medula dos camundongos deficientes em NECDIN leva a apneias frequentes, irregularidade do ritmo respiratório e respostas respiratórias atenuadas perante a hipóxia, semelhantes aos padrões relatados em bebés com SPW.^{17,18} A falta de expressão do NECDIN pode contribuir para as respostas ventilatórias atenuadas perante hipercápnica e hipoxia observadas em humanos com SPW e a sua incapacidade de manter a ventilação alveolar normal na presença de carga respiratória mecânica aumentada.

Em consonância com os resultados de um estudo multicêntrico francês e italiano, publicado anteriormente, que também foi baseado em poligrafia, no presente relatório a maioria dos doentes com SPW teve ou não SAOS ou apenas SAOS ligeira.¹⁹ A prevalência relativamente baixa de SAOS moderada a grave nesta coorte reflete possivelmente a frequência relativamente menor de obesidade em comparação com séries de casos mais antigas.²⁰ O tratamento com hormona de crescimento tem sido utilizado para melhorar o crescimento linear e manter o z-score do IMC abaixo de +2, apesar do curso natural de aumento da obesidade em doentes com SPW.²¹ No entanto, a SAOS grave pode ocorrer em alguns doentes durante o tratamento e especialmente durante os episódios de infeções respiratórias potencialmente devido ao aumento do tecido linfóide faríngeo.^{22,23} Por este motivo, têm sido recomendada a realização de polissonografia ou poligrafia antes e após o início do tratamento com hormona de crescimento para diagnosticar a SAOS existente ou recente.²⁴ A hormona de crescimento parece não alterar a resposta ventilatória à hipercápnica.²⁵

Quadro 2 Resumo das estatísticas e das comparações dos *outcomes* em crianças com SPW e em participantes de controle

Variáveis	Crianças com SPW n=48	Crianças de controle n=92	Valores de p
% TTS com PtcCO ₂ > 50 mmHg	0 (0-100)	0 (0-81,3)	0,24
PtcCO ₂ , média	43,9 ± 6	42,3 ± 3,8	0,05
Pico de PtcCO ₂	48,7 ± 6,9	47,1 ± 4,3	0,11
Indivíduos com hipoventilação (%)	6 (12,5)	6 (6,5)	0,23

As variáveis contínuas são expressas como média ± DP ou como mediana (valor mínimo - valor máximo). PtcCO₂, pressão parcial de dióxido de carbono transcutâneo; SPW, síndrome de Prader-Willi; TTS, tempo total do sono.

A principal limitação do presente estudo é que o TTS não foi determinado através da pontuação combinada dos traçados de eletroencefalograma, eletro-oculograma e eletromiograma, mas sim estimado com base em parâmetros substitutos. A poligrafia subestima a gravidade da SAOS em comparação com a polissonografia porque os despertares eletroencefalográficos não são registrados. Dado que a poligrafia tem maior probabilidade de perder hipopneias resultando em despertares corticais do que hipopneias resultando em dessaturações, é possível que o IAHO possa ser mais subestimado em crianças com desenvolvimento típico do que naquelas com SPW devido à hipotonia e a respostas hipóxicas anormais potenciando a gravidade da hipoxemia nestas últimas. Consequentemente, as crianças com desenvolvimento típico poderiam ter pior SAOS do que a medida, o que reduziria a diferença medida da gravidade da hipoventilação entre os dois grupos do estudo.

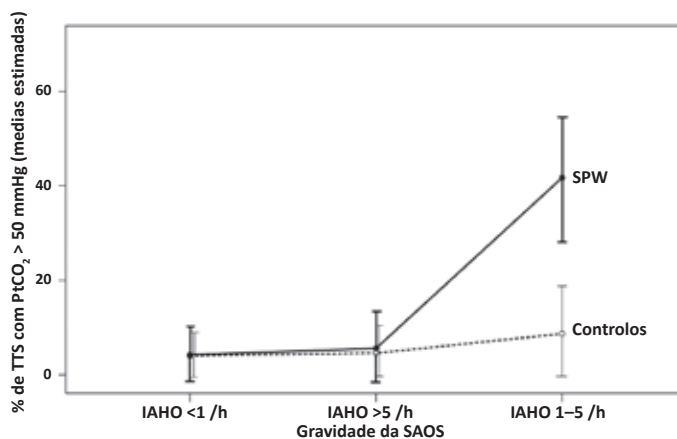
Neste estudo transversal, os controles foram selecionados para ter características semelhantes na *baseline* às dos doentes com SPW porque seria fisiologicamente insignificante comparar grupos de doentes em termos de ventilação noturna se estes grupos tivessem prevalência e gravidade de obesidade significativamente diferentes, frequência de eventos obstrutivos durante o sono e de idade. Como o desenho do presente estudo foi transversal e não caso-controle, não foi utilizado um modelo de regressão logística condicional que tivesse em consideração o emparelhamento dos doentes. Reconhecemos que, ao fazer isso, alguns dos erros padrão podem ter sido superestimados e, portanto, podem ter sido obtidos ICs maiores.

Em conclusão, as crianças com SPW e SAOS moderada a grave tendem a hipoventilar e, assim, tornar-se hipercápnicas por períodos mais longos do sono, em comparação com crianças com desenvolvimento típico e frequência semelhante de eventos obstrutivos. Esse fenômeno pode refletir uma reserva respiratória limitada e a incapacidade de aumentar a função respiratória e de manter a ventilação alveolar normal perante o aumento da carga respiratória mecânica. A maioria dos doentes com SPW têm apenas SAOS ligeira ou não têm SAOS, mas a gravi-

Quadro 3 Estimativas do modelo de regressão linear múltipla descrevendo os efeitos do diagnóstico de SPW e a gravidade da SAOS (variáveis independentes) e a sua interação na % de TTS com PtcCO₂ > 50 mmHg (*outcome*) ajustadas por idade, sexo e z-score do IMC

Variáveis	Estimativa	IC 95%	Valores de p
Interseção	38,7	25,2 a 55,2	<0,01
Diagnóstico			
Controles	-33,0	-48,6 a -17,5	<0,01
SPW	0		
Gravidade da SAOS			
IAHO <1 /h	-37,5	-51,8 a -23,2	<0,01
IAHO 1-5 /h	-36,1	-51,8 a -20,5	<0,01
IAHO >5 /h	0		
Interação do diagnóstico com a gravidade da SAOS			
Controlo × IAHO <1 /h	32,8	15,5 a 50,2	<0,01
Controlo × IAHO 1-5 /h	32,0	12,6 a 51,5	<0,01
Controlo × IAHO >5 /h	0		
SPW × IAHO <1 /h	0		
SPW × IAHO 1-5 /h	0		
SPW × IAHO >5 /h	0		
Idade	1,0	0,3 a 1,7	<0,01
Sexo	-1,3	-6,9 a 4,4	0,65
z-score do IMC	-0,5	-2,3 a 1,3	0,57

IMC, índice de massa corporal; IAHO, índice de apneia-hipopneia obstrutiva; SAOS, síndrome da apneia obstrutiva do sono; PtcCO₂, pressão parcial de dióxido de carbono transcutâneo; SPW, síndrome de Prader-Willi; TTS, tempo total do sono.

**Figura 2** Associação entre a gravidade da SAOS e % de TTS com PtcCO₂ > 50 mmHg em doentes com síndrome de Prader-Willi versus controles (valores médios estimados da equação de regressão linear múltipla); são apresentados ICs de 95%. IAHO, índice de apneia-hipopneia obstrutiva; SAOS, síndrome de apneia obstrutiva do sono; PtcCO₂, pressão parcial de dióxido de carbono transcutâneo; SPW, síndrome de Prader-Willi; TTS, tempo total do sono.

dade da obstrução das vias aéreas superiores pode aumentar durante uma infecção do trato respiratório superior ou durante o tratamento com hormona de crescimento. Para além do rastreio anual de rotina recomendado, incluindo pelo menos a oximetria noturna e a capnografia, os pediatras que seguem doentes com SPW devem ser alertados para a presença de sintomas e sinais indicativos de deterioração das DRS obstrutivas e consultar um centro de sono.

Colaboradores FA, H-LT e MM contribuíram para o conceito do estudo, desenho e análise de dados, e reviram criticamente o rascunho inicial e o último manuscrito no que toca ao conteúdo de relevância intelectual. VN, TC e AL contribuíram para o conceito e desenho do estudo, recolha e análise de dados, e reviram criticamente o manuscrito no que toca ao conteúdo de relevância intelectual. NB, EC e MS contribuíram para o conceito do estudo, desenho e análise de dados, e reviram criticamente o manuscrito no que toca ao conteúdo de relevância intelectual. AGK desenvolveu o conceito e projetou o estudo, contribuiu para a análise de dados, redigiu o manuscrito inicial e preparou a versão final do manuscrito. Todos os autores aprovaram a versão a ser submetida e publicada e concordaram em serem responsáveis por todos os aspetos do trabalho, garantindo que as questões relacionadas com a precisão ou integridade de qualquer parte do trabalho foram adequadamente investigadas e resolvidas. AGK tem acesso total a todos os dados do estudo e assume a responsabilidade pela integridade dos dados e pela precisão da análise dos mesmos. **Financiamento** Os autores não declararam nenhuma subvenção específica para esta pesquisa por parte de nenhuma agência de financiamento nos setores público, comercial ou sem fins lucrativos.

Conflitos de interesses Nenhum declarado.

Consentimento do doente Não foi necessário.

Aprovação ética O protocolo do estudo foi aprovado pela Health Research Authority, Reino Unido (REC referência 17 / LO / 0753, projeto IRAS ID 187417) e pelos departamentos locais de investigação dos dois hospitais.

Proveniência e revisão por pares Não comissionados; revisto externamente por pares.

Declaração de divulgação de dados Não existem dados adicionais não publicados.

REFERÊNCIAS

- Sedky K, Bennett DS, Pumariega A. Prader Willi syndrome and obstructive sleep apnea: co-occurrence in the pediatric population. *J Clin Sleep Med* 2014;10:403-9.
- Vandeleur M, Davey MJ, Nixon GM. Are sleep studies helpful in children with Prader-Willi syndrome prior to commencement of growth hormone therapy? *J Paediatr Child Health* 2013;49:238-41.
- Tan HL, Uthairat DS. Respiratory complications in children with Prader-Willi syndrome. *Paediatr Respir Rev* 2017;22:52-9.
- Uthairat DS, Gulliver T, Williams G, et al. Central sleep-disordered breathing and the effects of oxygen therapy in infants with Prader-Willi syndrome. *Arch Dis Child* 2013;98:592-5.
- Cohen M, Hamilton J, Narang I. Clinically important age-related differences in sleep related disordered breathing in infants and children with Prader-Willi syndrome. *PLoS One* 2014;9:e101012.
- Arens R, Gozal D, Omlin KJ, et al. Hypoxic and hypercapnic ventilatory responses in Prader-Willi syndrome. *J Appl Physiol* 1994;77:2224-30.
- Arens R, Gozal D, Burrell BC, et al. Arousal and cardiorespiratory responses to hypoxia in Prader-Willi syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:283-7.
- Zanella S, Tauber M, Muscatelli F. Breathing deficits of the Prader-Willi syndrome. *Respir Physiol Neurobiol* 2009;168:119-24.
- Nixon GM, Brouillette RT. Sleep and breathing in Prader-Willi syndrome. *Pediatr Pulmonol* 2002;34:209-17.
- Williams K, Scheimann A, Sutton V, et al. Sleepiness and sleep disordered breathing in Prader-Willi syndrome: relationship to genotype, growth hormone therapy, and body composition. *J Clin Sleep Med* 2008;4:111-8.
- Livingston FR, Arens R, Bailey SL, et al. Hypercapnic arousal responses in Prader-Willi syndrome. *Chest* 1995;108:1627-31.
- Paruthi S, Rosen CL, Wang R, et al. End-tidal carbon dioxide measurement during pediatric polysomnography: signal quality, association with apnea severity, and prediction of neurobehavioral outcomes. *Sleep* 2015;38:1719-26.
- Gozal D, Torres JE, Menendez AA. Longitudinal assessment of hypercapnic ventilatory drive after tracheotomy in a patient with the Prader-Willi syndrome. *Eur Respir J* 1996;9:1565-8.
- Berry RB, Budhiraja R, Gottlieb DJ, et al. Rules for scoring respiratory events in sleep: update of the 2007 AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events. Deliberations of the Sleep Apnea Definitions Task Force of the American Academy of Sleep Medicine. *J Clin Sleep Med* 2012;8:597-619.
- Schrander-Stumpel CT, Curijs LM, Sastrowijoto P, et al. Prader-Willi syndrome: causes of death in an international series of 27 cases. *Am J Med Genet* 2004;124A:333-8.
- Tauber M, Diene G, Molinas C, et al. Review of 64 cases of death in children with Prader-Willi syndrome (PWS). *Am J Med Genet A* 2008;146A:881-7.
- Bervini S, Herzog H. Mouse models of Prader-Willi syndrome: a systematic review. *Front Neuroendocrinol* 2013;34:107-19.
- Zanella S, Watrin F, Mabeck S, et al. Necdin plays a role in the serotonergic modulation of the mouse respiratory network: implication for Prader-Willi syndrome. *J Neurosci* 2008;28:1745-55.
- Pavone M, Caldarelli V, Khirani S, et al. Sleep disordered breathing in patients with Prader-Willi syndrome: a multicenter study. *Pediatr Pulmonol* 2015;50:1354-9.
- Miller J, Silverstein J, Shuster J, et al. Short-term effects of growth hormone on sleep abnormalities in Prader-Willi syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:413-7.
- Bakker NE, Lindberg A, Heissler J, et al. Growth hormone treatment in children with Prader-Willi syndrome: three years of longitudinal data in prepubertal children and adult height data from the KIGS database. *J Clin Endocrinol Metab* 2017;102:1702-11.
- Berini J, Spica Rusotto V, Castelnuovo P, et al. Growth hormone therapy and respiratory disorders: long-term follow-up in PWS children. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:E1516-E1523.
- Al-Saleh S, Al-Naimi A, Hamilton J, et al. Longitudinal evaluation of sleep-disordered breathing in children with Prader-Willi syndrome during 2 years of growth hormone therapy. *J Pediatr* 2013;162:263-8.
- Deal CL, Tony M, Hoybye C, et al. Growth Hormone Research Society workshop summary: consensus guidelines for recombinant human growth hormone therapy in Prader-Willi syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:E1072-E1087.
- Katz-Salamon M, Lindgren AC, Cohen G. The effect of growth hormone on sleep-related cardio-respiratory control in Prader-Willi syndrome. *Acta Paediatr* 2012;101:643-8.

Índices do volume pulmonar preditivos de morbilidade em fumadores com os valores de espirometria preservados

Siyang Zeng,^{1,2} Andrea Tham,^{1,3} Bruce Bos,^{1,4} Joan Jin,^{1,5} Brian Giang,^{1,2} Mehrdad Arjomandi^{1,2}

► Material adicional é publicado apenas *online*. Para visualizar visite o jornal *online* (<http://dx.doi.org/10.1136/thoraxjnl-2018-211881>).

¹Secção de Medicina, San Francisco Veterans Affairs Medical Center, São Francisco, Califórnia, EUA

²Departamento de Medicina, Universidade da Califórnia, São Francisco, Califórnia, EUA

³Faculdade de Medicina da Universidade do Sul da Califórnia, Los Angeles, EUA

⁴Faculdade de Medicina, Radboud University Medical Center, Nijmegen, Gelderland, Holanda

⁵Faculdade de Farmácia da Universidade de Illinois em Chicago, Chicago, Illinois, EUA

Correspondência para

Dr. Mehrdad Arjomandi, Divisão Pulmonar, Cuidados Intensivos, Alergia e Imunologia, e Medicina do Sono, Universidade da Califórnia, San Francisco Veterans Affairs Medical Center, São Francisco, CA 94121, EUA; mehrdad.arjomandi@ucsf.edu

SZ e AT contribuíram igualmente.

Recebido a 30 de março de 2018
Revisto a 19 de junho de 2018
Aceite a 25 junho de 2018
Publicado inicialmente *online* a 20 de julho de 2018



© O autor(es) (ou seu(s) empregador(es)) 2019. Não é permitida a reutilização comercial. Consultar direitos e autorizações. Publicado pelo BMJ.

Para citar: Zeng S, Tham A, Bos B, et al. Thorax 2019;74:114–124

RESUMO

Enquadramento Os volumes pulmonares anormais que refletem a retenção do ar são comuns na DPOC. No entanto, o seu significado em fumadores com valores de espirometria preservados (rácio normal de FEV₁ vs FVC) não é claro.

Métodos Utilizando o banco de dados da Veterans Administration Informatics and Computing Infrastructure, foram identificados 7479 doentes com risco de DPOC (que nunca foram fumadores >40 anos de idade sem doença pulmonar restritiva) que apresentavam valores de espirometria e as medições concomitantes do volume pulmonar preservados, e foram examinados os seus registos de saúde subsequentes ao diagnósticos de DPOC, utilização dos serviços de saúde, espirometrias de seguimento e mortalidade.

Resultados A retenção de ar foi prevalente, com 31% dos doentes a apresentarem um rácio volume residual vs capacidade pulmonar total (VR:CPT) maior que o limite superior normal (LSN). O rácio VR:CPT variou amplamente de 14% a 77% (51% a 204% do previsto) entre os intervalos normais do FEV₁:FVC e FEV₁. Os doentes com um rácio VR:CPT maior que o LSN foram mais propensos a terem diagnósticos clínicos subsequentes de DPOC (RR (95% IC) = 1,55 (1,42 a 1,70), p < 0,001) e tiveram maior mortalidade por todas as causas (HR (95%IC) = 1,41 (1,29 a 1,54), p < 0,001). Estes doentes apresentaram maiores taxas de prescrição de medicamentos respiratórios e de admissão em unidades hospitalares e em unidades de cuidados intensivos. Outros índices de retenção de ar e de hiperinsuflação estática apresentaram associações semelhantes com os resultados em saúde. Adicionalmente, o rácio VR:CPT normal superior foi associado a resultados adversos intermédios em saúde em comparação com o rácio VR:CPT normal inferior e anormal. O rácio VR:CPT anormal é preditivo de uma maior probabilidade de progressão da DPOC espirométrica (OR (IC95%) = 1,30 (1,03 a 1,65), p = 0,027).

Conclusão Neste estudo de registos de saúde eletrónicos dos Veterans Affairs, a retenção de ar foi comum em fumadores com valores de espirometria preservados e preditiva de resultados respiratórios adversos e de progressão de DPOC.

INTRODUÇÃO

A Global Initiative on Obstructive Lung Disease (GOLD) define DPOC como sendo uma redução absoluta do rácio FEV₁:FVC < 0,70 após administração de salbutamol (estádio 1), com os estádios mais avançados da DPOC definidos pela redução concomitante do FEV₁ como percentagem do predito.¹ Outros critérios enfatizam uma abordagem do limite inferior do normal previsto (LIN) em vez do rácio FEV₁:FVC, mas ainda assim baseiam-se nas mesmas métricas básicas da espirometria.^{2,3} Muitos fumadores atuais e ex-fumadores sem DPOC definida pelas GOLD (ou definida pelo LIN) apresentam sintomas respiratórios agudos e crónicos semelhan-

Mensagens-chave

Qual é a pergunta-chave?

► Poderão os volumes pulmonares prever a progressão da DPOC evidente em fumadores sem obstrução do fluxo aéreo?

Que conclusão foi alcançada?

► Esta análise retrospectiva dos registos eletrónicos de saúde dos Veterans Affairs dos EUA mostrou que os volumes pulmonares anormais que representam retenção de ar são comuns em fumadores sem DPOC e estão associados a uma maior utilização dos cuidados de saúde, morte e declínio da função pulmonar.

Porque vale a pena ler este artigo?

► É extremamente importante compreender os preditores da morbilidade e da progressão da doença em fumadores sem DPOC para o seu prognóstico e intervenção precoce.

tes aos da DPOC e podem desenvolver doença evidente.⁴⁻⁷ Assim, a capacidade de identificar os fumadores com valores de espirometria preservados (definida pelas GOLD ou pelo LIN) que estão em risco de desenvolver problemas respiratórios e a progressão da doença é de grande interesse para fins de prognóstico e de intervenção.

A retenção de ar, definida como aumento anormal do volume de ar remanescente nos pulmões no final da expiração, é uma manifestação de doenças pulmonares obstrutivas, incluindo a DPOC. A retenção de ar em pessoas com DPOC está associada a aumento da dispneia, redução da capacidade funcional e maior mortalidade.^{8,9}

No entanto, o seu significado clínico em fumadores sem DPOC (FEV₁:FVC e FEV₁ normais) é desconhecido. De facto, os volumes pulmonares anormais sugestivos de retenção de ar são rotineiramente ignorados na interpretação da função pulmonar quando os valores da espirometria estão preservados.

Neste estudo, colocamos a hipótese de que os doentes com risco de desenvolver DPOC devido ao tabagismo, mas com valores de espirometria preservados, com retenção de ar (e hiperinsuflação estática), medida através do volume residual (VR), da capacidade residual funcional (CRF), da capacidade inspiratória (CI) e das suas relações com a capacidade pulmonar total (CPT), tinham um aumento da morbilidade e mortalidade respiratória. Para testar esta hipótese, identificamos 7479

doentes da base de dados Veterans Administration Informatics and Computing Infrastructure (VINCI) com risco de DPOC devido ao tabagismo que tinham realizado um teste da função pulmonar (TFP) que apresentava valores concomitantes de volume pulmonar de espirometria preservados (definido pelo $FEV_1:FVC$ e $FEV_1 \geq LIN$). De seguida, revimos os registos eletrónicos de saúde (RES) subsequentes e determinamos se os doentes com retenção da ar tinham maior probabilidade de apresentar resultados adversos de saúde em comparação os que não apresentavam retenção de ar.

MÉTODOS

Desenho do estudo

Este foi um estudo retrospectivo dos RES disponíveis na base de dados VINCI da Veterans Health Administration (VHA) com doentes em risco de desenvolver DPOC (fumadores atuais ou ex-fumadores > 40 anos de idade) que já tinham realizado um TFP completo entre 1985 e 2017. Os registos médicos de doentes elegíveis foram consultados para quantificar a frequência dos *outcomes* respiratórios agudos e crónicos e a mortalidade subsequente ao seu primeiro TFP que incluiu espirometria pré e pós administração de salbutamato e a medição do volume pulmonar por pletismografia. Foi igualmente verificada a última espirometria pós-broncodilatação que estava disponível no RES. Os dados de mortalidade foram extraídos das notas documentadas de morte, e os doentes foram considerados vivos até a data da sua última consulta médica, após a qual foram considerados como perdidos no seguimento. Nos doentes com valores de espirometria preservados foi avaliada a utilidade dos índices de volume pulmonar do primeiro TFP para prever a ocorrência subsequente dos *outcomes* acima mencionados.

O estudo foi aprovado pelo University of California San Francisco Institutional Review Board e pelo Veterans Health Administration Research and Development Committee. Encontram-se disponíveis no apêndice complementar online o algoritmo detalhado de inclusão e exclusão e a codificação de diagnóstico da Classificação Internacional de Doenças (CID)-9 e CID-10.

População do estudo

Entre 1985 e 2017, foram documentados 127 940 doentes do VHA como tendo realizado o TFP completo, incluindo espirometria pós-broncodilatação e medição do volume pulmonar por pletismografia.

O objetivo do nosso estudo era focar em doentes com risco de DPOC, definidos como tendo > 40 anos de idade e diagnosticados como fumadores no momento da realização do TFP completo. O *status* de fumador foi atribuído através de diagnóstico documentado pelos códigos CID-9 ou CID-10 ou diagnóstico de fumador no relatório do TFP. Assim, foram excluídos 52 668 doentes que não foram considerados em risco de desenvolver DPOC. Foram ainda excluídos os doentes que apresentassem evidência de doença pulmonar restritiva no TFP, determinada por $CPT \leq 80\%$ ou $< LIN$, com diagnósticos de doenças pulmonares intersticiais ou doenças pulmonares alérgicas (exceto asma). Os doentes com diagnóstico de asma que foram considerados em risco de desenvolver DPOC não foram excluídos para evitar a exclusão dos doentes que apresentavam sobreposição de asma-DPOC. Os restantes 35 286 doentes foram excluídos por apresentarem valores anormais de espirometria ($FEV_1:FVC$ ou $FEV_1 < LIN$). No geral, estavam disponíveis dados referentes a 7479 doentes com risco de desenvolver DPOC, mas com valores de espirometria preservados provenientes de 37 centros dos Veterans Affairs Medical Centers nos EUA (figura 1). Os dados referentes aos outros centros dos Veterans Affairs Medical Centers não foram utilizados devido à indisponibilidade de dados codificados dos TFP na base de dados VINCI.

Análise estatística

Gestão de dados

Os valores previstos e os intervalos para as medições do TFP foram calculados utilizando as fórmulas previstas por Crapo,¹⁰⁻¹² exceto para a $CRF:CPT$, CI e $CI:CPT$ para os quais foram utilizados os dados de Quanjer *et al* e Francisco *et al*.^{2,13} Os doentes foram categorizados como tendo retenção de ar se tivessem $VR:CPT$ anormal (maior que o limite superior normal (LSN)). Os que apresentavam $VR:CPT$ normal, foram ainda categorizados em grupos normal-inferior e normal-superior em relação ao valor mediano da distribuição da $VR:CPT$ normal.

Outcomes

Os *outcomes* referentes aos cuidados de saúde, incluindo diagnósticos clínicos, prescrição de medicação respiratória, consultas de ambulatório, atendimentos em serviços de urgência,

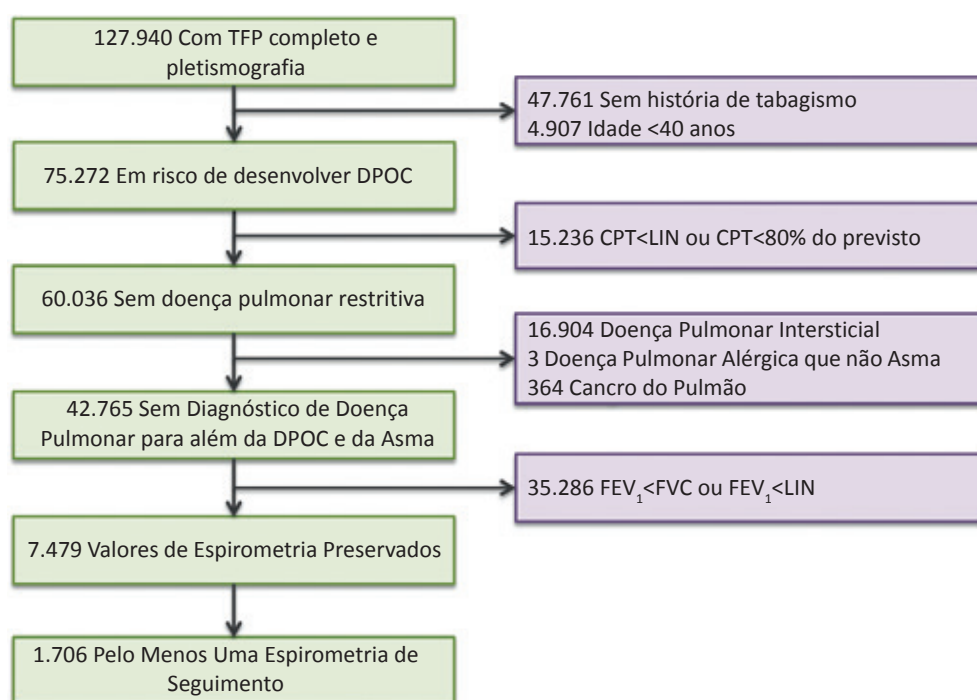


Figura 1 Fluxo dos indivíduos. LIN, limite inferior do normal; TFP, teste de função pulmonar; CPT, capacidade pulmonar total.

internamentos hospitalares e internamentos em unidades de cuidados intensivos (UCI) com um diagnóstico de DPOC e a mortalidade por todas as causas foram igualmente obtidos com base na codificação CID-9 e ICD-10 e nas informações sobre a prescrição, juntamente com as datas relevantes, conforme detalhado no apêndice suplementar [online](#).

Análises

Foi calculada a distribuição dos dados demográficos e da função pulmonar dos doentes e as diferenças entre os grupos de doentes foram analisadas utilizando o teste χ^2 , teste de Wilcoxon-Mann-Whitney e teste t de Student para comparação de variáveis binárias, ordinárias e contínuas, respetivamente. As correlações entre os índices de obstrução ao fluxo aéreo ($FEV_1:FVC$ e FEV_1) e retenção de ar (VR:CPT) foram avaliados através do teste de correlação de Pearson. Ao examinar os valores absolutos dos TFP, foram examinadas as correlações parciais e semiparciais para controlar as covariáveis idade, altura e sexo.

Foram utilizados modelos de regressão de riscos proporcionais de Cox para analisar a associação entre a retenção de ar e o “diagnóstico clínico de DPOC” e a “mortalidade por todas as causas”. Para cada doente foram analisadas as associações entre retenção de ar com dados agregados de ‘medicamentos respiratórios’, ‘visitas ao consultório’, ‘visitas ao serviço de urgência’, ‘internamentos hospitalares’ e ‘internamentos na UCI’ utilizando modelos de regressão de Poisson para avaliar as taxas de incidência desses eventos de acordo com o tempo de seguimento. Uma vez que o tempo que mediou o TFP e a última espirometria de seguimento não reflete o tempo durante o qual o doente desenvolveu realmente a DPOC espirométrica, foi analisada a associação entre a retenção de ar e a progressão da DPOC (“DPOC na espirometria de seguimento”) utilizando o modelo de regressão logística de efeito misto, em vez do risco proporcional de Cox. Para realizar esta análise, o tempo até à espirometria de seguimento foi dividido em quartis e incluído no modelo como variável de efeito aleatório. Da mesma forma, o modelo de regressão linear de efeito misto foi utilizado para avaliar as associações entre a retenção de ar e as alterações nos índices espirométricos.

Todos os modelos incluíram valores absolutos da função pulmonar ajustados internamente para idade, sexo e altura com base na decisão tomada inicialmente.

As análises de sensibilidade foram realizadas excluindo doentes com características específicas que poderiam atuar como confundidores, incluindo obesidade, asma, reversibilidade do FEV_1 ou do FVC e com fluxo expiratório forçado médio (FEF_{25-75}) menor que o LIN individualmente. Para examinar qualquer possível efeito específico do centro médico, foram realizadas análises de sensibilidade adicionais ajustando os grupos em modelos de riscos proporcionais de Cox ou incluindo noutros modelos os centros como um efeito aleatório.

As comparações dos gráficos de linhas foram feitas no GraphPad Prism (V.7.0c; GraphPad Software, La Jolla, Califórnia, EUA). A gestão de dados, a geração de figuras e de gráficos da regressão de riscos proporcionais de Cox foram feitos utilizando o R (V.3.3.2; R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria). As outras análises de dados foram realizadas no STATA V.14.1.

RESULTADOS

Características dos indivíduos

Nesta coorte VINCI de 7479 doentes com risco de desenvolver DPOC, mas com valores de espirometria preservados, o VR:CPT no primeiro TFP disponível foi acima do LSN em 30,8%, enquanto numa fração menor de doentes (<5%) os outros valores de retenção de ar e hiperinsuflação estática (CRF, CRF: CPT, CI e CI:CPT) foram anormais (Quadro 1 e apêndice suplementar [online](#)). O grupo de doentes que apresentavam o VR:CPT anormais eram um pouco mais velhos, incluía uma

proporção maior de homens e, em geral, tinham piores índices de fluxo aéreo e de retenção de ar quando comparados com os doentes que apresentavam VR:CPT normal.

Relação entre volume pulmonar e os índices de fluxo aéreo

Para examinar a distribuição da retenção de ar pelos índices de fluxo aéreo, o $FEV_1:FVC$ e FEV_1 foram estratificados em incrementos de 5% com base nos seus valores previstos e mapeados *versus* o VR:CPT (figura 2). O VR:CPT variou entre 14% e 77% (51% a 204% do previsto) e variou amplamente a cada incremento de $FEV_1:FVC$ e FEV_1 , com valores entre 150% e 143% do previsto, correspondendo a coeficientes de variação (desvio padrão (DP) para o rácio médio) de 18,9% e 25,2%, respetivamente.

Associação entre os índices de volume pulmonar e os *outcomes* em saúde

Retenção de ar e *outcomes* em saúde

O tempo médio de seguimento disponível foi de $8,6 \pm 4,8$ anos (tempo mediano de 8,2 anos, com intervalo interquartil (IQR -Interquartile Rang) de 4,6 a 12,2 anos e um intervalo total de 1 a 24 anos). Durante este período de seguimento, dos doentes com valores de espirometria preservados os que apresentaram um VR:CPT anormal, foram mais propensos a terem diagnósticos de DPOC (RR (IC 95%) = 1,55 (1,42 a 1,70), $p < 0,001$) e a terem maior mortalidade por todas as causas (RR (IC 95%) = 1,41 (1,29 a 1,54), $p < 0,001$) em comparação com os que tinham um VR:CPT normal (ajustado para as covariáveis incluindo anos de seguimento) (Quadro 2). Também tiveram um aumento na taxa de prescrição de medicação respiratória e maior ocorrência de consultas de ambulatório, consultas de urgência, internamentos hospitalares e internamentos nas UCI com diagnósticos de DPOC (Quadro 2). Adicionalmente, os doentes com VR:CPT anormal, tiveram um período de tempo reduzido até ao aparecimento de doenças relacionadas com a DPOC e morte por todas as causas comparativamente com os que apresentavam um VR:CPT normal (figura 3). Resultados semelhantes foram observados quando foram utilizados nessas análises o CRF, CRF:CPT, CI ou CI:CPT em substituição do VR:CPT, com exceção do número de prescrições de medicamentos respiratórios (apêndice suplementar [online](#)).

Retenção de ar e *outcomes* em saúde com a inclusão dos índices de fluxo de aéreo

A inclusão dos índices de fluxo aéreo ($FEV_1:FVC$, FEV_1 e FEF_{25-75}) na análise multivariada não afetou a associação observada da retenção de ar, dos diagnósticos de DPOC, dos medicamentos respiratórios, das consultas, dos internamentos hospitalares ou da mortalidade com o VR:CPT no índice do TFP, tendo este permanecido um preditor independente para esses *outcomes* (Quadro 2).

VR:CPT normal e *outcomes* em cuidados de saúde

Para examinar mais detalhadamente a relação entre o gradiente dos volumes pulmonares e os *outcomes* em saúde, examinamos a VR:CPT como uma variável contínua e descobrimos que tem associações semelhantes com os *outcomes* em saúde (Quadro 2). Por exemplo, cada aumento de 10% no VR:CPT (valor absoluto) no índice do TFP resultou num aumento de 33% na probabilidade de ter um diagnóstico de DPOC, mais 31% de internamentos relacionados com a DPOC e mais 2% de probabilidade de morrer por qualquer causa durante o período de seguimento.

Adicionalmente, quando estratificamos os doentes com VR:CPT normal em grupos superiores e inferiores em relação à mediana do VR:CPT, verificamos que os que apresentavam um VR:CPT normal superior registavam um aumento geral na ocorrência de *outcomes* adversos relacionados com a DPOC comparativamente com os que apresentavam um VR:CPT normal inferior, mas com redução da ocorrência dos mesmos em comparação com os que apresentavam um VR:CPT anormal (figura 4).

Quadro 1 Características de todos os indivíduos

Características	Todos os doentes	Doentes com VR:CPT normal	Doentes com VR:CPT anormal	Diferença (IC 95%)	Valores de P
Demografia					
n	7479	5179	2300	-	-
Idade (anos)	61,7±10,8	60,8±10,7	63,6±10,8	-2,8 (-3,3 a 2,3)	<0,001
Sexo (feminino), n (%)	560 (7,5)	477 (9,2)	83 (3,6)	5,6% (4,5 a 6,7)	<0,001
Altura (cm)	174,6±7,8	174,9±7,8	173,7±7,7	1,2 (0,8 a 1,6)	<0,001
IMC (kg/m ²)	29,5±5,7	29,5±5,7	29,5±5,9	-0,03 (-0,3 a 0,3)	0,853
Anos de seguimento	8,6±4,8	8,5±4,7	8,8±5,0	-0,3 (-0,5 a 0,7)	0,009
Índices de fluxo aéreo					
FEV ₁ (L)	3,09±0,59	3,18±0,59	2,90±0,54	0,28 (0,25 a 0,30)	<0,001
FEV ₁ (% previsto)	89±10	90±10	84±8	6,0 (5,5 a 6,5)	<0,001
FVC (L)	4,02±0,77	4,12±0,77	3,80±0,71	0,33 (0,29 a 0,36)	<0,001
FVC (% previsto)	90±11	92±11	86±9	5,7 (5,1 a 6,2)	<0,001
FEV ₁ :FVC (%)	77,0±4,8	77,2±4,9	76,5±4,7	0,7 (0,5 a 0,9)	<0,001
FEV ₁ :FVC (% previsto)	98±6	99±6	98±6	0,6 (0,3 a 0,9)	<0,001
FEF ₂₅₋₇₅ (L)	2,85±0,95	2,93±0,97	2,68±0,88	0,25 (0,20 a 0,30)	<0,001
FEF ₂₅₋₇₅ (% previsto)	86±25	88±25	82±22	5,3 (4,1 a 6,5)	<0,001
Reversibilidade do FEV ₁ (mL)	186±204	167±192	227±222	-59 (-69 a 49)	<0,001
Reversibilidade do FEV ₁ (%)	7±9	6±7	9±10	-3,3 (-3,7 a 2,8)	<0,001
Reversibilidade do FEV ₁ , n (%)	3050 (40,8)	1929 (37,3)	1121 (48,7)	-11% (-14 a 9)	<0,001
Índices de volume pulmonar					
CPT (L)	6,64±1,08	6,46±1,01	7,05±1,11	-0,59 (-0,64 a 0,54)	<0,001
CPT (% previsto)	99±12	96±11	106±13	-9,6 (-10,1 a 9,0)	<0,001
VR (L)	2,62±0,75	2,29±0,51	3,37±0,68	-1,08 (-1,11 a 1,06)	<0,001
VR (% previsto)	118±32	104±20	151±28	-48 (-49 a 47)	<0,001
CRF (L)	3,56±0,87	3,34±0,77	4,07±0,86	-0,73 (-0,77 a 0,69)	<0,001
CRF (% previsto)	102±23	96±19	118±23	-22 (-23 a 21)	<0,001
CI (L)	3,06±0,73	3,11±0,73	2,96±0,71	0,15 (0,11 a 0,19)	<0,001
CI (% previsto)	73±14	74±15	72±14	2 (1 a 3)	<0,001
VR:CPT (%)	39±8	35±6	48±5	-12,3 (-12,6 a 12,0)	<0,001
VR:CPT (% previsto)	117±21	106±14	141±13	-35 (-36 a 34)	<0,001
CRF:CPT (%)	54±9	52±9	58±8	-6,1 (-6,5 a 5,6)	<0,001
CRF:CPT (% previsto)	95±15	92±15	101±13	-9,6 (-10,4 a 8,8)	<0,001
CI:CPT (%)	46±9	48±9	42±8	6,1 (5,6 a 6,5)	<0,001
CI:CPT (% previsto)	93±21	96±21	87±19	9,3 (8,2 a 10,4)	<0,001

Os valores de P para comparações significativas são apresentados a negrito.

Demografia e função pulmonar em doentes com valores de espirometria preservados. Os doentes foram estratificados de acordo com o limite superior do normal do VR:CPT anormal e normal. Os dados são apresentados como média± DP ou número de doentes com valor positivo para a variável (n) do total de doentes (N) e percentagem de doentes (%) e diferença (IC 95%) com o valor de p para comparação não ajustada entre VR:CPT normal e anormal. Equações de referência: Os valores da função pulmonar e % do previsto dos valores normais foram calculados utilizando as fórmulas desenvolvidas por Crapo (Crapo *et al.*^{11,12} 1981 e 1982), exceto para o CRF:CPT, CI e CI:CPT. As fórmulas desenvolvidas por Quanjer foram utilizadas para o CRF:CPT e CI (Quanjer *et al.*² 1993), e as fórmulas desenvolvidas por Francisco foram utilizadas para CI:CPT (Francisco *et al.*¹³ 2009). Reversibilidade definida como aumento ≥ 12% e ≥200 mL no FEV₁ após administração de broncodilatador.

IMC, índice de massa corporal; FEF₂₅₋₇₅, fluxo expiratório forçado médio; CRF, capacidade residual funcional; CI, capacidade inspiratória; VR, volume residual; CPT, capacidade pulmonar total.

Associação entre os índices de volume pulmonar e a progressão da DPOC espirométrica

Procuramos verificar se algum dos doentes tinha realizado uma espirometria pós-broncodilatação de seguimento após a determinação do índice de TFP e analisamos a última espirometria que estava disponível no seu registo. Encontramos 1706 doentes (582 (34%) com VR:CPT anormal) que tinham realizado esta espirometria 4,1 ± 3,1 anos após a determinação do índice TFP (tempo médio de 3,3 anos com um IQR de 1,8-5,6 anos) (Quadro 3). O intervalo de tempo que decorreu entre a determinação do índice TFP e a realização da espirometria de seguimento foi ligeiramente mais longo nos doentes que apresentavam um VR:CPT anormal (diferença de 0,8 anos (IC 95% 0,5 a 1,1 anos), p<0,001). Os doentes com VR:CPT anormal foram mais propensos a desenvolver DPOC espirométrica (OR (IC 95%)=1,30 (1,03 a 1,65), p=0,027; ajustado aos anos de seguimento).

Nos modelos que analisaram a alteração dos índices espirométricos de uma forma contínua, a alteração no FEV₁ não foi diferente entre os que apresentavam um VR:CPT anormal em comparação com os que apresentavam valores normais (p=0,889) (figura 5). No entanto, os que apresentavam um VR:CPT anormal tiveram um aumento significativo na FVC (p=0,041), o que resultou num declínio relativamente maior do FEV₁:FVC em comparação com os que tinham um VR:CPT normal (p=0,001) (figura 5).

Análise de sensibilidade

No geral, 41,4% dos doentes eram obesos (índice de massa corporal > 30), 21,4% tinham diagnóstico de asma, 40,8% tinham reversibilidade (≥12% e ≥200 mL de aumento no FEV₁ após administração de broncodilatador), e o FVC e o FEF₂₅₋₇₅ foram menores do que o LIN em 4,1% e 1,2% dos doentes, respetivamente. As análises de sensibilidade com exclusão dos doentes com obesidade, asma, reversibilidade do FEV₁ ou FVC e FEF₂₅₋₇₅ <LIN não alteraram as associações observadas. As análises de sensibilidade adicionais ajustadas aos centros do Veterans Affairs Medical Center não afetaram os resultados.

A análise de sensibilidade utilizando os critérios GOLD para definir a DPOC e determinar quais os que apresentavam valores de espirometria preservados apresentou resultados semelhantes (apêndice complementar [online](#)).

DISCUSSÃO

Neste estudo de 7479 fumadores atuais e ex-fumadores com valores de espirometria preservados do VHA, encontramos que (1) a retenção de ar foi prevalente, com aproximadamente um terço dos doentes em risco de desenvolver DPOC, mas com valores de espirometria preservados com VR:CPT> LSN; (2) os índices de retenção de ar variaram amplamente dentro da faixa dos índices espirométricos usados para a definição da DPOC (FEV₁:FVC e FEV₁); (3) doentes com retenção de ar (VR:CPT> LSN) tinham maior probabilidade de receber diagnósticos clínicos de DPOC, ter maior mortalidade por todas as causas e maior

A relação entre o VR, CPT e os *outcomes* em cuidados de saúde respiratórios, relacionados com um diagnóstico de DPOC, foi estimada utilizando a regressão de riscos proporcionais de Cox para o tempo que medeia até a obtenção de *outcomes*, a regressão de Poisson para a contagem dos *outcomes*, ou a regressão logística de efeitos mistos para os resultados binários ajustados para idade, sexo, altura e anos de seguimento. Resultados de cuidados de saúde = $80 - \beta_1$ (idade) + β_2 (sexo) + β_3 (altura) + β_4 (anos de seguimento) + β × (índice de função pulmonar). No quadro são apresentados o modelo dos coeficientes de determinação (R^2), RRR e OR com IC 95% e valores de p dos preditores. As associações significativas são apresentadas a negrito. $n = 7479$, salvo indicação em contrário.

*Espirometria de seguimento (última espirometria pós-broncodilatadora disponível) estava disponível para um subgrupo de doentes ($n = 1706$). Os modelos foram ajustados ao momento em foi realizado o índice de função pulmonar para a espirometria de seguimento em alternativa aos anos de seguimento.

SU, serviço de urgência; FEF₂₅₋₇₅, fluxo expiratório forçado médio; UCI, unidade de cuidados intensivos; IRR, rácio da taxa de incidência; VA, não aplicável; VR, volume residual; CPT, capacidade pulmonar total.

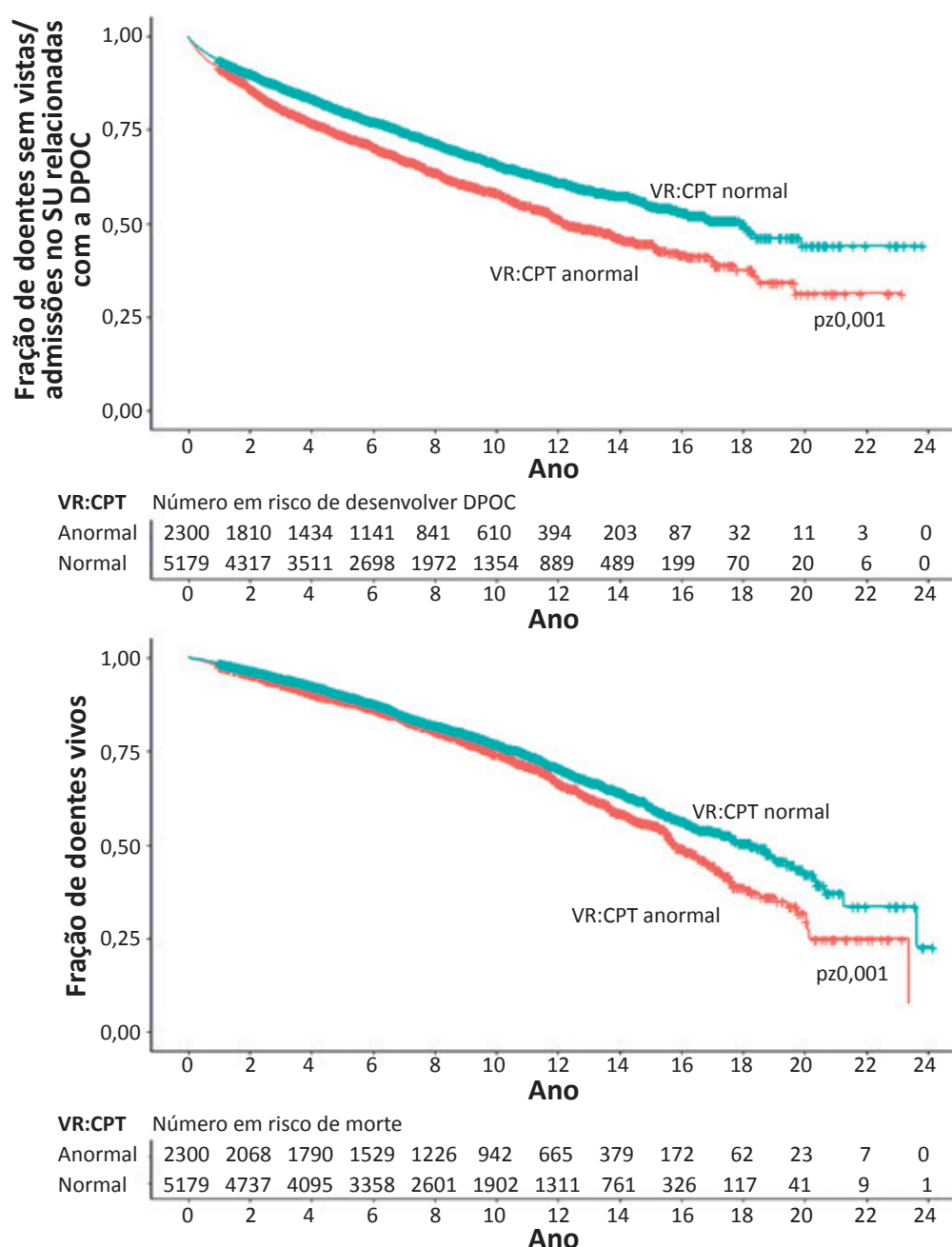


Figura 3 Curvas de sobrevivência para indivíduos dicotomizados com base no limite superior do normal do VR:CPT. As curvas de sobrevivência representam as taxas de sobrevivência em relação ao tempo de seguimento entre os indivíduos com VR:CPT normal (azul) em comparação com os que apresentaram VR:CPT anormal (vermelho). As doenças respiratórias incluem atendimentos no serviço de urgência, internamentos hospitalares e internamentos em unidades de cuidados intensivos. VR:CPT anormal: VR:CPT maior que o limite superior do normal; Valor de p: significância das comparações das taxas de sobrevivência geradas por análise de regressão de riscos proporcionais de Cox (idade, sexo e estatura). SU, serviço de urgência; VR, volume residual; CPT, capacidade pulmonar total.

fluxo aéreo espirométrico geralmente utilizados para definir e avaliar a gravidade da DPOC não foram considerados preditores confiáveis da futura progressão da doença nesses doentes, e similarmente a sua utilidade no prognóstico em fumadores com valores de espirometria preservados permanece incerta.^{16,17}

Muitos estudos documentaram a importância da retenção de ar em doentes com DPOC declarada e a sua associação com o aumento da morbilidade e mortalidade.¹⁸⁻²² Outros demonstraram que nos casos de doença ligeira ou em fumadores sem DPOC definida pelas GOLD, a retenção de ar e a hiperinsuflação podem estar associadas a uma deficiência fisiológica clinicamente importante para além das informações fornecidas pela espirometria.^{15,23} Recentemente, num estudo realizado em indivíduos com risco de desenvolver DPOC devido à exposição ocupacional pesada ao fumo passivo do tabaco, mas com valores de espirometria preservados, mostramos que o VR:CPT estava negativamente associado à capacidade de exercício, com

os indivíduos que tiveram valores de VR:CPT $\geq 90\%$ do previsto apresentando metade da probabilidade de atingir a capacidade máxima de exercício prevista.^{24,25} O nosso estudo atual revela ainda a importância dos volumes pulmonares que representam a retenção de ar, na predição de morbilidade respiratória e progressão manifesta para doença em fumadores com risco de desenvolverem DPOC, mas com valores de espirometria preservados de uma forma longitudinal. Descobrimos que, na presença de valores de espirometria preservados, os fumadores com retenção de ar (VR:CPT > LSN) eram mais propensos a ter diagnósticos clínicos subsequentes de DPOC, um provável indicador da avaliação dos sintomas respiratórios dos doentes por parte dos profissionais. Corroborando este resultado a taxa de prescrição de medicação respiratória foi a maior e a utilização de cuidados de saúde relacionados com a DPOC em comparação com os que não apresentavam retenção de ar. O nosso estudo não relatou uma causa específica de morte dos doentes,

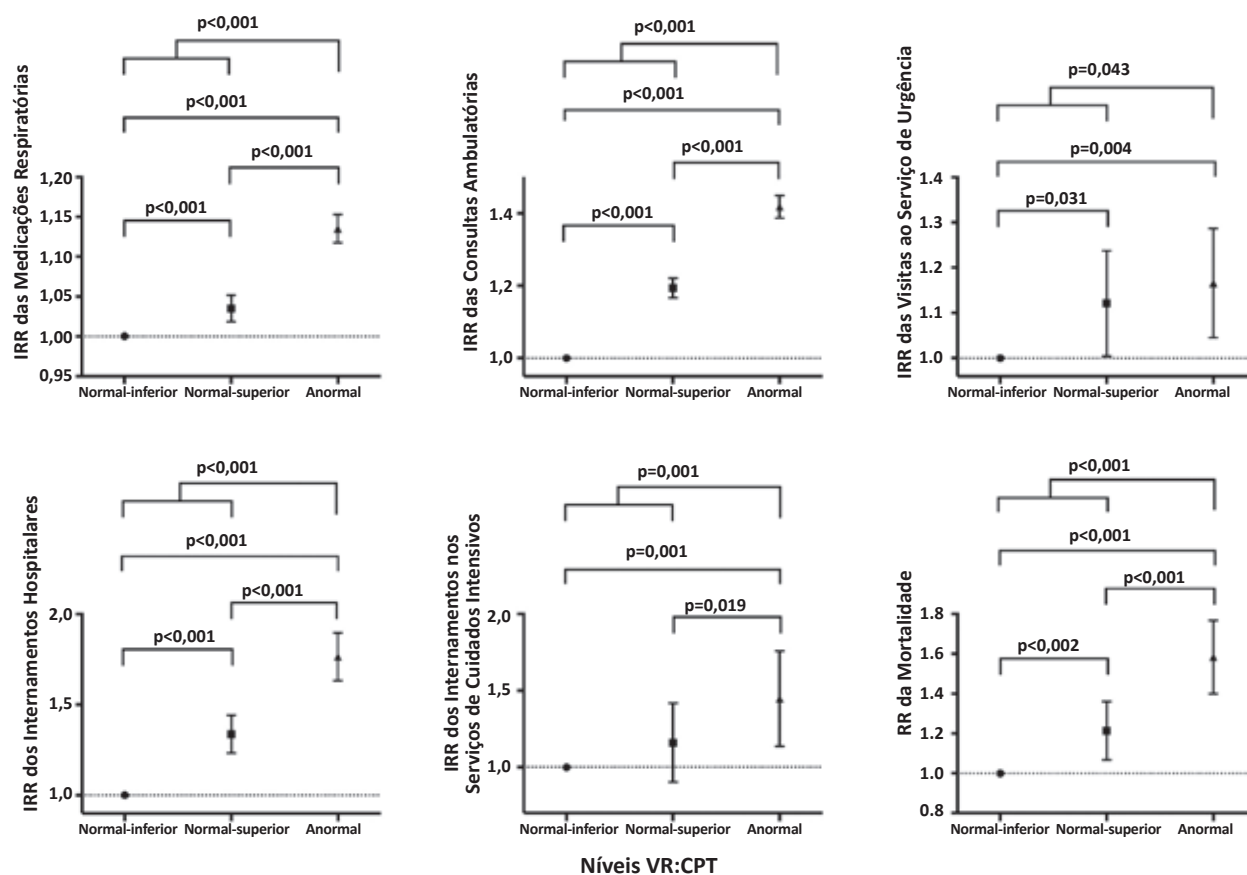


Figura 4 Relação entre os resultados em saúde com o nível de VR:CPT. Os gráficos representam o rácio da taxa de incidência (IRR) e o rácio do risco (RR) com ICs de 95% das análises de regressão de risco proporcional de Poisson e Cox, respetivamente, da associação entre *outcomes* em saúde e os níveis de VR:CPT relativos ao grupo de referência (indivíduos com VR:CPT normal inferior). Os valores a negrito representam os valores de p com significância. FEV₂₅₋₇₅ fluxo expiratório forçado médio; VR, volume residual; CPT, capacidade pulmonar total.

mas pudemos observar um aumento no número de internamentos hospitalares e nas UCI relacionados com a DPOC, o que pode sugerir que pelo menos parte do aumento de mortalidade deveu-se a complicações respiratórias relacionadas com a DPOC. No entanto, a retenção de ar, particularmente se o seu aumentado se deve ao aumento das necessidades respiratórias, pode causar alterações significativas nas pressões intratorácicas, e os estudos mostraram que as suas consequências podem estender-se para além dos pulmões para outros sistemas de órgãos, incluindo a função cardiovascular.²⁶⁻²⁹ Assim, a identificação desses doentes num estágio inicial pode auxiliar nas intervenções relacionadas as complicações pulmonares, cardiovasculares e de outros sistemas. No geral, esses resultados demonstram que a medição do volume pulmonar que representa a retenção de ar nos doentes com risco de desenvolverem DPOC poderia identificar subgrupos suscetíveis a complicações de saúde e de progressão da doença.

Atualmente, não existem recomendações definitivas para a utilização da medição pletismográfica específica na avaliação da doença pulmonar obstrutiva. A VR:CPT tem sido amplamente adotada devido à sua forte associação com o grau de obstrução ao fluxo aéreo na DPOC.^{30,31} Embora essa associação fosse mais fraca na nossa coorte de fumadores com valores de espirometria preservados e sem obstrução do fluxo aéreo, o VR:CPT permaneceu preditiva de morbilidade e mortalidade. Pensa-se que o VR:CPT é sensível na deteção de pequenas alterações no volume pulmonar,³² e os aumentos no VR são a anomalia funcional mais precocemente observada em grandes fumadores com bronquite crónica.³³ Corbin *et al*³⁴ mostraram aumentos no VR e, em menor extensão, da CPT ao longo de 4 anos de seguimento de fumadores, apesar dos valores estáveis de FEV₁:FVC. Foram igualmente estudadas outras medições de retenção de ar e hiperinsuflação estática, incluindo a CRF, a CI e o seu rácio com a CPT e o seu valor preditivo de DPOC.

Casanova e col.³⁵ relataram um aumento na mortalidade respiratória e mortalidade geral em doentes com DPOC quando o CI:CPT desceu abaixo de 25%. No nosso estudo em fumadores com valores de espirometria preservados, a prevalência de CRF, CI, CRF:CPT ou CI anormais foi substancialmente inferior do que o VR:CPT anormal. No entanto, esses índices foram associados a *outcomes* adversos em saúde.

É intrigante que os fumadores com valores de espirometria preservados tenham uma distribuição tão ampla dos índices de VR:CPT relativamente ao fluxo aéreo, particularmente porque a retenção de ar é geralmente considerada uma consequência da obstrução do fluxo aéreo. Entretanto, a destruição do tecido pulmonar, como poderia ocorrer com o tabagismo, pode também contribuir para o desenvolvimento de retenção de ar devido à perda de elasticidade pulmonar, descolamento de pequenas vias aéreas e subsequente aumento da oclusão e retenção de ar.³⁶ Uma descoberta notável do nosso estudo foi que o VR:CPT anormalmente alto foi alcançado principalmente devido a um aumento substancial no volume do VR e não por uma diminuição no volume da CPT, e de facto a CPT estava ligeiramente elevada nos doentes com VR:CPT anormal em comparação com os que tinham VR:CPT normal. Este resultado também implica uma perda de elasticidade do tecido pulmonar, juntamente com a pressão de expiração dos pulmões por parte da parede torácica como mecanismo que contribui neste estágio inicial da doença. Curiosamente, durante o período de seguimento disponível no nosso estudo, a maior taxa de progressão de DPOC espirométrica entre os que apresentavam um VR:CPT anormal parece ter sido devida a um aumento relativo na FVC, em vez de se dever a qualquer diminuição no FEV₁, possivelmente implicando expansão compensatória da cavidade torácica e aumento da CPT como mecanismo responsável, conforme explicado a seguir. Os estudos radiográficos demonstraram que a retenção de ar é um processo regional com o envolvimento e não envolvimento de forma desi-

Quadro 3 Características dos indivíduos que realizaram espirometria de seguimento

Características	Todos os doentes com espirometria de seguimento	Doentes com VR:CPT normal	Doentes com VR:CPT anormal	Diferença (IC 95%)	Valores de P
Demografia					
n (% da coorte do estudo)	1706 (22,8)	1124 (21,7)	582 (25,3)	-3,6% (-5,7 a 1,5)	<0,001
Idade (anos)	61,3±10,4	60,9±10,3	62,1±10,6	-1,2 (-2,2 a 0,2)	0,023
Sexo (feminino), n (%)	123 (7,2)	109 (9,7)	14 (2,4)	7,3% (5,2 a 9,4)	<0,001
Altura (cm)	174,7±7,8	175±7,9	173,±17,7	1,1 (0,3 a 1,9)	0,006
IMC (kg / m ²)	29,7±5,6	29,7±5,6	29,6±5,7	0,004 (-0,6 a 0,6)	0,989
Anos de seguimento	10,3±4,6	10,0±4,6	10,8±4,6	-0,8 (-1,3 a 0,3)	<0,001
Índices de fluxo de aréio na baseline					
FEV ₁ (L)	3,07±0,58	3,15±0,60	2,93±0,52	0,22 (0,16 a 0,28)	<0,001
FEV ₁ (% previsto)	88±9	90±10	84±8	5,7 (4,8 a 6,6)	<0,001
FVC (L)	4,00±0,76	4,09±0,78	3,82±0,68	0,27 (0,20 a 0,34)	<0,001
FVC (% previsto)	89±10	91±11	86±9	5,4 (4,4 a 6,4)	<0,001
FEV ₁ :FVC (%)	77,0±4,8	77,1±4,9	76,7±4,6	0,4 (-0,1 a 0,9)	0,093
FEV ₁ :FVC (% previsto)	98,3±5,8	98,5±5,8	97,9±5,7	0,58 (0,004 a 1,16)	0,048
FEF ₂₅₋₇₅ (L)	2,85±0,94	2,92±0,97	2,73±0,85	0,19 (0,10 a 0,28)	<0,001
FEF ₂₅₋₇₅ (% previsto)	86±24	87±25	82±21	5,4 (3,1 a 7,8)	<0,001
Reversibilidade do FEV ₁ (mL)	187±207	173±198	216±220	-43 (-64 a 22)	<0,001
Reversibilidade do FEV ₁ (%)	7±9	6±8	9±11	-2,5 (-3,5 a 1,6)	<0,001
Reversibilidade do FEV ₁ , n (%)	709 (41,6)	435 (38,7)	274 (47,1)	-8,4% (-13,3 a 3,4)	<0,001
Índices de volume pulmonar					
CPT (L)	6,67±1,09	6,44±1,01	7,12±1,10	-0,68 (-0,78 a 0,57)	<0,001
CPT (% previsto)	100±12	96±10	107±13	-10,5 (-11,7 a 9,4)	<0,001
VR (L)	2,67±0,77	2,30±0,50	3,39±0,69	-1,09 (-1,14 a 1,03)	<0,001
VR (% previsto)	121±33	104±20	154±29	-50 (-52 a 48)	<0,001
CRF (L)	3,57±0,86	3,33±0,74	4,07±0,86	-0,74 (-0,83 a 0,66)	<0,001
CRF (% previsto)	103±23	95±19	118±23	-22 (-24 a 20)	<0,001
CI (L)	3,10±0,71	3,12±0,71	3,06±0,69	0,06 (-0,02 a 0,14)	0,121
CI (% previsto)	74±14	94±14	73±14	1,3 (-0,2 a 2,8)	0,089
VR:CPT (%)	40±8	36±6	48±5	-11,7 (-12,3 a 11,2)	<0,001
VR:CPT (% previsto)	119±22	107±14	143±14	-36 (-37 a 34)	<0,001
CRF:CPT (%)	53±9	52±8	57±8	-5 (-6 a 4)	<0,001
CRF:CPT (% previsto)	95±15	92±14	101±13	-9 (-10 a 7)	<0,001
CI:CPT (%)	47±8	48±8	43±7	5,4 (4,5 a 6,2)	<0,001
CI:CPT (% previsto)	93±20	96±19	86±19	10 (8 a 12)	<0,001
Espirometria de seguimento*					
Idade na espirometria de seguimento (anos)	65,4±10,4	64,7±10,3	66,7±10,4	-2,0 (-3,0 a 1,0)	<0,001
Altura na espirometria de seguimento (cm)	174±8,0	174,9±8,1	173,8±7,8	1,1 (0,3 a 1,9)	0,007
Tempo que decorreu entre a definição do índice CPT até a espirometria de seguimento (anos)	4,1±3,1	3,8±2,9	4,6±3,3	-0,8 (-1,1 a 0,5)	<0,001
FEV ₁ (L)	2,69±0,65	2,77±0,65	2,53±0,62	0,25 (0,18 a 0,31)	<0,001
FEV ₁ (% previsto)	79±15	81±15	75±14	6,5 (5,0 a 7,9)	<0,001
FVC (L)	3,67±0,84	3,75±0,86	3,51±0,80	0,25 (0,16 a 0,33)	<0,001
FVC (% previsto)	84±15	86±15	81±14	4,8 (3,3 a 6,3)	<0,001
FEV ₁ :FVC (%)	74±8	74±8	72±8	2,0 (1,2 a 2,8)	<0,001
FEV ₁ :FVC (% previsto)	95±10	95±10	93±10	2,5 (1,5 a 3,5)	<0,001
FEF ₂₅₋₇₅ (L)	2,26±0,98	2,38±1,00	2,04±0,88	0,34 (0,24 a 0,43)	<0,001
FEF ₂₅₋₇₅ (% previsto)	72±29	75±29	65±25	10,0 (7,2 a 12,8)	<0,001

Valores de P para comparações com significância são apresentados a negrito.

Demografia e função pulmonar em doentes com valores de espirometria preservados. Os doentes foram estratificados de acordo com VR:CPT anormal e normal pelo limite superior do normal. Os dados são apresentados como média ± DP ou número de doentes com valor positivo para a variável (n) do total de doentes (N) e percentagem de doentes (%) e a diferença (IC 95%) com valor de p para a comparação não ajustada entre o VR:CPT normal e anormal.

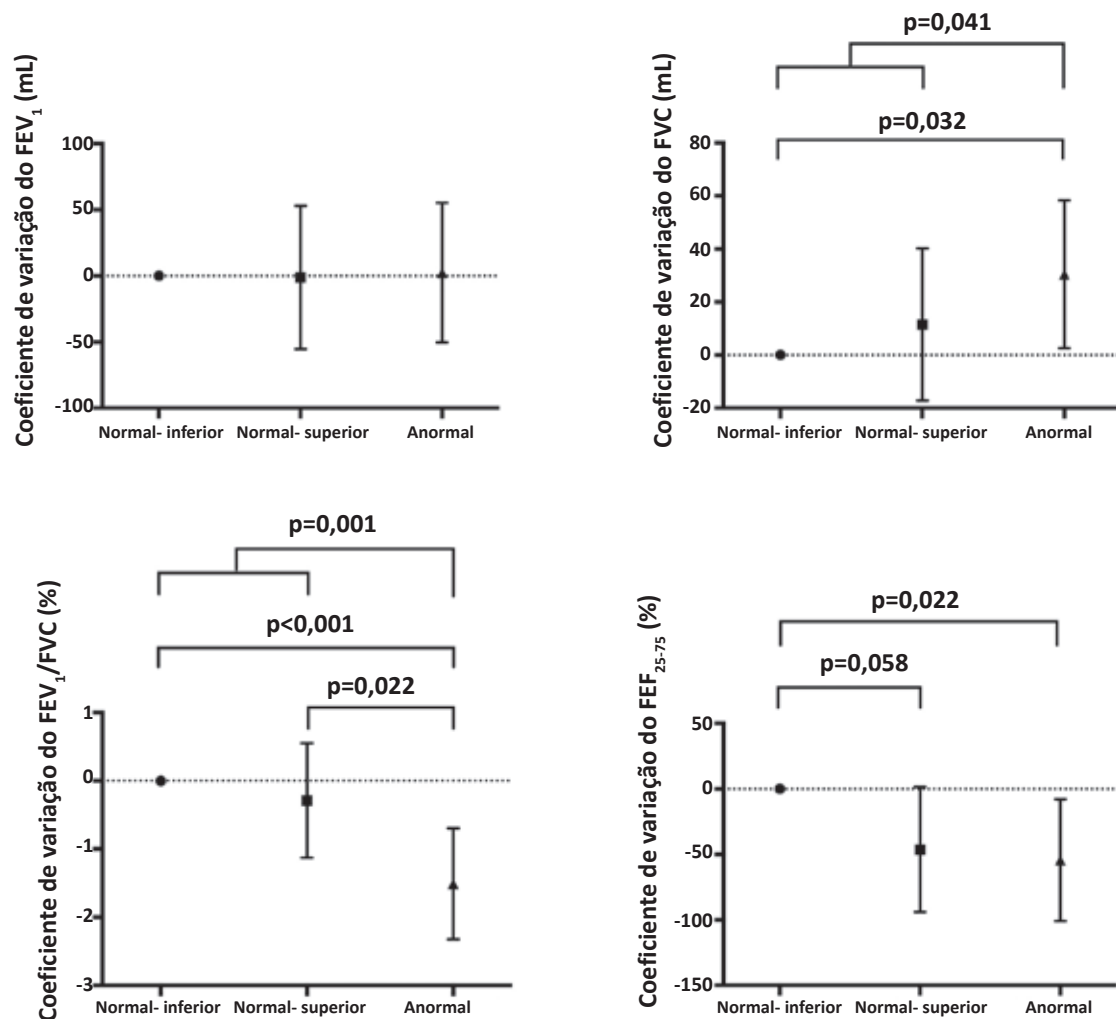
* Espirometria de seguimento (última espirometria pós-broncodilatação disponível) estava disponível para um subgrupo de doentes. Equações de referência: As medidas da função pulmonar e % do previsto dos valores normais foram calculadas utilizando as fórmulas de Crapo (Crapo *et al*, 1981 e 1982), exceto para CRF:CPT, CI e CI:CPT. As fórmulas previstas de Quanjer foram usadas para CRF:CPT e CI (Quanjer *et al*, 1993), e as fórmulas previstas por Francisco foram usadas para CI:CPT (Francisco *et al*, 2009). Reversibilidade definida como aumento do FEV₁ >12% e >200 ml após administração de broncodilatador.

IMC, índice de massa corporal; FEF₂₅₋₇₅, fluxo expiratório forçado médio; CRF, capacidade residual funcional; CI, capacidade inspiratória; FFP, teste da função pulmonar; VR, volume residual; CPT, capacidade pulmonar total.

gual de áreas do pulmão,³⁷ o que sugere que as áreas com perda de tecido pulmonar com consequente retenção de ar e descolamento de pequenas vias aéreas podem estar adjacentes a áreas de pulmão relativamente normais sem retenção de ar e com vias aéreas normais. Dada a natureza regional desse processo, o aumento da CPT pode provocar aumento de pressão pelo menos nas pequenas vias aéreas que se encontram nas áreas normais dos pulmões, aumentando o seu diâmetro, não afetando a passagem do fluxo aéreo total através das pequenas vias aéreas nos pulmões neste

estádio inicial da doença. Esta seria obviamente uma hipótese que precisaria de ser avaliada e testada.

O nosso estudo tem várias limitações. Primeiro, a nossa investigação foi uma revisão retrospectiva dos RES, tornando-o vulnerável a erros de classificação e confusão, incluindo a dependência de *proxies* para verificar os *outcomes* em saúde, tais como códigos de diagnóstico de DPOC para avaliar sintomas respiratórios ou o número de prescrições de medicação respiratória para avaliar a necessidade de medicação. Tais *proxies* têm sido amplamente utilizadas para



Níveis VR:CPT

Figura 5 Comparação da variação nos índices de fluxo aéreo na espirometria de seguimento ao longo dos níveis de VR:CPT. Os gráficos representam o coeficiente de variação com ICs de 95% nos índices de fluxo aéreo ao longo dos níveis de VR:CPT relativos ao grupo de referência (indivíduos com VR:CPT normal inferior) do modelo de regressão linear de efeito misto ajustado à idade, sexo, altura e tempo para a espirometria de seguimento. Os valores a negrito representam os valores de *p* com significância. FEF₂₅₋₇₅, fluxo expiratório forçado médio; VR, volume residual; CPT, capacidade pulmonar total.

averiguar os sintomas disponíveis nos RSE e são neutras em relação ao viés da retenção de ar e, portanto, não devem ter afetado as análises correspondentes. Em segundo lugar, enquanto o *status* de fumador foi obtido através da utilização de códigos de diagnóstico de tabagismo, a informação relativa à duração e quantidade dos hábitos tabágicos estava em falta. A nossa abordagem foi baseada na suposição de que quase todos os fumadores começam a fumar antes dos 18 anos, e é provável que os veteranos incluídos nesta coorte com *status* de fumador ou ex-fumador após os 40 anos, tenham provavelmente um histórico substancial de tabagismo antes do código do diagnóstico de fumador ser inserido no seu RES.^{38, 39} Terceiro, as razões pelas quais os doentes foram encaminhados para a espirometria e para a pletismografia não são claras. Embora seja possível que os doentes tenham sido encaminhados por várias razões, incluindo a realização de exames pré-operatórios de rotina, é provável que a maioria dos doentes tenha sido encaminhada devido a preocupações com sintomas respiratórios. Da mesma forma, as razões pelas quais os doentes foram encaminhados para repetir a espirometria não são claras. No entanto, é possível que apenas os doentes com sintomas persistentes ou agravamento dos mesmos tenham sido submetidos a espirometria de seguimento. Assim, os resultados deste estudo podem ser generalizados para os fumadores com risco de desenvolver DPOC que apresentam algum grau de sintomas respiratórios. Embora não tenhamos conhecimento de qualquer harmonização dos equipamentos de TFP ou dos protocolos nos centros médicos da VHA,

sabe-se que a maioria dos Centros dos Veterans Affairs Medical Centers têm há décadas relações estreitas com escolas médicas e com centros médicos acadêmicos,⁴⁰ e, portanto, é provável que as medições dos TFPs tenham sido realizadas com qualidade comparável às realizadas em centros médicos acadêmicos não pertencentes à VHA. Adicionalmente, a proporção de doentes com VR:CPT anormal proveniente dos centros médicos da VHA geralmente seguiu uma distribuição normal (apêndice suplementar *online*), desacreditando a suposição de qualquer viés de medição específico do local. Finalmente, o nosso algoritmo de desenho do estudo teve como objetivo otimizar o número máximo de doentes com risco de desenvolver DPOC, mas com valores de espirometria preservados, excluindo simultaneamente os que apresentavam doenças não relevantes, incluindo doença pulmonar restritiva. Através dessa abordagem, os doentes com certas doenças e características (como asma e obesidade) foram incluídos, o que pode ter confundido as nossas análises. No entanto, a análise de sensibilidade com a exclusão dos doentes que levantavam preocupações de confundir os resultados, não alterou significativamente os nossos resultados.

Em conclusão, neste estudo com base nos casos nacionais dos RES dos Veterans Affairs, a retenção de ar foi comum em fumadores com valores de espirometria preservados assim como o prognóstico de *outcomes* respiratórios adversos e a progressão declarada para DPOC. Uma futura validação prospetiva deste estudo retrospectivo poderia aumentar a confiança relativamente à utilidade dos valores da retenção de ar como um pre-

ditor de morbidade e de progressão da doença em fumadores sem DPOC. Adicionalmente, a compreensão dos mecanismos biológicos subjacentes envolvidos no desenvolvimento da retenção de ar na ausência de obstrução ao fluxo aéreo pode levar à descoberta de novas estratégias terapêuticas.

Agradecimentos Os autores gostariam de agradecer aos assistentes da Veterans Administration Informatics and Computing Infrastructure (VINCI), Sr. Sundaragandhi P Radhakrishnan e Sr. James M Potter pela ajuda na implementação do algoritmo e extração de dados do VINCI, e aos Drs. Paul D Blanc e Warren M Gold pela útil discussão durante a preparação do manuscrito.

Colaboradores MA concebeu e desenhou o estudo. MA, BB e SZ desenvolveram os protocolos do estudo. SZ, BB, BG, JJ e MA recolheram os dados. SZ, MA, AT, BB e JJ analisaram e interpretaram os dados. MA, AT, SZ, BB e JJ prepararam o manuscrito. MA e BB obtiveram o financiamento.

Financiamento Este trabalho foi financiado pelo Flight Attendant Medical Research Institute (MA) e pela Radboud University School of Medicine Scholarship (BB).

Conflito de interesses Nenhum declarado.

Consentimento dos doentes Não foi necessário.

Aprovação de ética O estudo foi aprovado pelo University of California San Francisco Institutional Review Board e pelo Veterans Health Administration Research and Development Committee.

Proveniência e revisão por pares Não comissionado; revisado externamente por pares.

REFERÊNCIAS

- 1 Vogelmeier CF, Criner GJ, Martinez FJ, et al. global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of chronic Obstructive lung Disease 2017 report: GOLD executive Summary. *Respirology* 2017;22:575–601.
- 2 Quanjer PH, Tammeling GJ, Cotes JE, et al. lung volumes and forced ventilatory flows. report Working Party Standardization of lung Function tests, European community for Steel and coal. Official Statement of the European respiratory Society. *Eur Respir J Suppl* 1993;16:5–40.
- 3 Lung function testing: selection of reference values and interpretative strategies. American Thoracic Society. *Am Rev Respir Dis* 1991;144:1202–18.
- 4 Woodruff PG, Barr RG, Bleeker E, et al. clinical Significance of Symptoms in Smokers with Preserved Pulmonary Function. *N Engl J Med* 2016;374:1811–21.
- 5 Bowler RP, Kim V, Regan E, et al. Prediction of acute respiratory disease in current and former smokers with and without COPD. *Chest* 2014;146:941–50.
- 6 Regan EA, Lynch DA, Curran-Everett D, et al. clinical and radiologic Disease in Smokers With normal Spirometry. *JAMA Intern Med* 2015;175:1539–49.
- 7 Martinez CH, Murray S, Barr RG, et al. respiratory Symptoms items from the COPD assessment test identify ever-smokers with Preserved lung Function at Higher risk for Poor respiratory Outcomes. an analysis of the Subpopulations and Intermediate Outcome Measures in COPD Study cohort. *Ann Am Thorac Soc* 2017;14:636–42.
- 8 Langer D, Ciavaglia CE, Neder JA, et al. lung hyperinflation in chronic obstructive pulmonary disease: mechanisms, clinical implications and treatment. *Expert Rev Respir Med* 2014;8:731–49.
- 9 Thomas M, Decramer M, O'Donnell DE. no room to breathe: the importance of lung hyper-inflation in COPD. *Prim Care Respir J* 2013;22:101–11.
- 10 Crapo RO, Casaburi R, Coates AL, et al. guidelines for methacholine and exercise challenge testing. 1999. this official statement of the American thoracic Society was adopted by the Board of Directors, July 1999. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:309–29.
- 11 Crapo RO, Morris AH, Gardner RM. reference spirometric values using techniques and equipment that meet ATS recommendations. *Am Rev Respir Dis* 1981;123:659–64.
- 12 Crapo RO, Morris AH, Gardner RM. reference values for pulmonary tissue volume, membrane diffusing capacity, and pulmonary capillary blood volume. *Bull Eur Physiopathol Respir* 1982;18:893–9.
- 13 Francisco IM, Salinas VH, Brown KE, et al. PD-1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. *J Exp Med* 2009;206:3015–29.

- 14 Guder G, Brenner S, Angermann CE, et al. "gOLD or lower limit of normal definition? a comparison with expert-based diagnosis of chronic obstructive pulmonary disease in a prospective cohort-study". *Respir Res* 2012;13(1):13.
- 15 Elbehairy AF, Guenette JA, Faisal A, et al. Mechanisms of exertional dyspnoea in symptomatic smokers without COPD. *Eur Respir J* 2016;48:694–705.
- 16 Vestbo J, Lange P. can gOLD Stage 0 provide information of prognostic value in chronic obstructive pulmonary disease? *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:329–32.
- 17 Strassmann A, Frei A, Haile S, et al. commonly Used Patient-reported Outcomes Do not improve Prediction of COPD exacerbations: a Multicenter 4½ Year Prospective cohort Study. *Chest* 2017;152.
- 18 Marin JM, Carrizo SJ, Gascon M, et al. inspiratory capacity, dynamic hyperinflation, breathlessness, and exercise performance during the 6-minute-walk test in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1395–9.
- 19 Waschki B, Kirsten A, Holz O, et al. Physical activity is the strongest predictor of all-cause mortality in patients with COPD: a prospective cohort study. *Chest* 2011;140:331–42.
- 20 Casanova C, Cote C, de Torres JP, et al. inspiratory-to-total lung capacity ratio Predicts Mortality in Patients with chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:591–7.
- 21 Callens E, Graba S, Gillet-Juvin K, et al. Measurement of dynamic hyperinflation after a 6-minute walk test in patients with COPD. *Chest* 2009;136:1466–72.
- 22 Garcia-Rio F, Iones V, Mediano O, et al. Daily physical activity in patients with chronic obstructive pulmonary disease is mainly associated with dynamic hyperinflation. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;180:506–12.
- 23 O'Donnell DE, Laveneziana P, Webb K, et al. chronic obstructive pulmonary disease: clinical integrative physiology. *Clin Chest Med* 2014;35:51–69.
- 24 Arjomandi M, Zeng S, Blanc PD, et al. increasing the resolution of chronic Obstructive Pulmonary Disease Definition. lessons from a cohort with remote but extensive exposure to Secondhand tobacco Smoke. *Ann Am Thorac Soc* 2018;15:S122–S123.
- 25 Arjomandi M, Zeng S, Geerts J, et al. lung volumes identify an at-risk group in persons with prolonged secondhand tobacco smoke exposure but without overt airflow obstruction. *BMJ Open Respir Res* 2018;5:e000284.
- 26 Martinez CH, Kim V, Chen Y, et al. the clinical impact of non-obstructive chronic bronchitis in current and former smokers. *Respir Med* 2014;108:491–9.
- 27 Poor HD, Kavut SM, Liu CY, et al. Pulmonary hyperinflation due to gas trapping and pulmonary artery size: the MeSa COPD Study. *PLoS One* 2017;12:e0176812.
- 28 Smith BM, Kawut SM, Bluemel DA, et al. Pulmonary hyperinflation and left ventricular mass: the Multi-ethnic Study of atherosclerosis COPD Study. *Circulation* 2013;127:1503–11.
- 29 Watz H, Waschki B, Meyer T, et al. Decreasing cardiac chamber sizes and associated heart dysfunction in COPD: role of hyperinflation. *Chest* 2010;138:32–8.
- 30 Dykstra BJ, Scanlon PD, Kester MM, et al. lung volumes in 4,774 patients with obstructive lung disease. *Chest* 1999;115:68–74.
- 31 Ruppel GL. What is the clinical value of lung volumes? *Respir Care* 2012;57:26–38.
- 32 Deesomchok A, Webb KA, Forkert I, et al. lung hyperinflation and its reversibility in patients with airway obstruction of varying severity. *COPD* 2010;7:428–37.
- 33 Bates DV, Woolf CR, Paul G. a report on the first two stages of the co-ordinated study of chronic bronchitis in the Department of Veterans Affairs, Canada. *Med Serv J Can* 1962;18:211–303.
- 34 Corbin RP, Loveland M, Martin RT, et al. a four-year follow-up study of lung mechanics in smokers. *Am Rev Respir Dis* 1979;120:293–304.
- 35 Casanova C, Cote C, de Torres JP, et al. inspiratory-to-total lung capacity ratio predicts mortality in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:591–7.
- 36 Gagnon P, Guenette JA, Langer D, et al. Pathogenesis of hyperinflation in chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2014;9:187–201.
- 37 Mets OM, de Jong PA, van Ginneken B, et al. ct air trapping is independently associated with lung function reduction over time. *PLoS One* 2013;8:e61783.
- 38 Services USDoHaH. The Health Consequences of Smoking - 50 Years of Progress. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, centers for Disease control and Prevention, national center for chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health, 2014.
- 39 ioMUCSciMaV P, Bondurant SW, eds. Combating Tobacco Use in Military and Veteran Populations. Washington (DC: national academies Press (US), 2009).
- 40 Hollingsworth JW, Bondy PK. the role of Veterans affairs hospitals in the health care system. *N Engl J Med* 1990;322:1851–7.

Pulmiben® Lisina

Carbocisteína, lisinato mono-hidratado

MESTRE EM EFICÁCIA



INFORMAÇÕES ESSENCIAIS:

Nome: Pulmiben Lisina. **Composição:** Cada saqueta contém 2700 mg de carbocisteína, lisinato mono-hidratado (equivalente a 1500 mg de carbocisteína). Contém aspartamo. Excipientes: ver RCM completo. **Forma farmacêutica:** Pó para solução oral em saqueta. **Indicações terapêuticas:** Ajuvante mucolítico do tratamento antibacteriano das infecções respiratórias, em presença de hipersecreção brônquica. **Posologia e modo de administração:** Via oral. Ver o conteúdo da saqueta em meio copo de água e agitar bem com uma colher. Crianças dos 2 aos 12 anos: metade de uma saqueta de 24 em 24 horas. Adultos e adolescentes: Uma saqueta de 24 em 24 horas. População idosa: Utilizar a mesma dose considerada para os adultos. **Contraindicações:** Úlcera gastroduodenal ativa; hipersensibilidade à substância ativa ou a qualquer um dos excipientes; crianças com menos de 2 anos. **Advertências e precauções especiais de utilização:** Não se recomenda a associação de carbocisteína com fármacos que inibem o reflexo da tosse (pode dificultar a expectoração). O aumento da expectoração, que se pode observar nos primeiros dias de tratamento como resultado da fluidificação das secreções patológicas, é atenuado progressivamente. Se a sintomatologia persistir por mais de 5 dias ou se se agravar, consultar o médico. Pulmiben Lisina contém uma fonte de fenilalanina (aspartamo), o que pode ser prejudicial em indivíduos com fenilcetonúria. O medicamento não está contraindicado em doentes com diabetes. **Interações medicamentosas e outras formas de interação:** Não se recomenda a administração de carbocisteína com fármacos antitússicos, como a codeína, dextrometorfano ou folcodina. O efeito da carbocisteína não é afetado pela sua administração concomitante com fármacos com ação anticolinérgica, como o brometo de ipatrópio, brometo de tiatrópio, agonistas adrenérgicos β_2 (salbutamol, terbutamina, bambuterol, formoterol, salmeterol) ou antihistamínicos de primeira geração (clorofeniramina, dexclorfeniramina). **Efeitos indesejáveis:** Pouco frequentes: diarreia, náuseas, vômitos. Raros: erupções cutâneas alérgicas, reações anafiláticas, asma, broncospasma, dispnéia. Muito raros: hemorragia digestiva. Erupções relacionadas com a dose do medicamento: casos isolados de dermatite bolhosa tais como Síndrome de Stevens-Johnson e eritema multiforme. Especial atenção nos doentes asmáticos pelo risco de provocar broncospasma. Nestes casos deve-se interromper o tratamento. Medicamento não sujeito a receita médica. RCM entregue em separado. Texto elaborado em abril 2018. Para mais informações contactar o titular da AIM: ITF Healthvita, Produtos Farmacêuticos, Lda., Rua Dom António Ribeiro nº9, 1495-049 Algés.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS: 1. Zheng JP, et al. Effect of carbocisteine on acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (PEACE Study): a randomised placebo controlled study. *Lancet* 2008; 371:2013-8. 2. L. Allegra et al., Prevention of Acute Exacerbations of Chronic Obstructive Bronchitis with Carbocysteine Lysine Salt Monohydrate: A Multicenter, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial, *Respiration* 1996;63:174-180.



GRUPO ITALFARMACO

Rua Dom António Ribeiro, 9 – 1495-049 Algés
www.italfarmaco.pt

EFICÁCIA PROVADA NA REDUÇÃO DAS EXACERBAÇÕES DOS DOENTES COM DPOC E BRONQUITE CRÔNICA COM UMA **TOMA ÚNICA** DIÁRIA (1.500 MG CARBOCISTEÍNA)^(4,2)

A microbiota da expetoração é preditiva de *outcomes* clínicos a longo prazo em adultos jovens com fibrose quística

Nicole Acosta,¹ Alya Heirali,¹ Ranjani Somayaji,^{1,2} Michael G Surette,^{2,3,4}

Matthew L Workentine,⁵ Christopher D Sibley,¹ Harvey R Rabin,^{1,2} Michael D Parkins^{1,2}

► Informação adicional encontra-se publicada apenas *online*. Para a consultar, visite por favor o jornal *online* (<http://dx.doi.org/10.1136/thorax-jnl-2018-211510>).

¹Departamento de Microbiologia, Imunologia e Doenças Infeciosas, Universidade de Calgary, Calgary, Alberta, Canadá

²Departamento de Medicina, Universidade de Calgary, Calgary, Alberta, Canadá

³Department de Bioquímica, McMaster University, Hamilton, Ontário, Canadá

⁴Departamento de Ciências Biomédicas, McMaster University, Hamilton, Ontário, Canadá

⁵Medicina Veterinária, Universidade de Calgary, Calgary, Alberta, Canadá

Correspondência para

Dr. Michael D Parkins, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Doenças Infeciosas, Universidade de Calgary, Calgary, AB T2N 1N4, Canadá; mdparkin@ucalgary.ca

Recebido a 9 de janeiro de 2018
Revisto a 6 de julho de 2018
Aceite a 16 de julho de 2018
Publicado inicialmente *online* a 22 de agosto de 2018



► <http://dx.doi.org/10.1136/thorax-jnl-2018-211510>



© Os autor(es) ou o(s) seu(s) empregador(es) 2019. Não é permitida a reutilização com fins comerciais. Consultar direitos e permissões. Publicado pelo BMJ.

Para citar: Acosta N, Heirali A, Somayaji R et al. Thorax 2018; 73:1016–1025.

RESUMO

Enquadramento As comunidades polimicrobianas complexas infetam as vias aéreas inferiores na fibrose quística (FQ). Geralmente, as comunidades com baixa diversidade, dominadas por patógenos clássicos da FQ, estão associadas à pior condição do doente no momento da recolha de amostras. No entanto, não se sabe se o microbioma é preditivo de *outcomes* futuros. Procuramos determinar se o microbioma poderia ser adaptado como um biomarcador para o prognóstico do doente.

Métodos Analisamos retrospectivamente a expetoração recolhida prospectivamente de uma coorte de 104 indivíduos com idades compreendidas entre os 18 e os 22 anos para determinar os fatores associados à progressão para doença pulmonar terminal precoce (DPTp; morte / transplante <25 anos) e rápido declínio da função pulmonar (> -3% / ano do FEV₁ nos 5 anos seguintes).

O sequenciamento emparelhado Illumina MiSeq da região V3-V4 do gene 16S rARN foi utilizado para definir o microbioma das vias aéreas.

Resultados Com base no *outcome* primário analisado, 17 indivíduos (16%) evoluíram subsequentemente para DPTp. Estes indivíduos eram mais propensos a ter expetoração com baixa diversidade alfa, dominada por patógenos específicos, incluindo *Pseudomonas*. As comunidades com abundância de *Streptococcus* foram observadas como protetoras. As comunidades microbianas agrupadas pelo estágio da doença pulmonar na *baseline* e subsequente progressão para DPTp. A análise multivariada identificou a função pulmonar na *baseline* e a diversidade alfa como preditores independentes da DPTp. Para os *outcomes* secundários, foram classificados 58 e 47 doentes como de rápida progressão com base nas definições absolutas e relativas do declínio da função pulmonar, respetivamente. Os doentes com baixa diversidade alfa tiveram igualmente mais probabilidade de serem classificados como tendo rápido declínio da função pulmonar nos 5 anos seguintes, quando ajustada para a função pulmonar na *baseline*. **Conclusões** Observamos que a diversidade das comunidades microbianas nas vias aéreas na FQ é preditiva da progressão para DPTp e declínio desproporcional da função pulmonar, podendo, portanto, representar um novo biomarcador.

INTRODUÇÃO

A infeção respiratória progressiva é responsável pela maioria da morbilidade e mortalidade na fibrose quística (FQ).¹ A cultura tradicional da expetoração identifica uma gama de patógenos das vias aéreas. No entanto, os patógenos da cultura não permitem distinguir adequadamente os indivíduos com risco aumentado de deterioração.^{2–4} Consequentemente, a observação de uma comunidade polimicrobiana de organismos colonizadores das vias aéreas na FQ, negligenciada por protocolos tradicionais, provou ser promissora.^{5,6}

Os estudos transversais identificaram que a expetoração de doentes com doença avançada tem diversidade limitada e são dominados por organismos

Mensagens-chave

Qual é a pergunta-chave?

- Estudos transversais demonstraram que a complexidade das comunidades microbianas presentes na expetoração de indivíduos com fibrose quística (FQ) correlaciona-se inversamente com o estágio da doença na *baseline*.
- No entanto, não existem estudos longitudinais que avaliam a microbiota como um novo biomarcador na previsão da progressão da doença pulmonar por FQ.

Que conclusão foi alcançada?

- O nosso grupo avaliou, pela primeira vez, o risco de progressão para doença pulmonar terminal precoce e aceleração do declínio da função pulmonar numa coorte de 104 adultos jovens com FQ, cujas amostras da expetoração tinham sido recolhidas 5 anos antes.
- Enquanto os patógenos de cultura tradicional não se correlacionavam com os *outcomes* subsequentes, uma comunidade microbiana de diversidade limitada, dominada por *Pseudomonas*, previu independentemente um prognóstico negativo.

Porque vale a pena ler este artigo?

- Este estudo sugere que a análise da comunidade microbiana pode servir como um novo biomarcador para identificar os indivíduos com FQ que têm maior risco de progressão da doença.

como a *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* e *Burkholderia cepacia complex* (Bcc).^{7,8} No entanto, poucos estudos longitudinais tentaram correlacionar o microbioma da FQ com os *outcomes* clínicos futuros.⁶ Colocamos a hipótese de que a microbiota das vias aéreas de uma coorte de adolescentes com FQ fosse associada aos *outcomes* clínicos subsequentes a longo prazo e servisse como um novo biomarcador. A análise da comunidade microbiana poderia, então, servir como uma nova ferramenta clínica para identificar doentes com risco aumentado de progressão da doença.^{9,10}

MÉTODOS

Doentes e seleção da amostra

O Calgary Adult CF Clinic Sputum Biobank inclui amostras de expetoração recolhidas prospectivamente entre 1998 e 2017 armazenadas a -80 °C utilizando estratégias de controlo de qualidade de armazenamento previamente descritas.¹¹ Para este

estudo, incluímos doentes com expetoração recolhida entre os 18 e os 22 anos de idade. Para garantir que as amostras fossem recolhidas sob condições semelhantes, excluímos amostras recolhidas num período de 28 dias das mudanças terapêuticas ou da agudização pulmonar (AP). Capturamos as características dos doentes, incluindo: dados demográficos, terapias crônicas, patógenos semiquantitativos em cultura, percentagem prevista da FVC e do FEV₁ no momento da recolha da amostra. Os doentes foram categorizados na *baseline* como portadores de doença ligeira (FEV₁ > 80%), moderada (FEV₁: 40% -80%) e avançada (FEV₁ <40%).¹¹ A progressão da doença nos 5 anos subsequentes foi avaliada através de registados detalhados dos exames. As taxas de declínio da função pulmonar foram determinadas por meio de regressões lineares específicas por indivíduo. Como o estudo incluiu doentes e amostras que abrangem duas décadas, os doentes foram categorizados em três coortes com base nos anos em que foram transferidos para a clínica de adultos: coorte_A (1998-2003), coorte_B (2004-2008) e coorte_C (2009-2013).

Os *outcomes* clínicos

O *outcome* primário foi a progressão para doença pulmonar terminal precoce (DPTp) definida como morte/transplante <25 anos - um valor escolhido com base na progressão desproporcional da doença.¹²⁻¹⁴ Para determinar os fatores associados à DPTp, os doentes que atenderam a essa definição foram comparados com os que não o fizeram (nDPT). O nosso *outcome* secundário de interesse foram os fatores associados ao declínio acelerado da função pulmonar. Os doentes foram categorizados como de rápida progressão (RP) (isto é, queda do FEV₁ superior a -3%/ano) ou de não rápida progressão (Nrp) com base no declínio ao longo dos 5 anos subsequentes. Estes valores foram escolhidos com base no rápido declínio verificado nos *outliers*.^{10 15-17} Os fatores associados ao rápido declínio foram avaliados utilizando uma definição absoluta (Ab; % anual de declínio do FEV₁) e relativa (Re; taxa absoluta/*baseline*).

Sequenciação e processamento do gene ARNr 16S

A extração total de ADN das amostras congeladas de expetoração e o ensaio em branco “*Reagent Blank*” foram realizados conforme descrito anteriormente.¹¹ As comunidades bacterianas presentes na expetoração da FQ e o “*Reagent Blank*” foram caracterizadas por amplificação e sequenciação da região V3-V4 do ARNr 16S.¹¹ As leituras de sequenciamento foram processadas e analisadas para construir o quadro de unidades taxonômicas operacionais (UTO) utilizando um UPARSE pipeline.¹⁸ Após a remoção das UTOs únicas, restaram 8 320 948 leituras totais (média de 80 009 leituras /amostra; IIQ: 57 168–102 441).

Análise estatística

A riqueza e a uniformidade foram analisadas usando os índices de diversidade de Shannon e Simpson. Foram calculados os estimadores de riqueza (observada e Chao1). Após a normalização proporcional de todas as amostras, a dissimilaridade de Bray-Curtis foi calculada para analisar a diversidade beta da comunidade. O teste da análise da variância multivariada permutacional (PERMANOVA)¹⁹ foi realizado para determinar a significância da análise da diversidade beta. A diversidade beta foi calculada depois de rarefazer todas as amostras para 15 000 leituras. Os gráficos de dimensionamento multidimensionais não métricos foram utilizados para visualizar as matrizes de dissimilaridade de Bray-Curtis. Os testes exato de Fisher e X² foram utilizados para discriminar as variáveis dicotômicas. Os testes da soma dos postos de Wilcoxon foram conduzidos para variáveis contínuas. Um modelo de regressão logística multivariada foi construído para prever a progressão para DPTp. Foi utilizado um processo de seleção *forward stepwise* para selecionar variáveis (as com $p < 0,2$ na análise univariada) independentemente associadas ao *outcome* primário. As análises foram realizadas com R V.3.2.1 (R Core Team, 2014) e STATA V.14.2 (StataCorp, Texas, EUA).

RESULTADOS

Coorte do estudo

Cento e trinta doentes com idade compreendidas entre os 18 e os 22 anos foram selecionados para análise e 104 foram incluídos. Vinte e um foram excluídos devido a seguimento inadequado (<5 anos sem

atingir o *outcome* primário) e cinco porque todas as amostras disponíveis foram impactadas por AP e / ou tratamento com antibióticos para agudizações. Os doentes excluídos não diferiram quanto à homoziguidade do F508del, suficiência pancreática ou sexo ($p > 0,05$).

Fatores tradicionais associados aos *outcomes* clínicos

Dados demográficos, patógenos e tratamentos concomitantes são apresentados no quadro 1. Na recolha da expetoração, os doentes foram classificados como tendo doença pulmonar ligeira: 15 (14,4%), moderada: 44 (42,3%) e avançada: 45 (43,2%). Da coorte, 17 (16,3%) progrediram para DPTp (5 morreram, 12 receberam transplante de pulmão) com uma mediana de idade de 21,7 anos (IIQ 19,8–23,7). Os doentes que progrediram para DPTp em relação aos nDTP apresentaram na *baseline* doença pulmonar mais grave e pior nutrição (quadro 1), e estavam mais propensos a receber tratamento inalado antipseudomonas, DNase e suplementos entéricos / nutricionais (DNA; dados não apresentados). Notavelmente, nem os agentes patogénicos da FQ em cultura (incluindo *P. aeruginosa* avaliados como mucoide), nem o nível de log em que eles foram cultivados (DNA) estiveram associados à progressão para DPTp ou RP (quadro 1).

As taxas de progressão para DPTp não diferiram com base na coorte de transição (A: 22%; B: 18%; C: 9%, $p = 0,374$). O rápido declínio da função pulmonar foi observado em 58 doentes (55,7%) quando medido como declínio absoluto do FEV₁ > -3% /ano. Os fatores patogénicos demográficos, de tratamento ou de cultura não foram associados à taxa absoluta da função pulmonar (quadro 1, DNA). Resultados semelhantes foram obtidos quando avaliados 2,5 anos após a recolha (DNA). Quarenta e sete doentes (45,1%) enquadravam-se na definição pré-determinada de rápida progressão relativa (RP-Re) (quadro 1). Dos 17 doentes que foram categorizados como DPTp, 13 (76%) foram categorizados como RP-Ab ou RP-Re.

Os fatores associados ao declínio rápido relativo do FEV₁ incluíram função pulmonar na *baseline*, estado nutricional e osteoporose / osteopenia (quadro 1). Os fatores microbianos (incluindo *P. aeruginosa* mucóide) não se associaram com o declínio rápido relativo do FEV₁. A categorização como RP-Ab não diferiu com base na coorte de transição (A: 51,8%; B: 68,1%; C: 42,4%, $p = 0,075$), mas diferiu quando categorizada como RP-Re (A: 37%; B: 59%; C: 33,3%, $p = 0,05$), embora as coortes mais velhas não tenham sido desproporcionalmente afetadas.

Análise da comunidade microbiana da FQ

Para visualizar a composição da comunidade das vias aéreas, traçamos a abundância relativa (AR), ao nível do género, como uma função do FEV₁ do doente na *baseline* (figura 1). Os géneros classificados como *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* e *Haemophilus* tiveram a maior AR, representando 80,7% das leituras. Para garantir que uma única amostra fosse adequada, um subconjunto de 35 doentes (33,6%), que tiveram duas recolhas de amostras de expetoração adequadas, numa mediana de 151 dias de intervalo (IIQ 60-212), foi ainda avaliado quanto à estabilidade. As amostras agrupadas por doente, explicam 75,9% da variância da comunidade ($p = 0,001$, PERMANOVA) (figura complementar online E1).

Microbiota associada ao *outcome* primário: progressão para DPTp

Utilizando múltiplas medidas de riqueza e uniformidade (figura 2A), a expetoração dos doentes que subsequentemente progrediram para DPTp apresentou uma diversidade alfa significativamente menor em comparação com os que não progrediram para DPTp.

Quando realizamos uma análise de sensibilidade usando definições alternativas de DPTp (antes dos 23 ou dos 27 anos), foram evidentes as mesmas tendências (DNA). As comparações das estruturas comunitárias revelaram que a expetoração da DPTp tinha comunidades microbianas que se agruparam após normalização proporcional de todas as amostras ($p = 0,003$, PERMANOVA) (figura 3). Foram obtidos resultados semelhantes quando a análise foi realizada com dados rarefeitos ($p = 0,002$, PERMANOVA). Adicionalmente, observamos que a diversidade beta correlacionou-se com a % do FEV₁ na *baseline* usando dados não-rarefeitos ($p = 0,032$) e rarefeitos ($p = 0,015$, PERMANOVA).

Quadro 1 Características na baseline da população estudada em função dos *outcomes* clínicos

	Progressão para DPTp				Taxa absoluta do declínio da função pulmonar				Taxa relativa do declínio da função pulmonar			
	nDTP (n = 87)	DPTp (n = 17)	RR	Valores de p	Nrp-Ab (n = 46)	RP-Ab (n = 58)	RR	Valores de p	Nrp-Re (n = 57)	RP-Re (n = 47)	RR	Valores de p
Demografia *												
Masculino (sexo)	42 (48,2)	8 (47,1)	1	0,99	19 (41,3)	31 (53,4)	1,24	0,24	23 (40,3)	27 (5,5)	1,5	0,11
ΔF508 homozigótico	47 (54)	8 (47,06)	0,7	0,60	26 (56,5)	29 (50)	0,8	0,55	32 (56,1)	23 (48,9)	0,8	0,55
%FEV ₁ previsto	81 (62-93)	39 (33-56)	-	<0,001	80,5 (57-92)	71 (52,8-90)	-	0,27	83 (65-95)	64 (42-81)	-	<0,001
% FVC previsto	99 (85-110)	67 (56-75)	-	<0,001	98,5 (81-109)	92 (71-108)	-	0,29	101 (87-111)	85 (67-99)	-	0,0014
IMC (kg/m ²)	20,6 (19,3-22,3)	17,9 (16,4-19,1)	-	<0,001	20,5 (19,1-22,3)	20,2 (18,3-22)	-	0,34	20,6 (19,2-22,3)	20 (17,8-21,3)	-	0,05
Insuficiência pancreática	82 (94,2)	15 (88,2)	0,5	0,32	42 (91,3)	55 (94,8)	1,3	0,69	52 (91,2)	45 (95,7)	1,6	0,45
DRFQ	6 (6,9)	0 (0)	0	0,58	1 (2,1)	5 (8,6)	1,5	0,22	3 (5,2)	3 (6,3)	1,1	1
Patógenos em cultura †												
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	52 (59,7)	12 (70,5)	1,5	0,58	29 (63)	35 (60,3)	0,95	0,84	35 (61,4)	29 (61,7)	1	0,99
<i>P. aeruginosa</i> mucóide ‡	41 (78,8)	12 (100)	-	0,10	24 (82,7)	29 (82,8)	1	0,99	30 (85,7)	23 (79,3)	0,8	0,52
<i>Haemophilus influenzae</i>	12 (13,7)	0 (0)	0	0,20	5 (10,8)	7 (12,1)	1,05	0,99	6 (10,5)	6 (12,7)	1,1	0,76
<i>Staphylococcus aureus</i>	50 (57,4)	6 (35,2)	0,4	0,11	26 (56,5)	30 (51,7)	0,91	0,69	33 (57,8)	23 (48,9)	0,8	0,43
MRSA	4 (4,6)	1 (5,8)	1,2	0,99	1 (2,1)	4 (6,9)	1,46	0,37	1 (1,7)	4 (8,5)	1,8	0,17
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	5 (5,7)	3 (17,6)	2,6	0,12	2 (4,3)	6 (10,3)	1,38	0,29	4 (7,02)	4 (8,5)	1,1	0,99
Bcc	4 (4,6)	1 (5,8)	1,2	0,99	2 (4,3)	3 (5,1)	1,08	0,99	2 (3,5)	3 (6,3)	1,4	0,65
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	3 (3,4)	0 (0)	0	0,99	2 (4,3)	1 (1,7)	0,59	0,58	2 (3,5)	1 (2,1)	0,7	0,99
<i>Mycobacterium abscessus</i>	0 (0)	1 (5,8)	6,4	0,16	0 (0)	1 (1,7)	1,8	0,99	0 (0)	1 (2,1)	2,2	0,45

As estatísticas (teste exato de Fisher) foram conduzidas pelo teste da soma dos postos de Wilcoxon.

Razão de risco (RR) > 1,0 representa um risco aumentado para o *outcome*.

* Os dados são apresentados como n (%) ou mediana (IQR).

† Os dados são apresentados como n (%) das amostras que foram positivas para cada patógeno em cultura foi: *P. aeruginosa* (61,5%), *H. influenzae* (11,5%), *S. aureus* (53,8%), MRSA (4,8%), *S. maltophilia* (7,7%), Bcc (4,8%), *A. xylosoxidans* (2,9%) e o complexo *M. abscessus* (1%).

‡ A proporção foi calculada apenas a partir de doentes com culturas positivas para *P. aeruginosa* (PA), pelo que os dados são apresentados como n (%) de doentes com PA e com PA mucóide no *outcome* primário (nDTP (n = 52) e DPTp (n = 12)) e no *outcome* secundário (absoluto: Nrp-Ab (n = 29) e RP-Ab (n = 35);

Relativo: Nrp-Re (n = 35), RP-Re (n = 29)).

Ab, absoluta; Bcc, complexo Burkholderia cepacia; IMC, índice de massa corporal; DRFQ, diabetes relacionado com a FQ (definida em tempo real pelo médico assistente a cada visita clínica com base nos testes laboratoriais atuais); DPTp, doença pulmonar terminal precoce (definida como morte/transplante <25 anos); MRSA, *S. aureus* resistente à metilicina; nDTP, não DPTp; Nrp, não rápida progressão; Re, relativa; RP, rápida progressão.

Dada a coocorrência típica de comunidades de diversidade limitada e dominadas por *Pseudomonas*, realizamos análises de subgrupos para testar se a associação de DPTp estava presente em doentes em que a *Pseudomonas* não era predominante. Quando restringimos a nossa análise a doentes que tinham cultura negativa para *P. aeruginosa* (n = 40), observamos que as comunidades de doentes que subsequentemente progrediram para a DPTp também tenderam a ter uma menor diversidade alfa (Observado (p = 0,052), Chao1 (p = 0,082), Shannon (p = 0,106) e Simpson (p = 0,125)). Da mesma forma, quando restringimos a nossa análise a doentes cujas comunidades da expetoração tinham AR ≤25% de *Pseudomonas* (n = 66), os doentes que progrediram para DPTp (8; 12%) tiveram menor riqueza relativa observada (p = 0,001) e Chao1 (p = 0,002). O organismo mais fortemente associado à proteção contra a progressão para DPTp nestes subgrupos foi o *Haemophilus*. De fato, o *Haemophilus* foi conspiciamente ausente como constituinte da microbiota dos doentes que progrediram para DPTp, quando avaliamos os doentes que não apresentavam *P. aeruginosa* na cultura (AR DPTp: 0,009% (IIQ 0,005-0,013) vs nDTP: 9,81% (IIQ 0,81-47,2), p <0,001) e os doentes cuja microbiota continha <25% de *Pseudomonas* (AR DPTp: 0,009%

(IIQ 0,004 - 0,7) vs nDTP: 5,47% (IIQ 0,51 - 28,7), p <0,001). Identificamos seis géneros significativos com diferentes ARs entre DPTp e nDTP (quadro 2). Nos doentes com DPTp, a AR da *Pseudomonas A* foi significativamente maior, enquanto foram menores para o *Streptococcus*, *Haemophilus*, *Granulicatella*, *Gemella* e *Rothia*. Foram obtidos resultados semelhantes quando foram usadas definições alternativas de progressão para DPTp (antes dos 23 ou dos 27 anos, DNA).

Microbiota associada aos *outcomes* secundários de interesse: declínio acelerado da função pulmonar

Houve uma tendência de redução da diversidade alfa da expetoração na RP-Ab, embora não tenha alcançado significância (figura 2B). Quando fizemos uma análise de sensibilidade usando definições alternativas de declínio, -2%/ano, -2,5%/ano e -3,5%/ano, foram evidentes as mesmas tendências (DNA). Foram observados resultados semelhantes quando usamos um período de 2,5 anos (DNA). Quando as amostras foram analisadas relativamente ao declínio relativo da função pulmonar, houve diferenças significativas entre RP-Re e Nrp-Re para todos os estimadores de diversidade alfa, exceto para o índice de Simpson (figura 2C). No entanto, não foi observado nenhum agrupamento de doentes pelo microbioma por taxas de declínio absoluto (RP-Ab vs Nrp-Ab; p = 0,328) ou declínio relativo (RP-Re vs Nrp-Re; p = 0,07, PERMANOVA). Foram obtidos resultados semelhantes quando foram utilizadas definições alternativas de RP-Ab, incluindo: -2%/ano, -2,5%/ano e -3,5%/ano (DNA).

Relativamente aos constituintes individuais da comunidade microbiana, as ARs de *Granulicatella* e *Gemella* foram significativamente maiores (p <0,05) na Nrp em comparação com a RP, tanto para o declínio absoluto como para o relativo (quadro 2). Adicionalmente, a *Rothia* e a *Veillonella* (p <0,05) foram enriquecidas em amostras de Nrp-Re comparativamente com a RP-Re (quadro 2). Finalmente, os doentes RP-Re apresentaram maior AR de *Fusobacterium* em comparação com os doentes com Nrp-Re (p = 0,03) (quadro 2).

Explorando os biomarcadores clinicamente traduzíveis para prever a DPTp e o declínio acelerado da função pulmonar

Para identificar se os perfis específicos da microbiota poderiam ser adaptados como biomarcadores para prever a progressão clínica da doença, examinamos as associações

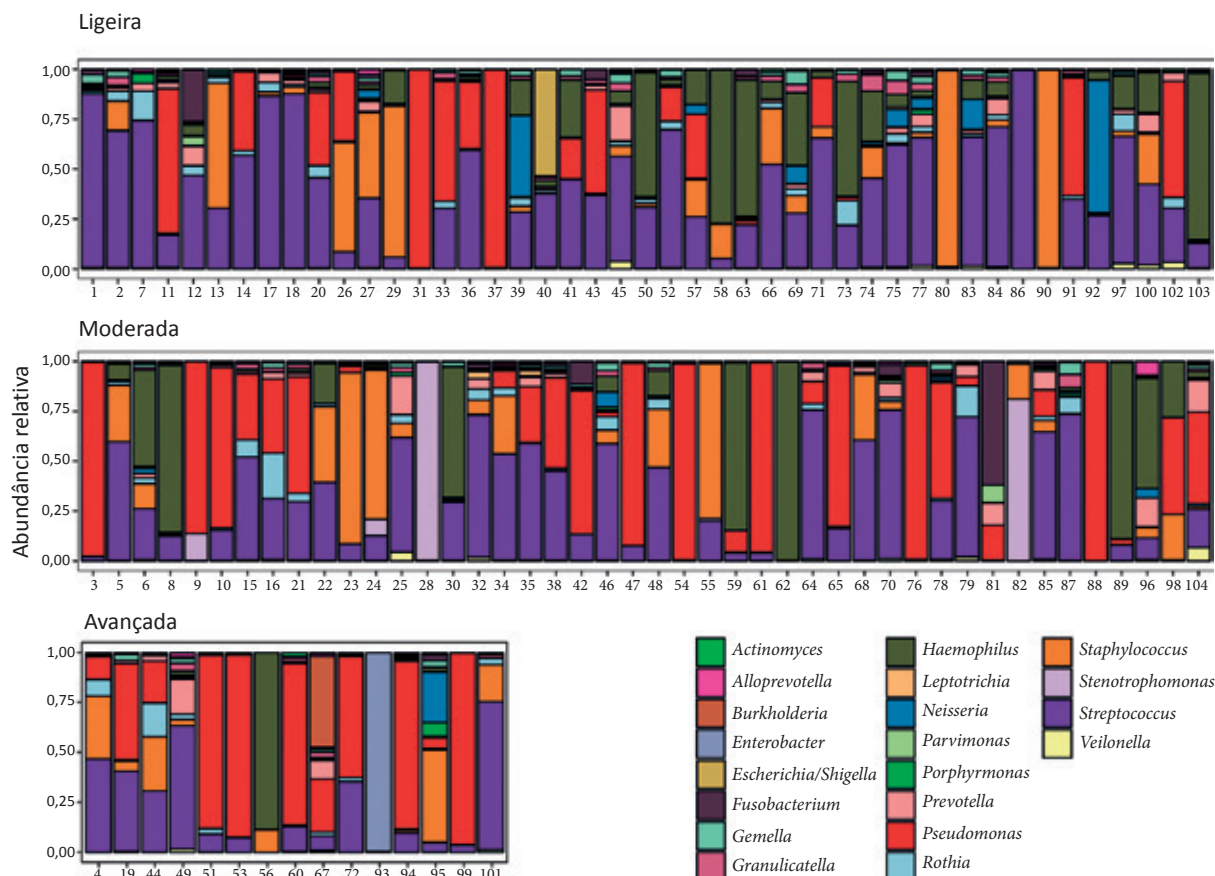


Figura 1 Composição da microbiota das vias aéreas inferiores em doentes com fibrose quística (FQ). Abundância relativa de bactérias na expetoração relatadas ao nível do género provenientes de indivíduos com idades compreendidas entre os 18 e os 22 anos com doença pulmonar ligeira (painel superior), moderada (painel intermédio) e avançada (painel inferior). Os 20 maiores géneros que contenham pelo menos > 0,28% de abundância de todo o conjunto de dados são representados por uma cor e apresentados na figura. Números indicam a ID do doente.

dentro da microbiota (ou seja, estimadores de diversidade alfa, predominância de organismos) e grupos de progressão da doença. Encontramos uma associação entre os estimadores de diversidade alfa com a progressão para DPTp ou sendo uma RP baseada no declínio relativo e as mesmas tendências (embora não significativas) para o declínio absoluto (DNA). Como a Observada quanto a Chao1 apenas estimam a riqueza de espécies, decidimos apenas analisar mais detalhadamente a associação do índice de diversidade de Simpson (SDI) e do índice de Simpson, que têm em conta tanto a riqueza como a regularidade das espécies, com a progressão da doença. Os doentes com SDI <1 ou índice de Simpson <0,5 evoluíram desproporcionalmente para DPTp (figura 4A). Resultados semelhantes foram encontrados para o risco de ser uma RP-Re (figura 4B), mas não para a RP-Ab (figura 4C). Desenvolvemos um modelo de regressão logística multivariada para prever a progressão para DPTp com base na seleção das variáveis que foram associadas com o *outcome* primário. Os fatores independentemente associados à DPTp foram o FEV₁ na *baseline* e a diversidade alfa (quadro 3).

Como a *Pseudomonas*, o *Streptococcus*, o *Staphylococcus* e o *Haemophilus* representaram mais de 80% do total das leituras, comparamos estes organismos em percentagem variável de AR com os grupos de progressão da doença. Descobrimos que os doentes com AR de *Pseudomonas* ≥50% ou ≥75% tinham 2,8 e 4,88 vezes maior risco de progredir para DPTp ($p = 0,02$ e $p < 0,001$, respetivamente) em comparação com os doentes com nDPT (quadro 4). Por outro lado, os doentes com AR de *Streptococcus* ≥ 25% estão associados a um menor risco de DPTp e têm uma redução de 32% e 41% no risco de declínio anual acelerado de FEV₁ medido de forma relativa e absoluta, respetivamente. Em seguida, determinamos a associação dos géneros principais do microbioma da FQ com os *outcomes* clínicos para uma AR específica com base na sua distribuição de frequência (quadro 2). Descobrimos que os níveis mais elevados de *Granulicatella* e *Gemella* estão associados a um menor risco de progressão para DPTp e de progressão da doença respiratória, medida por medidas absolutas e relativas do declínio da função pulmonar (quadro 4).

Em seguida, procuramos determinar se as combinações específicas de organismos combinadas com a AR de *Pseudomonas* ou *Streptococcus* estavam associadas a um aumento do risco de progressão para DPTp (quadro 4). Tal associação com os *outcomes* dos doentes pode sugerir sinergia ou antagonismo bacteriano nas vias aéreas da FQ. Várias combinações microbianas foram estatisticamente significativas em termos da sua associação com a progressão para DPTp (quadro complementar *online* E1). Observamos duas tendências gerais. Os doentes com AR de *Pseudomonas* ≥ 75%, independentemente dos outros membros da comunidade, foram associados a um maior risco de progredir para DPTp. Nenhum organismo adicional agravou o curso clínico. Em comparação, a expetoração dos doentes com *Streptococcus* em abundância em combinação com a restante microflora estava associado a um menor risco de progredir para DPTp (quadro complementar *online* E1).

Estas mesmas combinações foram testadas para *outcomes* secundários (DNA) e observou-se que apenas os doentes com *Granulicatella* ≥0,75% ou *Gemella* ≥0,75% combinadas com *Streptococcus* ≥25% tinham menor risco de ter uma RP comparada com a Nrp tanto para o declínio absoluto da função pulmonar (razão de risco (RR):0,6, $p=0,0105$ e RR:0,58, $p=0,006$, respetivamente) como para o relativo (RR:0,37, $p=0,0002$ e RR:0,45, $p=0,002$, respetivamente). Da mesma forma, os doentes com *Granulicatella* ≥0,75% ou *Gemella* ≥0,75% combinadas com *Pseudomonas* <25% estão associados a um menor risco de ter uma RP-Re ($p=0,0034$ e $p=0,001$, respetivamente).

DISCUSSÃO

A identificação de biomarcadores para melhor delinear o curso clínico futuro tem sido o foco principal da investigação da FQ.²⁰ Considerando que floresceram os esforços para explorar o inflamassoma, os esforços para aproveitar os biomarcadores microbianos como preditores da doença pulmonar diminuíram. Este aspeto é até compreensível, dada a marcada heterogeneidade do curso clínico dos indivíduos infetados com patógenos clássicos da FQ. De facto, os estudos recentes não demonstraram *out-*

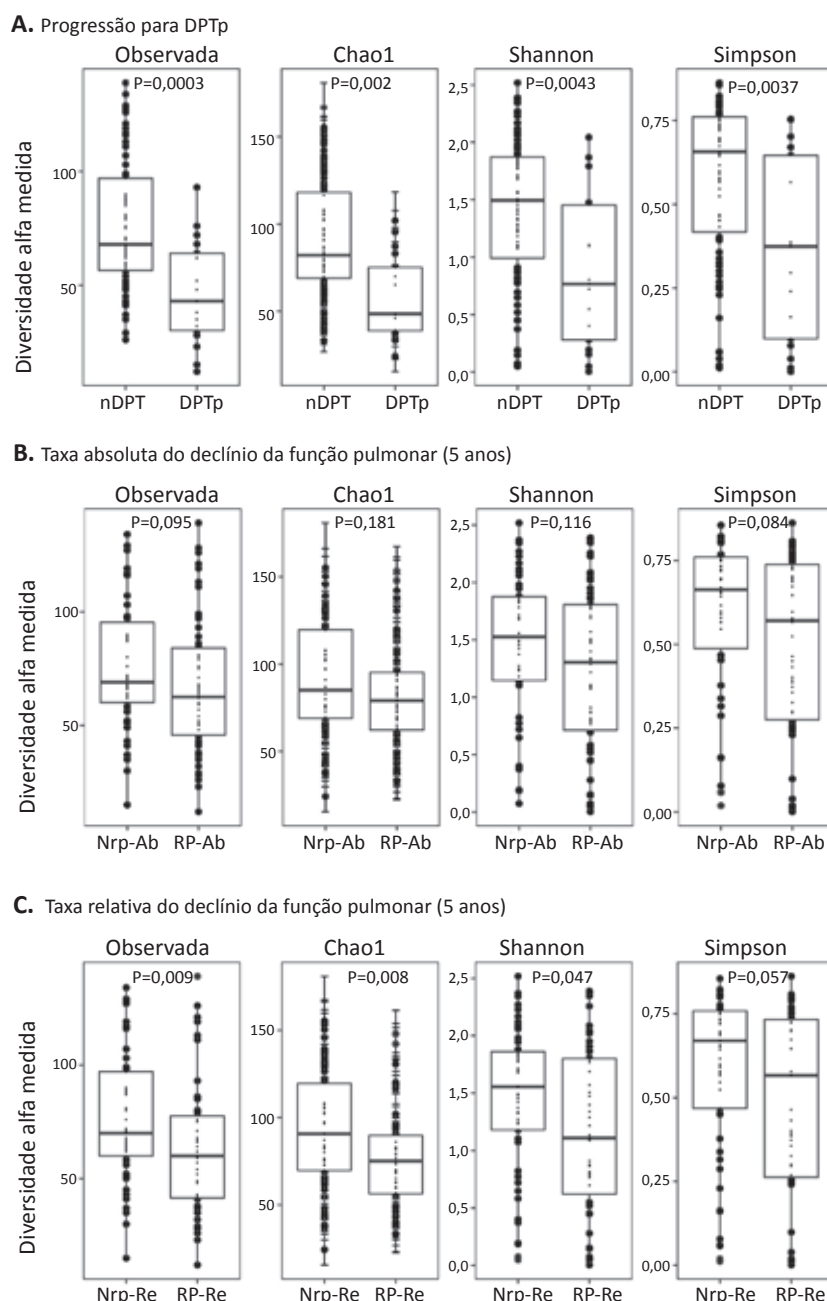


Figura 2 Comparação dos índices de diversidade alfa e *outcomes* primário e secundários. Comparação entre os estimadores de Observada, Chao1, Shannon e Simpson para a progressão para DPTp (A), taxa absoluta da função pulmonar (B) e taxa relativa da função pulmonar (C). A mediana e os IQRs são indicados pelas linhas médias, superior e inferior de cada caixa. Foi realizado o teste da soma dos postos de Wilcoxon. Ab, absoluta; DPTp, doença pulmonar terminal precoce; nDPT, não DPT; Nrp, não rápida progressão; Re, relativa; RP, rápida progressão.

comes diferentes para os doentes com infeções por *P. aeruginosa* incidente que evoluem para cronicidade em relação aos casos em que é erradicada.²⁻⁴ Adicionalmente, para estabelecer certos organismos como o *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina como um patógeno da FQ, foram necessários conjuntos de dados envolvendo milhares de doentes para demonstrar diferenças significativas no declínio do FEV₁, uma vez que o mesmo não foi conseguido com conjuntos menores de dados.²¹ Adicionalmente, estudos recentes não demonstraram haver uma correlação entre os resultados microbiológicos clássicos e os resultados subsequentes.²²⁻²³ Assim, o reconhecimento de uma comunidade diversa e complexa que habita as vias aéreas inferiores mostrou-se atraente.²⁴ Os estudos de coorte transversais demonstraram que os doentes com doença pulmonar avançada têm maior probabilidade de ter comunidades microbianas com diversidade limitada, dominadas por patógenos clássicos da FQ.²⁵ No entanto, são necessários estudos preditivos para entender se o microbioma pode ser aproveitado para prever *outcomes*.

Os nossos dados demonstram que adultos jovens com expetoração com baixa diversidade alfa têm maior risco de progressão para DPTp.

Especificamente, os doentes com SDI <1 ou índice de Simpson <0,5 têm maior risco. Embora ambos os índices meçam a riqueza e a uniformidade (abundância e distribuição de espécies entre uma comunidade), existem algumas diferenças entre as métricas. Em particular, o índice de Simpson tem maior peso nas espécies dominantes em comparação com o SDI.²⁶ Não surpreendentemente, identificamos que a abundância proporcional de *Pseudomonas* dentro de uma comunidade era uma grande impulsionadora deste efeito, com os doentes que progrediram para DPTp apresentando uma maior AR e uma maior probabilidade de ter uma abundância populacional $\geq 50\%$ ou $\geq 75\%$. O outro género que tendeu a ter uma associação negativa com os *outcomes* dos doentes foi a *Stenotrophomonas*.²⁷ Não observamos nenhum organismo que em combinação com a *Pseudomonas* aumentasse o risco de progressão para a DPTp, sugerindo que o patógeno primário na doença pulmonar por FQ continua a ser a *P. aeruginosa*, - quando presente em abundância. No entanto, esta análise pode não ser sensível a interações interespecíficas conhecidas entre a *P. aeruginosa* e os constituintes do microbioma.²⁸⁻²⁹ Nem a presença de *Pseudomonas* em comunidades microbianas nem a compartimentação dicotômica dos doentes por cultura de *P. aerugi-*

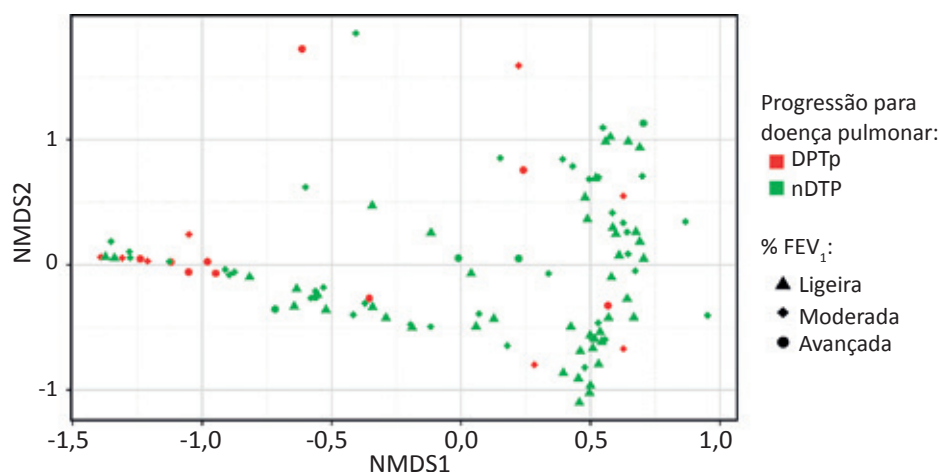


Figura 3 Esquema do NMDS da expetoração na fibrose quística (FQ) em indivíduos com idades compreendidas entre os 18 e os 22 anos. Cada símbolo representa uma comunidade de um doente. Parcelas de diversidade Beta baseadas nas dissimilaridades de Bray-Curtis de doentes com progressão para doença pulmonar terminal precoce (DTPp, vermelho) ou não (nDTP, verde).

As amostras foram codificadas pelo estágio da doença pulmonar na *baseline* no momento da recolha da amostra (ou seja, valores previstos da % do FEV₁: <40% (●), 40%-80% (◆) e >80% (▲)). As amostras foram separadas de acordo com a subsequente progressão para DTPp e o estágio da % do FEV₁ na *baseline* ($p=0,003$, $R^2=3,9\%$ e $p=0,006$, $R^2=3,2\%$, respetivamente, teste da análise da variância multivariada permutacional (PERMANOVA)). NMDS, escalonamento multidimensional não métrico.

nosa positiva/negativa (mesmo quando avaliando a mucóide) foi sensível para estabelecer o risco de progressão para DTPp. Foram observados no presente estudo outros fatores tradicionalmente aceites como estando associados à progressão para óbito/transplante na FQ, incluindo função pulmonar e nutrição na *baseline*^{30,31}, mas não tivemos a capacidade de detetar outros, incluindo diabetes e géneros relacionados com a FQ. Com base no modelo multivariado, descobrimos que apenas a diversidade alfa medida pela SDI e as funções pulmonares na *baseline* estavam independentemente associadas à progressão para DTPp.

Também avaliamos o microbioma no contexto do declínio subsequente da função pulmonar. Avaliamos tanto a taxa absoluta como a relativa do declínio da função pulmonar para garantir a sensibilidade para detetar mudanças nos doentes que que apresentavam doença avançada.³² Escolhemos uma taxa > -3%/ano como sendo desproporcional à esperada e definimos como taxas rápidas de declínio.^{33,34} Observamos uma baixa diversidade microbiana assim como dos fatores convencionais associados à condição da RP relativa incluindo pior função pulmonar na *baseline* e índice de massa corporal, mas não observamos alterações associadas à condição da RP absoluta - embora fossem evidentes tendências semelhantes. Isto é provável porque os indivíduos com doença pulmonar avançada não tinham capacidade de perder função pulmonar > -3%/ano. Zhao *et al.* avaliaram retrospectivamente a expetoração existente num biobanco, relativa a seis Homens com FQ e observaram que os doentes com menor diversidade microbiana tinham maior probabilidade de apresentar progressão da doença.⁶

A abordagem utilizada neste estudo permitiu avaliar a comunidade de doentes que progrediu para DTPp ou se tornou de RP. Os vários dos géneros associados aos grupos de progressão (ie, *Granulicatella* e *Gemella*) foram encontrados em menor AR comparativamente com os quatro géneros principais (ie, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Haemophilus* e *Staphylococcus*). As UTOs com abundância muito baixa podem ter efeitos importantes na estrutura e na patogénese da comunidade bacteriana, como tem sido observado em ambientes não-FQ.³⁵ *Granulicatella spp* e *Gemella spp* são espécies anaeróbias facultativas que têm sido associadas com a FQ e com a AP.^{36,37} De um modo interessante, tem sido sugerido que a *Gemella spp* pode desempenhar um papel na remodelação de uma microbiota normal de FQ para uma dibiótica,²⁴ à medida que sua AR aumenta durante a AP como verificado num estudo.³⁸ Outro estudo também mostrou uma correlação positiva entre a AR de *Granulicatella* e os valores mais elevados de FEV₁ durante os tratamentos iniciais para a AP.³⁹

Também identificamos que a presença de *Streptococcus* numa AR ≥ 25% reduziu o risco de declínio rápido da função pulmonar e de doença pulmonar terminal. Poucos estudos se concentraram no papel do *Streptococcus spp* no *outcome* clínico da FQ.⁴⁰ Entretanto, recentemente foi descrito um mecanismo pelo qual o *Streptococcus parasanguinis* comensal oral pode interferir na patogénese da *P. aeruginosa*.⁴¹ Não observamos que a *Burkholderia* fosse um fator significativo na nossa coorte. No entanto, dos cinco doentes que tinham culturas com *Bcc*, quatro eram *Burkholderia multivorans* e apenas um era *Burkholderia cenocepacia* (uma estirpe não-epidémica

Quadro 2 Abundância relativa de patógenos clássicos da FQ e componentes principais do microbioma da FQ, em função dos *outcomes* clínicos

	Progressão para DTPp			Taxa absoluta de declínio da função pulmonar			Taxa relativa de declínio da função pulmonar		
	nDTP (n = 87)	DTPp (n = 17)	Valores de p	Nrp-Ab (n = 46)	RP-Ab (n = 58)	Valores de p	Nrp-Re (n = 57)	RP-Re (n = 47)	Valores de p
Patógenos clássicos									
<i>Pseudomonas</i>	0,45 (0,03–37)	47,8 (0,1–91,3)	0,04	10,7 (0,04–51,1)	1,1 (0,03–44,2)	0,46	2,17 (0,03–47,8)	3,28 (0,03–48,5)	0,84
<i>Streptococcus</i>	30,6 (12,4–56,6)	7,37 (0,4–19,9)	0,01	32,3 (16,1–50,1)	22,8 (5,1–59)	0,27	34,1 (18,7–56)	15,1 (4,02–56,04)	0,05
<i>Stafilococo</i>	0,32 (0,01–14,3)	0,01 (0,002–7)	0,09	0,16 (0,01–5,1)	1,62 (0,01–18,3)	0,52	0,12 (0,01–5,04)	2,58 (0,008–22,8)	0,17
<i>Haemophilus</i>	1,8 (0,16–16,4)	0,01 (0,01–0,05)	<0,001	1,71 (0,18–7,6)	0,52 (0,02–9,8)	0,21	1,62 (0,1–8,7)	0,28 (0,01–7,9)	0,06
<i>Stenotrophomonas</i>	0 (0–0,002)	0,001 (0–0,07)	0,08	0 (0–0,002)	0 (0–0,004)	0,31	0 (0–0,002)	0 (0–0,003)	0,42
Microbioma principal "não-clássico" *									
<i>Granulicatella</i>	0,79 (0,1–1,89)	0,07 (0,002–0,3)	0,001	0,93 (0,23–2,13)	0,35 (0,02–1,1)	0,01	1,07 (0,2–2,13)	0,26 (0,02–0,81)	<0,001
<i>Gemella</i>	0,73 (0,14–1,9)	0,06 (0,01–0,6)	0,01	1,25 (0,35–1,9)	0,31 (0,02–0,9)	0,002	1,03 (0,31–2,1)	0,24 (0,02–0,8)	<0,001
<i>Rothia</i>	1,16 (0,23–3,4)	0,4 (0,02–0,7)	0,03	1,6 (0,2–3,4)	0,73 (0,08–2,8)	0,08	1,61 (0,2–4,1)	0,62 (0,03–2,1)	0,01
<i>Veillonella</i>	0,26 (0,04–0,7)	0,05 (0,01–0,5)	0,11	0,23 (0,06–0,73)	0,25 (0,02–0,5)	0,26	0,35 (0,07–0,7)	0,15 (0,01–0,4)	0,02
<i>Prevotella</i>	0,57 (0,08–2,8)	0,43 (0,04–1)	0,34	0,68 (0,1–2,2)	0,49 (0,04–2,8)	0,50	0,81 (0,2–2,3)	0,41 (0,03–2,8)	0,17
<i>Fusobacterium</i>	0,21 (0,03–0,5)	0,06 (0,01–0,3)	0,23	0,26 (0,03–0,7)	0,14 (0,01–0,4)	0,12	0,27 (0,04–0,72)	0,09 (0,01–0,43)	0,03

Os dados são apresentados como mediana (%) (IIQ) e foi realizado o teste da soma dos postos de Wilcoxon.

* Microbioma principal refere-se aos géneros recuperados do microbioma da fibrose quística comumente encontrados em doentes, com elevada prevalência.⁴⁷

Ab, absoluta; FQ, fibrose quística; DTPp, doença pulmonar terminal precoce (definida como morte / transplante antes dos 25 anos); nDTP, não DTP; Nrp, não rápida progressão; Re, relativa; RP, rápida progressão.

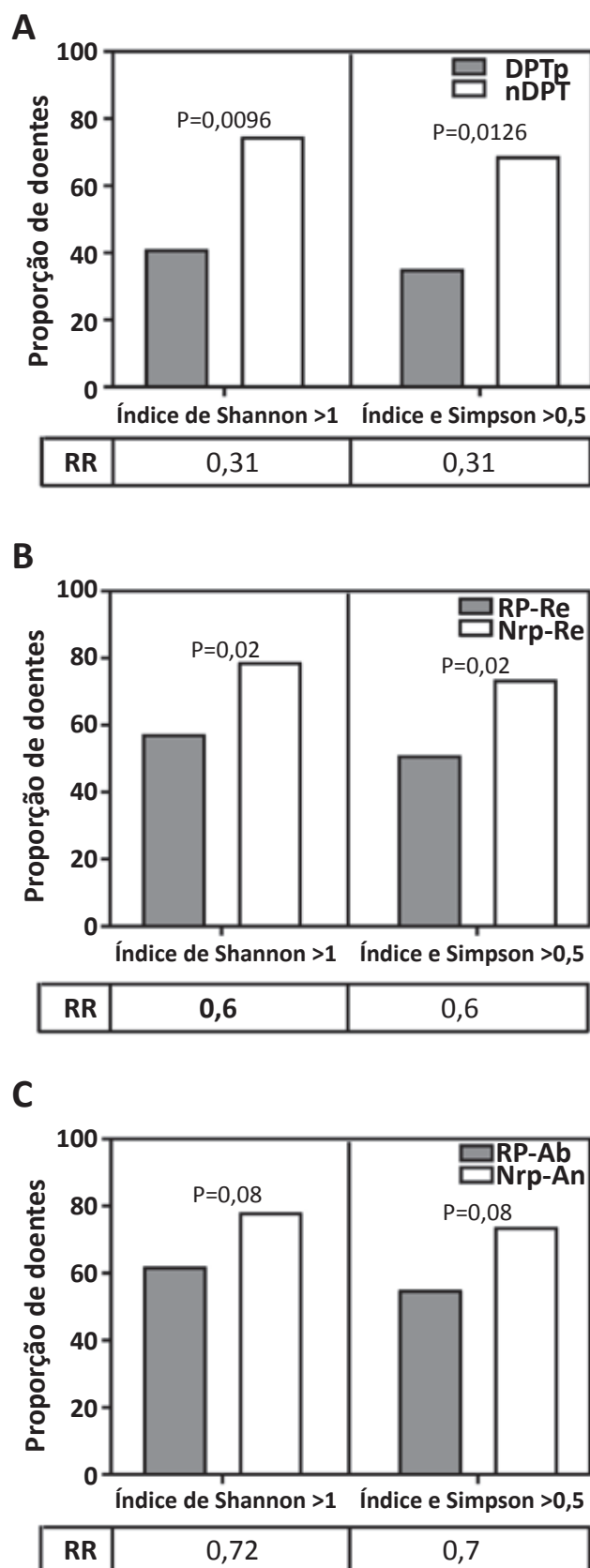


Figura 4 Índices de Shannon e Simpson como biomarcadores para prever a progressão da doença. Comparação da proporção de doentes com índice de Shannon > 1 e índice de Simpson > 0,5 em doentes que progrediram para doença pulmonar terminal precoce (DPTp) ou não (nDPT) (A), em doentes com base nas taxas de declínio relativo da função pulmonar de rápida progressão (RP) e em não rápida progressão (Nrp) (B) e na taxa declínio absoluto da função pulmonar (C). O teste exato de Fisher foi realizado em duas caudas. Ab absoluta; Re, relativa; RR, razão de risco.

Quadro 3 Modelo de regressão logística que prevê a progressão para DPTp em doentes com FQ com idades compreendidas entre os 18 e os 22 anos

Variável	OR (IC 95%)	Valores de p
% FEV ₁ , previsto (<i>baseline</i>)	0,92 (0,8911 a 0,9601)	<0,001
Índice de Shannon	0,23 (0,0593 a 0,9270)	0,039

Na análise univariada, as covariáveis como o índice de diversidade de Shannon e Simpson, FVC, índice de massa corporal (IMC), abundância relativa (AR) de *Pseudomonas* a 50% e 75%, índice de Simpson > 0,5 e AR de *Streptococcus* a 25% foram significativamente associados ao outcome primário e, em seguida, foram considerados para o modelo de regressão logística multivariada. No entanto, no modelo final, estes não foram significativos ($p > 0,05$) e, portanto, foram removidos. O modelo final ($n = 104$) apresentou boa calibração (ajuste de qualidade $p = 0,99$) e discriminação (área sob a curva das características de operação do recetor (ROC) = 0,92). FQ, fibrose quística; DPTp, doença pulmonar terminal precoce.

que foi subsequentemente erradicada) talvez explicando as respostas ligeiras observadas.⁴²

Embora descrevamos possíveis biomarcadores de microbioma da FQ para a previsão da progressão da doença, é importante destacar que a FQ é uma doença complexa que ocorre como uma combinação da colonização microbiana, resposta imunitária do hospedeiro, estado nutricional e comorbilidades relacionadas com a FQ, que se torna mais complexa devido a fatores inerentes ao doente, incluindo tratamentos, *compliance*, ambiente e nível socio-económico.⁴³ Os biomarcadores baseados na microbioma descritos neste estudo foram mais preditivos para a progressão para DPTp do que os *outcomes* secundários como, o declínio acelerado da função pulmonar, que destacamos a complexidade da sua utilização, pois pode ser afetado por fatores extrínsecos.

Reconhecemos uma série de limitações. Este trabalho representa uma análise retrospectiva da expetoração recolhida prospectivamente de 104 indivíduos de um único centro de FQ - enquanto a maioria dos estudos epidemiológicos sobre patógenos exigiu milhares de doentes para demonstrar o potencial patogénico.⁴⁴ No entanto, este é o maior estudo que visa a microbiota da FQ - focando especificamente indivíduos que se encontram na fase de maior risco de progressão da doença (idade adulta jovem).^{9,10} De facto, o momento de transição, em que está envolvida uma equipa de atendimento completamente nova, pode ser o momento ideal para testar uma nova tecnologia. É desconhecido se estes resultados podem ser extrapolados para outras faixas etárias. Embora a exclusão de amostras de doentes com AP/terapias antibióticas resultasse numa redução modesta do tamanho da coorte, eliminamos as pressões seletivas de confusão dos antibacterianos sistémicos.⁴⁵ Quando focamos os resultados numa única amostra de cada indivíduo, validamos que o microbioma de um indivíduo é relativamente consistente.¹¹ Embora tenhamos tentado criar um grande grupo homogêneo ao incluir 104 indivíduos com idades semelhantes, incluímos indivíduos recrutados durante um período de quase 20 anos - uma potencial preocupação de reconhecer que as coortes anteriores apresentam uma taxa de declínio superior.⁴⁶ No entanto, trabalhos anteriores do nosso grupo não demonstraram grandes diferenças no microbioma de adultos jovens durante estes períodos e nem os nossos *outcomes* primário e secundários foram desproporcionais aos observados em amostras mais antigas.¹¹ Embora a utilização das regiões V3-V4 para identificar constituintes do microbioma tenha uma capacidade modesta de identificar UTO para a espécie, *P. aeruginosa* predominante. De facto, dos 104 doentes de nossa coorte, nenhum teve uma cultura com *Pseudomonas* não eruginosa.

CONCLUSÃO

Observamos que os adultos jovens com FQ e com baixa diversidade de microbiomas, dominados pelo patógeno arquetípico da FQ, *P. aeruginosa*, têm maior probabilidade de progredir para DPTp e/ou, subsequentemente, experimentarem um declínio exagerado da função pulmonar. Por outro lado, os que apresentam uma comunidade diversificada, dominada por organismos como o *Streptococcus*, eram mais propensos a ter um curso clínico mais ligeiro. Esses novos biomarcadores poderiam ser utilizados na identificação de doentes com FQ com risco aumentado de progressão

Quadro 4 Relação entre os *outcomes* clínicos e a percentagem especificada de abundância relativa de microbiota da FQ

UTO	Progressão para DPTp			Taxa absoluta de declínio da função pulmonar					Taxa relativa do declínio da função pulmonar							
	Proporção de leituras completas (n = 1,0)	Proporção de indivíduos com AR (%) *	nDPT (n = 87)	DPTp (n = 17)		Valores de p †			RR	Valores de p †			RR	RP-Re (n = 47)	RR	Valores de p †
				RR	RR	RR	RP-Ab (n = 46)	RP-Ab (n = 58)		RR	RR	RR				
<i>Pseudomonas</i>	0,28	≥75	29(33,3)	9(52,9)	1,9	0,12	19(41,3)	19(32,7)	0,8	0,36	21(36,8)	17(36,1)	0,9	0,94		
		≥50	17(19,5)	8(47,1)	2,8	0,01	12(26,1)	13(22,4)	0,9	0,66	11(23,4)	11(23,4)	0,9	0,89		
		≥75	8(9,2)	8(47,1)	4,8	<0,001	6(13,1)	10(17,2)	1,1	0,55	7(12,2)	9(19,1)	1,3	0,33		
<i>Streptococcus</i>	0,33	≥75	56(64,3)	4(23,5)	0,2	<0,001	32(69,5)	28(48,2)	0,6	0,02	39(68,4)	21(44,6)	0,5	0,01		
		≥50	28(32,1)	3(17,6)	0,5	0,23	12(26,1)	19(32,7)	1,1	0,46	18(31,5)	13(27,6)	0,9	0,66		
		≥75	4(4,6)	0(0)	0	0,36	1(2,1)	3(5,1)	1,3	0,42	2(3,5)	2(4,2)	1,1	0,84		
<i>Estafilococo</i>	0,12	≥75	16(18,3)	2(11,7)	0,6	0,50	6(13,1)	12(20,6)	1,2	0,30	7(12,2)	11(23,4)	1,4	0,13		
		≥50	7(8,05)	1(5,8)	0,7	0,75	2(4,3)	6(10,3)	1,3	0,25	2(3,5)	6(12,7)	1,7	0,07		
		≥75	4(4,6)	1(5,8)	1,2	0,82	1(2,1)	4(6,9)	1,4	0,26	1(1,7)	4(8,5)	1,8	0,11		
<i>Haemophilus</i>	0,11	≥75	16(18,3)	0(0)	0	0,05	6(13,1)	10(17,2)	1,1	0,55	8(14,1)	8(17,02)	1,1	0,67		
		≥50	12(13,7)	0(0)	0	0,10	4(8,7)	8(13,7)	1,2	0,41	6(10,5)	6(12,7)	1,1	0,72		
		≥75	7(8,05)	0(0)	0	0,22	2(4,3)	5(8,6)	1,3	0,38	3(5,2)	4(8,5)	1,2	0,51		
<i>Granulicatella</i>	0,01	≥0,75	44(50,5)	4(23,5)	0,3	0,04	27(59,7)	21(36,2)	0,6	0,02	35(61,4)	13(27,6)	0,4	0,001		
		≥0,75	43(49,4)	3(17,6)	0,2	0,01	28(60,8)	18(31,0)	0,5	<0,001	33(57,8)	13(27,6)	0,4	0,002		
		≥3	24(27,5)	3(17,6)	0,6	0,39	13(28,2)	14(24,1)	0,9	0,63	19(33,3)	8(17)	0,5	0,05		
<i>Veillonella</i>	0,005	≥0,25	46(52,8)	6(35,2)	0,5	0,18	22(47,8)	30(51,7)	1,1	0,69	32(56,1)	20(42,5)	0,7	0,16		
<i>Prevotella</i>	0,02	≥3	20(22,9)	3(17,6)	0,7	0,62	10(21,7)	13(22,4)	1,0	0,93	12(21,1)	11(23,4)	1,1	0,77		
<i>Stenotrophomonas</i>	0,02	≥1	3(3,4)	2(11,7)	2,6	0,14	1(2,1)	4(6,9)	1,4	0,26	1(1,7)	4(8,5)	1,8	0,10		
<i>Fusobacterium</i>	0,01	≥0,2	45(51,7)	7(41,1)	0,7	0,42	26(56,5)	26(44,8)	0,8	0,23	32(56,1)	20(42,5)	0,7	0,16		

Razão de risco (RR): 1,0 representa o risco aumentado do *outcome*.* Os dados são apresentados como n (%) dos doentes analisados que tinham uma percentagem específica de AR para alguns membros da microbiota da FQ. Para as primeiras quatro UTIs (ou seja, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* e *Haemophilus*), a análise da razão de risco foi avaliada tendo em conta três faixas diferentes de AR (ou seja, ≥25%, ≥50% e ≥75%). Para os principais organismos do microbioma, a percentagem específica de AR foi determinada com base no percentil 50.

† foram realizados testes B2. Ab absoluta, FQ, fibrose quística; DPTp, doença pulmonar terminal precoce (definida como morte/transplante antes dos 25 anos); nDPTp, não DPTp; Nrp, não rápida progressão; UTI, unidade taxonómica operacional; RA, abundância relativa; Re, relativa; RP, rápida progressão.

da doença para monitorização e tratamento mais intensivos. Estes resultados apoiam estudos multicêntricos de colaboração em larga escala que avaliam o microbioma como um novo biomarcador.

Agradecimentos Agradecemos à equipa da Calgary Adult CF Clinic e dos Calgary Laboratory Services pelos seus esforços contínuos para preencher e manter o CAC FC Biobank.

Contribuições NA foi a principal responsável pela recolha de amostras de expetoração, extração e análise de microbiomas. As análises das amostras e análises estatísticas foram realizadas por NA, AH, MGS, MLW, CDS e RS. NA, HRR, CDS e MDP foram responsáveis pela recolha e manutenção do CAC FC Biobank e registos do atendimento clínico e documentação. NA foi responsável pela criação do rascunho inicial do manuscrito. Todos os autores contribuíram para o desenvolvimento do manuscrito final. O MDP é o responsável por este trabalho.

Financiamento Este estudo foi apoiado por uma bolsa do Canadian Institute of Health Research ao MDP, número de concessão 364568.

Conflitos de interesses MDP, HRR e MGS receberam financiamento de investigação da Gilead Sciences. O MDP e o HRR participaram em advisory boards e / ou realizaram trabalhos de consultoria para a Vertex, mas ambos recusaram honorários. NA, AH, RS, MLW e CDS não têm conflitos a declarar.

Consentimento do doente Não foi necessário.

Aprovação de ética Health Research Ethics Board of the University of Calgary (REB-15-2744).

Proveniência e revisão por pares Não comissionados; revisto externamente por pares.

REFERÊNCIAS

- Lyczak JB, Cannon d, Pier GB. Lung infections associated with cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:194–222.
- Mayer-Hamblett n, Kloster M, rosenfeld M, et al. impact of Sustained eradication of new *Pseudomonas aeruginosa* infection on long-term Outcomes in cystic Fibrosis. *Clin Infect Dis* 2015;61:707–15.
- Zemanick et, emerson J, thompson V, et al. clinical outcomes after initial *Pseudomonas* acquisition in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2015;50:42–8.
- Burkett, Vandemheen K, Giesbrecht-lewis t, et al. Persistence of *Pseudomonas aeruginosa* in sputum cultures and clinical outcomes in adult patients with cystic fibrosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31:1603–10.
- Sibley CD, Parkins MD, rabin Hr, et al. a polymicrobial perspective of pulmonary infections exposes an enigmatic pathogen in cystic fibrosis patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:15070–5.
- Zhao J, Schloss PD, Kalikin IM, et al. Decade-long bacterial community dynamics in cystic fibrosis airways. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:5809–14.
- Klepac-ceraj V, lemon KP, Martin tr, et al. relationship between cystic fibrosis respiratory tract bacterial communities and age, genotype, antibiotics and *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ Microbiol* 2010;12:1293–303.
- Carmody la, Zhao J, Schloss PD, et al. changes in cystic fibrosis airway microbiota at pulmonary exacerbation. *Ann Am Thorac Soc* 2013;10:179–87.
- Towns SJ, Bell SC. Transition of adolescents with cystic fibrosis from paediatric to adult care. *Clin Respir J* 2011;5:64–75.
- Liou tg, elkin eP, Pasta Dj, et al. Year-to-year changes in lung function in individuals with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2010;9:250–6.
- Acosta n, Whelan FJ, Somayaji r, et al. the evolving cystic Fibrosis Microbiome: a comparative cohort Study Spanning 16 Years. *Ann Am Thorac Soc* 2017;14:1288–97.
- Quon BS, Sykes J, Stanojevic S, et al. clinical characteristics of cystic fibrosis patients prior to lung transplantation: an international comparison between canada and the United States. *Clin Transplant* 2018;32:e13188.
- Stephenson al, Sykes J, Stanojevic S, et al. Survival comparison of Patients With cystic Fibrosis in canada and the United States: a Population-Based cohort Study. *Ann Intern Med* 2017;166:537–46.
- Ketchell ri, roughton M, agent P, et al. Predicting survival in end-stage cystic fibrosis. *Respir Med* 2009;103:1441–7.
- rosenbluth DB, Wilson K, Ferkol t, et al. lung function decline in cystic fibrosis patients and timing for lung transplantation referral. *Chest* 2004;126:412–9.
- Vandenbranden sl, McMullen a, Schechter MS, et al. lung function decline from adolescence to young adulthood in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2012;47:135–43.
- Sawicki g, Konstan M, McKone e, et al. rate of lung Function Decline in Patients with cystic Fibrosis (cF) Having a residual Function gene Mutation. American Thoracic Society 2017 International Conference; Washington: American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 2017:a4847–a.
- Bond SJ, timsit e, Workentine M, et al. Upper and lower respiratory tract microbiota in horses: bacterial communities associated with health and mild asthma (inflammatory airway disease) and effects of dexamethasone. *BMC Microbiol* 2017;17:184.
- Anderson MJ, a new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology* 2001;26:32–46.
- Quon BS, Dai DI, Hollander Z, et al. Discovery of novel plasma protein biomarkers to predict imminent cystic fibrosis pulmonary exacerbations using multiple reaction monitoring mass spectrometry. *Thorax* 2016;71:216–22.
- Dasenbrook ec, Merlo ca, Diener-West M, et al. Persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and rate of FeV1 decline in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;178:814–21.
- Lam Jc, Somayaji r, Surette Mg, et al. reduction in *Pseudomonas aeruginosa* sputum density during a cystic fibrosis pulmonary exacerbation does not predict clinical response. *BMC Infect Dis* 2015;15:145.
- Parkins MD, rendall Jc, elborn JS. incidence and risk factors for pulmonary exacerbation treatment failures in patients with cystic fibrosis chronically infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Chest* 2012;141:485–93.
- Rogers gB, Bruce KD, Hoffman lr. How can the cystic fibrosis respiratory microbiome influence our clinical decision-making? *Curr Opin Pulm Med* 2017;23:536–43.
- Baccig, Paganin P, lopez l, et al. Pyrosequencing Unveils cystic Fibrosis lung Microbiome Differences associated with a Severe lung Function Decline. *PLoS One* 2016;11:e0156807.
- Morris ek, curso t, Buscot F, et al. choosing and using diversity indices: insights for ecological applications from the german Biodiversity exploratories. *Ecol Evol* 2014;4:3514–24.
- Waters V, atenufu eg, lu a, et al. chronic *Stenotrophomonas maltophilia* infection and mortality or lung transplantation in cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros* 2013;12:482–6.
- Sibley cD, Duan K, Fischer c, et al. Discerning the complexity of community interactions using a *Drosophila* model of polymicrobial infections. *PLoS Pathog* 2008;4:e1000184.
- Whiley ra, Sheikh nP, Mushtaq n, et al. Differential potentiation of the virulence of the *Pseudomonas aeruginosa* cystic fibrosis liverpool epidemic strain by oral commensal *Streptococci*. *J Infect Dis* 2014;209:769–80.
- Belkina, Henig nr, Singer lg, et al. risk factors for Death of Patients with cystic Fibrosis awaiting lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;173:659–66.
- Chamnan P, Shine BS, Haworth cS, et al. Diabetes as a determinant of mortality in cystic fibrosis. *Diabetes Care* 2010;33:311–6.
- Szczesiński r, Heltshel sl, Stanojevic S, et al. Use of FeV1 in cystic fibrosis epidemiologic studies and clinical trials: a statistical perspective for the clinical researcher. *J Cyst Fibros* 2017;16:318–26.
- Konstan MW, Morgan WJ, Butler SM, et al. risk factors for rate of decline in forced expiratory volume in one second in children and adolescents with cystic fibrosis. *J Pediatr* 2007;151:134–9.
- Cogen J, emerson J, Sanders DB, et al. risk factors for lung function decline in a large cohort of young cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol* 2015;50:763–70.
- Hajishengallis g, liang S, Payne Ma, et al. low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement. *Cell Host Microbe* 2011;10:497–506.
- LiPuma JJ. assessing airway Microbiota in cystic Fibrosis: What More Should Be Done? *J Clin Microbiol* 2015;53:2006–7.
- Caverly lj, Zhao J, liPuma JJ. cystic fibrosis lung microbiome: opportunities to reconsider management of airway infection. *Pediatr Pulmonol* 2015;50(S40):S31–8.
- Carmody la, Zhao J, Kalikin IM, et al. the daily dynamics of cystic fibrosis airway microbiota during clinical stability and at exacerbation. *Microbiome* 2015;3:12.
- Zemanick et, Harris JK, Wagner BD, et al. inflammation and airway microbiota during cystic fibrosis pulmonary exacerbations. *PLoS One* 2013;8:e62917.
- Parkins MD, Sibley cD, Surette Mg, et al. The *Streptococcus milleri* group—an unrecognized cause of disease in cystic fibrosis: a case series and literature review. *Pediatr Pulmonol* 2008;43:490–7.
- Scoffield Ja, Duan D, Zhu F, et al. a commensal *Streptococcus hijacks* a *Pseudomonas aeruginosa* exopolysaccharide to promote biofilm formation. *PLoS Pathog* 2017;13:e1006300.
- ledson MJ, gallagher MJ, Jackson M, et al. Outcome of *Burkholderia cepacia* colonisation in an adult cystic fibrosis centre. *Thorax* 2002;57:142–5.
- Mallory gB. Predicting Disease Progression in cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;186:4–5.
- Dasenbrook ec, checkley W, Merlo ca, et al. association between respiratory tract methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and survival in cystic fibrosis. *JAMA* 2010;303:2386–92.
- Nielsen S, needham B, leach St, et al. Disrupted progression of the intestinal microbiota with age in children with cystic fibrosis. *Sci Rep* 2016;6:24857.
- Taylor-robinson D, Whitehead M, Diderichsen F, et al. Understanding the natural progression in %FeV1 decline in patients with cystic fibrosis: a longitudinal study. *Thorax* 2012;67:860–6.
- Surette Mg. the cystic fibrosis lung microbiome. *Ann Am Thorac Soc* 2014;11 Suppl 1:S61–S65

Estimativas de prevalência e fatores de risco para a presença de sibilos na primeira infância em toda a Europa: coorte de nascimentos do EuroPrevall

Anna Selby,¹ Alasdair Munro,² Kate E Grimshaw,^{1,3} Victoria Cornelius,⁴ Thomas Keil,^{5,6} Linus Grabenhenrich,^{7,8} Michael Clausen,⁹ Ruta Dubakienė,¹⁰ Alessandro Fiocchi,¹¹ Marek L Kowalski,¹² Nikolaos G Papadopoulos,^{13,14} Marta Reche,¹⁵ Sigurveig T Sigurdardottir,¹⁶ Aline B Sprickelman,¹⁷ Paraskevi Xepapadaki,¹³ E N Clare Mills,¹⁸ Kirsten Beyer,¹⁹ Graham Roberts^{1,20,21}

► Informação adicional encontra-se publicada apenas *online*. Para a consultar, visite por favor o jornal *online* (<http://dx.doi.org/10.1136/thoraxjnl-2016-209429>).

Para as afiliações numeradas, consulte o final do artigo.

Correspondência para Professor Graham Roberts, Alergia Pediátrica e Medicina Respiratória, Southampton University Hospital NHS Foundation Trust, Southampton SO16 6YD, Reino Unido; g.c.roberts@soton.ac.uk

Recebido a 13 de setembro de 2016

Revisto a 8 de janeiro de 2018

Aceite a 29 de janeiro de 2018

Publicado inicialmente *online* a 10 de maio de 2018



► <http://dx.doi.org/10.1136/thoraxjnl-2018-211660>



RESUMO

Enquadramento Os sibilos em idade pré-escolar são um problema importante em todo o mundo. Não foi realizado anteriormente nenhum estudo comparativo com base populacional, abrangendo diferentes países.

Objetivo Avaliar a prevalência de sibilos na primeira infância em toda a Europa e avaliar os fatores de risco com foco na alergia alimentar, aleitamento materno e exposição ao fumo.

Métodos Foram recrutados bebês de nove países para a coorte de nascimentos EuroPrevall. Aos 12 e aos 24 meses, foram recolhidos através de questionários os dados sobre sibilos, sinais/sintomas alérgicos, alimentação, exposição ao fumo, infeções e frequência de creche. Foi utilizada a regressão de Poisson para avaliar os fatores de risco para os sibilos.

Resultados Foram recrutados 12 049 bebês. Os dados do segundo ano de vida estavam disponíveis para 8805 (73,1%). A prevalência de sibilos no segundo ano de vida variou entre <2% em Lodz (Polónia) e Vilnius (Lituânia) a 13,1% (IC 95% 10,7% a 15,5%) em Southampton (Reino Unido) e 17,2% (IC 95% 15,0% a 19,5%) em Reikiavique (Islândia). Na análise multivariável, a frequência de infeções do trato respiratório inferior no primeiro e segundo anos de vida (taxa de incidência (IRR) 1,9 (IC 95% 1,3 a 2,6) e 2,5 (IC95% 1,9 a 3,4), respetivamente), tabagismo materno pós-natal (IRR 1,6, IC 95% 1,1 a 2,4), frequência de creche (IRR 1,6, IC 95% 1,1-2,5) e sexo masculino (IRR 1,3, IC 95% 1,0 a 1,7) foram associados a sibilos. A força da associação com os sibilos diferiu entre os países. A alergia alimentar e o aleitamento materno não foram independentemente associados a sibilos.

Conclusão A prevalência de sibilos na primeira infância variou consideravelmente em toda a Europa. As infeções do trato respiratório inferior, frequência de creches, exposição pós-natal ao fumo e sexo masculino são fatores de risco importantes. São necessários mais estudos para identificar os fatores de risco modificáveis adicionais que podem diferir entre os países.

INTRODUÇÃO

Os sibilos em idade pré-escolar afetam aproximadamente um terço das crianças nos primeiros 3 anos de vida, sobrecarregando os cuidados de saúde.^{1,2} Os fatores genéticos desempenham um papel na etiologia dos sibilos em idade pré-escolar e da asma.³ No entanto, o International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) e European Community Health Respiratory Survey (ECHRS) reconheceram que os fatores ambientais são predominantemente responsáveis por variações geográficas da prevalência de asma. Estes estudos examinaram padrões internacionais de prevalência de sintomas de asma em crianças em idade escolar e

Mensagens-chave

Qual é a pergunta-chave?

► Como varia a prevalência de sibilos na primeira infância em toda a Europa e quais são os principais fatores de risco?

Que conclusão foi alcançada?

► Este estudo demonstrou que a prevalência de sibilos na primeira infância varia consideravelmente em toda a Europa e que as infeções do trato respiratório inferior, tabagismo materno pós-natal, frequência de creches e sexo masculino são fatores de risco importantes.

Porque vale a pena ler este artigo?

► Este é o primeiro estudo multicêntrico de coorte para comparar a prevalência e explorar os fatores de risco para os sibilos na primeira infância em toda a Europa.

em adultos, respectivamente.^{4,5} Um estudo investigou os sibilos em idade pré-escolar aos 4 anos de idade, mas usou dados de 10 coortes independentes em oito países.⁶ As taxas de sibilos em idade pré-escolar dentro de uma única coorte multicêntrica podem fornecer novas pistas etiológicas.

Os fatores de risco estabelecidos para sibilos em idade pré-escolar incluem sexo masculino, história familiar de doença alérgica, exposição ao fumo do cigarro, infeções do trato respiratório e frequência de creches.^{2,3,7,8} O papel da amamentação no desenvolvimento de doenças alérgicas e de asma tem sido extensivamente investigado com resultados inconclusivos.⁹⁻¹¹ Vários estudos relatam que o aleitamento materno exclusivo pelo menos durante 4 meses protege contra os sibilos na infância.^{12,13} Entretanto, outros sugeriram que atrasar a introdução de sólidos pode aumentar o risco.^{14,15} As diferenças metodológicas podem explicar as discrepâncias entre os estudos. Portanto, a realização de grandes estudos multicêntricos ajudaria a esclarecer o papel das práticas de alimentação infantil no desenvolvimento de sibilos em idade pré-escolar. Outra lacuna de conhecimento que precisa de ser abordada é a relação entre a alergia alimentar e os sibilos em idade pré-escolar. Numerosos estudos mostraram que a alergia alimentar e a asma estão intimamente ligadas.¹⁶ No entanto, poucos estudos investigaram a relação entre a alergia alimentar e os sibilos em idade pré-escolar. Em particular, faltam

Para citar: Selby A, Munro A, Grimshaw Ke, et al. Thorax 2018;73:1049–1061.

estudos que utilizem testes alimentares controlados com placebo, com dupla ocultação (TACPDO).

Este estudo teve como objetivo determinar a prevalência dos sibilos nos primeiros 2 anos de vida em toda a Europa. Adicionalmente, o objetivo foi avaliar os fatores de risco para os sibilos, com foco na alergia alimentar, alimentação infantil e exposição ao fumo do cigarro. A nossa hipótese é que a alergia alimentar de início precoce aumenta o risco de sibilos na primeira infância e que a maior duração da amamentação e o aumento da sobreposição entre a amamentação e os sólidos são fatores protetores. Foram consideradas muitas outras potenciais influências, incluindo a exposição ao fumo do cigarro durante a gravidez e na infância, o peso à nascença, a duração do parto e gestação.

MÉTODOS

Desenho do estudo

A coorte de nascimentos EuroPrevall foi estabelecida entre 2005 e 2010. A metodologia e as características na *baseline* foram previamente reportadas.^{17,18} A avaliação iniciou-se à nascença com o seguimento dos participantes aos 12 e 24 meses, utilizando questionários padronizados baseados nos utilizados em estudos epidemiológicos anteriores como o ISAAC. Os questionários foram realizados por telefone ou pessoalmente, por pessoal treinado. As avaliações adicionais, incluindo teste cutâneo, medição de IgE específica com ou sem TACPDO foram realizadas de acordo com um protocolo padronizado, sempre que os pais relataram sintomas sugestivos de alergia alimentar nas suas crianças.^{17,18}

População do estudo

As famílias foram recrutadas no período pré-natal e pós-natal em nove centros do estudo: Reiquiavique (Islândia), Southampton (Reino Unido), Amsterdão (Holanda), Berlim (Alemanha), Lodz (Polónia), Vilnius (Lituânia), Madrid (Espanha), Milão (Itália) e Atenas (Grécia).¹⁷

Os critérios de inclusão foram a idade gestacional de pelo menos 34 semanas e boa condição à nascença (índice de Apgar de pelo menos 7 em 5 minutos). As famílias que não foram capazes de dar consentimento informado e as crianças que participavam noutros estudos que estudavam a doença alérgica foram excluídos. O consentimento informado escrito foi obtido de todos os pais.^{17,18}

Os questionários de seguimento nem sempre foram concluídos nas idades pretendidas de 12 e 24 meses. Os participantes foram incluídos nesta análise se os dados foram recolhidos entre as idades de 6 meses e menos de 18 meses (dados do 1º ano) ou 18 e 30 meses de idade (dados do 2º ano).

Exposições

No recrutamento, os dados foram recolhidos com base nos detalhes do parto, dieta materna, história familiar, escolaridade materna (como um marcador de nível socioeconómico) e exposições ambientais, incluindo o fumo do cigarro e a posse de animais de estimação.

Os questionários dos 12 e 24 meses incluíram uma extensa lista de alimentos encontrados em dietas infantis. Os pais foram questionados se o filho havia experimentado cada alimento e, em caso afirmativo, quando tinha sido a primeira vez. Os pais também foram questionados se o seu filho tinha sido amamentado e, em caso afirmativo, durante quanto tempo. Utilizando estes dados, foi determinada a idade em que foram introduzidos os sólidos pela primeira vez e a sobreposição (em meses) entre a amamentação e os sólidos, para cada criança.

Foram geradas diversas variáveis dicotómicas de tabagismo utilizando os dados recolhidos no início do estudo e aos 12 meses. Estas encontram-se descritas no apêndice A, juntamente com as outras variáveis da *baseline* e do seguimento, que foram avaliadas como potenciais fatores de risco. Estas incluíram frequência de creches, infeções do trato respiratório e eczema.

A alergia alimentar foi definida como positiva através de TACPDO ou história clara de anafilaxia para qualquer alimento nos primeiros 24 meses de vida. As crianças com alergia alimentar foram subdivididas em crianças com alergia alimentar mediada por IgE e não mediada por IgE. A alergia alimentar mediada por IgE foi definida como alergia alimentar com teste cutâneo positivo (≥ 3

mm pápula) ou IgE específica positiva ($\geq 0,35$ kU/L) a qualquer momento durante o seguimento.

Outcomes

Os sibilos no segundo ano de vida foi o *outcome* primário para esta análise. As perguntas relacionadas com a sibilância incluem: “Nos últimos 12 meses, o seu filho teve “gatinhos” ou “apitos” no peito?” (questionário dos 12 meses) e “Entre as idades de 13 a 24 meses, o seu filho teve “gatinhos” ou “apitos” no peito quando não estava constipado?” (questionário dos 24 meses). As crianças foram definidas como tendo sibilos no segundo ano de vida se os pais respondessem sim a qualquer uma destas perguntas dentro do intervalo de tempo especificado para recolha de dados referentes aos dois anos. Foi realizada uma análise secundária comparando os que apresentavam sibilos recorrentes (sibilos no primeiro e segundo anos de vida) a um grupo que nunca apresentou sibilos.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada usando o STATA SE V.13. As características na *baseline* e as exposições dos participantes foram descritas para toda a coorte, separadamente para cada centro e para os que não registaram sibilos no segundo ano de vida. Nenhum dado foi imputado. As diferenças entre os centros foram examinadas, foi realizada a estatística descritiva apropriada e as diferenças foram comparadas utilizando o χ^2 (variáveis dicotómicas / categóricas), análise unidirecional de variância (variáveis contínuas, normalmente distribuídas) ou Kruskal-Wallis (variáveis contínuas, não distribuídas normalmente). A regressão de Poisson foi utilizada para identificar os fatores de risco para sibilos no segundo ano de vida. As variáveis associadas aos sibilos ($P < 0,1$), alergia alimentar e variáveis relacionadas com a alimentação e com a exposição ao fumo do cigarro foram inseridas num modelo multivariado. Foi incluída no modelo uma variável *dummy* para o centro de estudo (usando Reiquiavique como o centro de *baseline*) para contabilizar a heterogeneidade entre os centros. As variáveis não eram incluídas se fossem explicadas através de combinações de outras variáveis, por exemplo, a doença alérgica e a rinite alérgica. Numa análise de sensibilidade foram gerados três modelos multivariáveis alternativos. O modelo um de sensibilidade foi derivado através da aplicação da supressão reversa ao modelo primário; ou seja, as variáveis foram removidas sequencialmente (começando com a variável com a mais fraca associação com os sibilos) até que apenas permanecessem no modelo as que apresentavam um valor de $P \leq 0,05$. Os modelos dois e três de sensibilidade foram semelhantes ao modelo primário e ao modelo um de sensibilidade, respetivamente, mas não incluíram o centro de estudo. Foram usados testes de razão de verossimilhança para testar a adequação do ajuste dos modelos multivariáveis. Foram inseridas associações significativas do modelo primário num modelo multivariado separado para examinar a importância nos centros individualmente.

RESULTADOS

Participantes

A coorte do EuroPrevall incluiu 12 049 bebés. Um total de 6189 (51,4%) era do sexo masculino. As características dos participantes na *baseline* variaram consideravelmente entre centros (quadro 1 e quadro complementar online S1).¹⁸ Após a exclusão de participantes que se encontravam fora das faixas etárias de seguimento especificadas para os dados do 1º ano e 2º ano, estavam disponíveis dados de seguimento de 8174 bebés (67,8%) para o 1º ano e de 8805 bebés (73,1%) para o 2º ano (figura 1). As taxas de seguimento variaram entre os centros (quadro complementar online S2). As características na *baseline* dos participantes com dados de 2 anos foram semelhantes aos dos que não tinham dados (quadro complementar online S3).

Prevalência de sibilos e potenciais fatores de risco

A prevalência de sibilos no segundo ano de vida em todos os centros foi de 7,8%, variando de 1,7% em Lodz a 17,2% em Reiquiavique (quadro 2 e figura 2). Também foram observadas grandes diferenças na prevalência de sibilos recorrentes, variando de 0,3% em Vilnius a 10% em Reiquiavique (quadro 2).

Entre as crianças incluídas nesta análise, a prevalência de alergia alimentar variou entre 0,1% em Atenas e 3% em Southampton. A maioria dos casos de alergia alimentar foi mediada por IgE (quadro 3). A duração média do aleitamento materno foi de 6,1 meses no total, variando entre 4,3 meses em Atenas e 8,5 meses em Reiquiavique. A idade de introdução dos sólidos foi semelhante em toda a Europa, variando entre os 5,0 meses e os 5,7 meses. O tabagismo materno (durante a gestação e pós-natal) também variou consideravelmente entre os centros (quadro 3).

Associação dos fatores de risco com sibilos no segundo ano de vida

Alergia alimentar

21,5% das crianças com alergia alimentar apresentavam sibilos no segundo ano de vida, em comparação com 7,6% das crianças sem alergia alimentar. Embora a alergia alimentar tenha sido associada à sibilância no segundo ano de vida na análise univariada (taxa de incidência bruta (IRR) 2,84, IC 95% 1,92 a 4,20, $P < 0,001$) (quadro 4a), essa associação não foi consistente entre os centros (quadro complementar *online* S6) e não foi significativa após o ajuste para potenciais fatores de confusão (IRR ajustada 1,26, IC 95% 0,55 a 2,91, $P 0,589$) (quadro 4a).

Práticas de alimentação

Na análise univariada, em alguns centros o aleitamento materno, o maior tempo de aleitamento materno e o aumento da sobreposição de aleitamento materno / sólidos foram associados a menor prevalência de sibilos (quadro complementar *online* S6). No entanto, no modelo primário nenhum destes fatores foi estatisticamente significativo (quadro 4a).

O aumento do tempo de sobreposição de aleitamento materno / sólidos mostrou um pequeno efeito protetor contra os sibilos (IRR ajustada 0,95, IC 95% 0,90 a 1,00) no modelo um de sensibilidade (quadro 4a).

Exposição ao fumo

A análise univariada sugeriu que qualquer tabagismo materno aumenta o risco de sibilos no segundo ano de vida (IRR 1,29, IC 95% 1,11 a 1,50, $P 0,001$), enquanto o risco de sibilos diminuiu quando os fumadores eram outros elementos do agregado familiar (IRR 0,81, 95 % CI 0,66 a 0,98, $P 0,033$). No entanto, nenhum destes fatores foi independentemente associado a sibilos no segundo ano de vida (quadro 4a). Na análise multivariada o tabagismo materno no seguimento do 1º ano foi um fator de risco estatisticamente significativo para o aparecimento de sibilos (IRR ajustada 1,62, IC 95% 1,09-2,42, $P 0,017$) (quadro 4a).

Outros potenciais fatores de risco

Os outros fatores associados à sibilância no segundo ano de vida na análise univariada incluíram sexo masculino, maior peso à nascença, eczema, história familiar de doença alérgica, frequência de creche e infecções frequentes do trato respiratório ($\geq$ trimestralmente).

Ter um cão e maior duração do parto foram associados a uma menor prevalência de sibilos (quadro 4b). Na análise multivariada, apenas as infecções do trato respiratório inferior (ITRI) frequentes no segundo ano de vida (IRR ajustada 2,50, IC 95% 1,83 a 3,41, $P < 0,001$), ITRI frequentes no primeiro ano de vida (IRR ajustada 1,87, 95 % CI 1,33 a 2,64, $P < 0,001$), frequência de creche (IRR ajustada 1,63, IC 95% 1,08 a 2,45, $P 0,020$), tabagismo materno no 1º ano de seguimento (IRR ajustada 1,62, IC 95% 1,09 a 2,42, $P 0,017$) e sexo masculino (IRR ajustada 1,33, IC 95% 1,03 a 1,70, $P 0,027$) foram fatores de risco estatisticamente significativos para os sibilos (quadros 4a e 4b). O sexo masculino e as ITRI frequentes também foram fatores de risco para sibilos recorrentes, juntamente com a alergia materna e a asma paterna (quadro complementar *online* S5).

Modelos alternativos

Quando o 'centro de estudo' foi removido do modelo primário foram identificados como fatores de risco para sibilos, a alergia paterna (IRR ajustada 1,36, IC 95% 1,01 a 1,83, $P 0,004$), infecções do trato respiratório superior (ITRS) frequentes no primeiro ano

de vida (IRR ajustada 1,55, 95 IC% 1,09 a 2,19, $P 0,014$) e ITRS frequentes no segundo ano de vida (IRR 1,62 ajustada, IC 95% 1,11-2,36, $P 0,012$) (quadro complementar *online* S4).

A associação entre os fatores de risco identificados pelo modelo primário e sibilos no segundo ano de vida variou entre os centros (quadro 5). Em Southampton, por exemplo, apenas o sexo masculino (IRR 1,66, IC 95% 1,00 a 2,76, $P 0,050$) e o tabagismo materno no 1º ano de seguimento (IRR ajustada 2,72, IC 95% 1,29-5,7, $P 0,009$) foram fatores de risco estatisticamente significativos para os sibilos.

DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou que a prevalência de sibilos relatados pelos pais nos primeiros 2 anos de vida variam consideravelmente em toda a Europa, com um gradiente amplo do noroeste para o sudeste. Os fatores de risco mais fortes para sibilos foram as infecções do trato respiratório inferior, a frequência de creche, o tabagismo materno pós-natal e o sexo masculino. Muitos outros potenciais fatores de risco / proteção, incluindo alergia alimentar e aleitamento materno, foram avaliados.

Nenhum deles teve influência significativa na prevalência de sibilos no segundo ano de vida.

Prevalência de sibilos

A prevalência de sibilos no segundo ano de vida em todos os centros foi de 7,8%. Para a Holanda, a prevalência estimada de sibilos (11%) foi menor do que no estudo Generation R. Neste a prevalência estimada de sibilos em Roterdão aos 2 anos foi de 20%.¹⁹ As nossas estimativas para Southampton (13%), Berlim (12%) e Amsterdão (11%) foram, no entanto, semelhantes à estimativa de 12% da Poluição e Risco de asma: coorte de nascimentos de um estudo infantil (PARIS).⁸ O nosso estudo é o primeiro estudo de coorte multicêntrico para avaliar a prevalência de sibilância na primeira infância em toda a Europa. A prevalência de sibilos no segundo ano de vida foi quase dez vezes maior em Reiquiavique e em Southampton do que em Lodz e Vilnius. Em consonância com os nossos resultados, o estudo ISAAC e ECRHS relataram uma elevada prevalência de sibilos na Europa Ocidental com menores prevalências na Europa Oriental e do Sul.²⁰ Os países representados no EuroPrevall, ISAAC e ECRHS incluíram o Reino Unido, Alemanha, Itália, Espanha e Grécia. Em todos estes países, nos três estudos, a prevalência de sibilos / diagnóstico de asma auto-relatados (ECHRHS) foi mais elevada no Reino Unido e menor na Grécia.^{21,22} Estes resultados sugerem que os fatores comuns estão a impulsionar o aparecimento de sibilos na primeira infância e de asma na idade adulta.

Fatores de risco para sibilos na primeira infância

A marcha alérgica descreve a progressão do eczema na primeira infância para a asma e rinite alérgica mais tarde.^{23,24} O papel da alergia alimentar neste aspeto não é claro²⁴, embora se saiba que a alergia alimentar esteja associada à asma em idade escolar.²⁵ Um número substancial de crianças quem sibilos na infância desenvolve asma.²⁶ Portanto, supomos que a alergia alimentar é um fator de risco para a sibilância nos 2 primeiros anos de vida. Embora a alergia alimentar tenha sido significativa na análise univariada, não foi observada nenhuma associação com sibilos quando foram considerados potenciais fatores de confusão. De acordo com o modelo primário, este facto também era verdade para o eczema. Em consonância com os nossos resultados, o estudo Urban Environment and Childhood Asthma não relatou associação entre a alergia alimentar (diagnosticada de acordo com níveis de IgE $\geq 0,35$ e história sugestiva de alergia alimentar) e sibilos nos primeiros 2 anos de vida²⁷ e no Tuscon Children's Respiratory Study, o eczema não foi um fator de risco para sibilância precoce transitória.² Uma explicação provável para estes achados é que a sibilância na primeira infância é predominantemente causada por infecções do trato respiratório, e não por atopia. De fato, as ITRIs foram associadas a sibilos em todos os modelos multivariáveis que testamos.

A frequência de creche aumenta a exposição a infecções do trato respiratório.²⁸ Portanto, como esperado, a frequência de creche foi associada à sibilância no segundo ano de vida. As coortes de nascimento PARIS e Prevention and Incidence of Asthma e Mite Allergy

Quadro 1 Principais características na *baseline* por centro da coorte EuroPrevall

Todos os centros (n = 12 049)											Reiquiavique (n = 1341)		Southampton (n = 1140)		Amesterdão (n = 976)		Berlim (n = 976)		Lodz (n = 1513)		Vilnius (n = 1556)		Madrid (n = 1387)		Milão (n = 1486)		Atenas (n = 1080)					
Dados demográficos base e detalhes do parto																																
Sexo masculino (%)											51,4		51,2		51,2		52,7		51,7		51,7		51,7		51,2		50,7		50,1		52,6	
Gestação (semanas), mediana (intervalo) †											39 (34-44)		40 (34-43)		40 (34-43)		40 (34-43)		39 (34-43)		39 (34-42)		39 (34-42)		39 (34-43)		39 (34-43)		40 (34-44)			
Peso à nascença (kg), média (DP) ‡											3,40 (0,51)		3,76 (0,51)		3,46 (0,52)		3,48 (0,51)		3,41 (0,49)		3,28 (0,50)		3,52 (0,44)		3,25 (0,43)		3,27 (0,51)		3,20 (0,46)			
Cesariana (%)*											24,0		12,8		30,8		11,0		31,1		37,5		15,6		2,5		30,8		44,2			
Mãe caucasiana (%)*											93,3		99,2		95,9		72,2		93,4		99,9		99,9		84,5		89,9		99,2			
Pai caucasiano (%)*											92,7		98,4		97,0		69,7		90,0		99,3		99,5		84,8		90,4		99,4			
Idade materna (anos), média (DP) †											30,7 (5,21)		31,8 (5,18)		29,9 (4,82)		31,4 (5,41)		28,8 (4,43)		28,2 (5,20)		31,4 (5,10)		33,6 (4,66)		30,9 (4,86)					
Idade paterna (anos), média (DP) †											33,3 (6,10)		32,2 (5,50)		34,1 (5,67)		33,0 (6,07)		34,6 (6,61)		31,1 (5,40)		30,9 (6,25)		33,7 (5,65)		36,1 (5,75)		34,8 (5,47)			
Doença alérgica familiar																																
Doença alérgica materna auto-reportada, diagnosticada pelo médico (%)																																
Qualquer*											26,3		44,5		51,4		36,5		35,3		9,7		5,9		24,8		23,7		14,0			
Asma*											9,4		17,2		22,8		13,3		10,8		3,2		1,5		6,2		8,7		5,2			
Doença alérgica paterna auto-reportada, diagnosticada pelo médico (%)																																
Qualquer*											21,0		32,1		41,0		30,8		29,3		8,7		2,8		19,4		21,4		11,7			
Asma*											7,2		9,9		19,4		9,8		8,7		2,1		0,8		5,2		8,7		3,7			
Ambiente onde vive																																
Habituação rural											16,1		7,2		76,1		0,6		2,2		22,4		13,6		12,3		8,6		7,9			
Casa com bolor											9,9		7,6		10,7		17,5		11,4		2,0		10,2		4,6		9,3		21,5			
Animais de Estimação (%)																																
Qualquer*											35,5		28,0		50,2		54,5		33,1		46,3		43,8		23,5		24,2		19,5			
Gato*											15,1		11,3		28,8		26,8		15,0		15,1		22,0		5,4		10,5		3,7			
Cão*											16,0		9,3		18,1		14,1		9,0		34,8		21,7		13,5		10,8		10,2			
Escolaridade materna																																
Apenas a educação básica concluída											18,2		15,1		10,8		11,8		10,8		27,2		19,1		24,9		12,8		31,0			

Centro de estudo (n) = número total de crianças recrutadas.

A doença alérgica foi definida como asma, rinite alérgica e/ou eczema.

Habituação rural foi definida como viver numa aldeia ou no campo e a vida urbana foi definida como vivendo numa cidade ou município.

A educação básica foi definida como tendo concluído 10 anos de frequência escolar.

* P < 0,05 utilizando o χ^2 para testar as diferenças entre os centros.

† P < 0,05 utilizando o Kruskal-Wallis para testar as diferenças entre os centros.

‡ P < 0,05 utilizando a análise de variância unidirecional para testar as diferenças entre os centros.

Quadro 2 Prevalência de síblos nos primeiros 2 anos de vida por centro

Todos os centros (n = 12 049)									
	Reiquiavique (n = 1341)	Southampton (n = 1140)	Amesterdão (n = 976)	Berlim (n = 1570)	Lodz (n = 1513)	Vilnius (n = 1556)	Madrid (n = 1387)	Milão (n = 1486)	Atenas (n = 1080)
Símbolos no primeiro ano de vida	13,5 (12,7 a 14,2)	33,9 (31,0 a 36,9)	26,1 (23,2 a 29,1)	9,1 (7,6 a 10,6)	11,4 (9,6 a 13,2)	0,5 (0,1 a 0,9)	4,1 (2,8 a 5,3)	**	2,0 (1,0 a 2,9)
Símbolos no segundo ano de vida	7,8 (7,2 a 8,3)	17,2 (15,0 a 19,5)	10,8 (8,3 a 13,2)	11,8 (10,0 a 13,5)	1,7 (1,0 a 2,4)	1,9 (1,1 a 2,7)	3,0 (1,9 a 4,1)	9,5 (7,6 a 11,4)	2,8 (1,6 a 3,9)
Símbolos recorrente (Símbolos no primeiro e segundo anos de vida)	3,1 (2,7 a 3,5)	7,9 (5,6 a 10,3)	6,4 (4,4 a 8,4)	1,8 (1,1 a 2,6)	0,8 (0,2 a 1,3)	0,3 (0,0 a 0,6)	2,0 (1,0 a 2,9)	**	0,4 (0,0 a 0,8)

Centro de estudo (n) = número total de crianças recrutadas.

P < 0,05 para todas as variáveis utilizando o χ^2 para testar as diferenças entre os centros.

** Para Milão, as prevalências de síblos no primeiro ano de vida e síblos recorrentes não são especificadas porque os dados referentes ao 1º ano não estavam disponíveis para a maioria dos participantes.

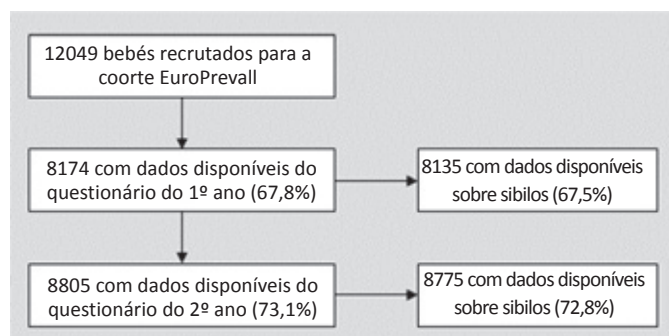


Figura 1 Participantes do EuroPrevall incluídos nesta análise.

(PIAMA) também descobriram que a frequência de creche está associada ao aumento da sibilância antes dos 4 anos de idade.^{8 28} Diversos estudos, no entanto, relataram um efeito protetor da frequência de creche na asma em idade escolar,^{29–31} refletindo o facto de que os sibilos em idade pré-escolar e a asma são entidades diferentes. Numa análise post hoc, investigamos se a relação entre a creche e a sibilância é influenciada pela idade de entrada na creche ou pelo número de horas passadas na creche no primeiro ano de vida. Na análise univariada, a entrada na creche mais tarde foi associada a um menor risco de sibilos (IRR 0,98 (aumento mensal), P 0,26, IC 95% 0,97 a 1,00). No entanto, nem a idade de entrada na creche nem o número de horas passadas na creche no primeiro ano de vida estiveram significativamente associadas à sibilância no segundo ano de vida, quando incluídas no modelo primário.

Das variáveis tabágicas avaliadas, apenas o tabagismo materno no seguimento do 1º ano foi independentemente associado com sibilos no segundo ano de vida. Estudos anteriores demonstraram que o tabagismo materno durante a gravidez é um fator de risco independente para sibilância na infância.^{19 32–35} Nesta análise, o número de cigarros fumados durante a gravidez e o momento da exposição ao fumo não foram considerados. Este aspeto pode explicar a discrepância entre os nossos achados e os de outros estudos. Outro achado inesperado foi que os outros fumadores do agregado familiar estavam associados a um menor risco de sibilos na análise univariada. No entanto, uma vez que foram considerados os potenciais confundidores, houve uma tendência não significativa para os outros fumadores do agregado aumentarem o risco de sibilos.

Dado que foi observada heterogeneidade entre os centros tanto nos fatores da *baseline* como entre os potenciais fatores de risco para sibilos, o modelo primário e o modelo um de sensibilidade foram ajustados para o centro do estudo. O fator “centro do estudo” foi significativo, sugerindo que fatores não mensurados operam nos centros individuais. Adicionalmente, quando foram investigadas associações significativas do modelo primário por centro, a sua importância variou. O confronto entre os centros e estas variáveis pode explicar, em parte, as diferenças entre as estimativas do modelo não ajustado e ajustado. As diferenças climáticas também podem ser importantes. Por exemplo, o clima mais frio do norte da Europa pode predispor a infeções do trato respiratório mais frequentes e, portanto, a sibilos.

Pontos fortes e limitações

Uma limitação potencial de qualquer estudo longitudinal é a perda no seguimento. Conforme descrito no quadro complementar online S1, o seguimento variou entre os centros. O número de crianças de Milão com dados do 1º ano foi especialmente baixo porque as datas em que os questionários dos 12 meses da maioria dos participantes foram preenchidos não estavam disponíveis. Este facto impossibilitou determinar a idade destes bebés no momento da recolha de dados.

No entanto, no geral, os dados dos “2 anos” estavam disponíveis em mais de 70% dos participantes, e as características na *baseline* dos participantes com ou sem dados dos “2 anos” eram semelhantes.

Em quatro centros, foram recolhidos os dados anonimizados relativos à história familiar e à escolaridade de 2320 pais que recusaram participar. Os pais que concordaram participar no estudo tinham maior nível de escolaridade e maior probabilidade de ter

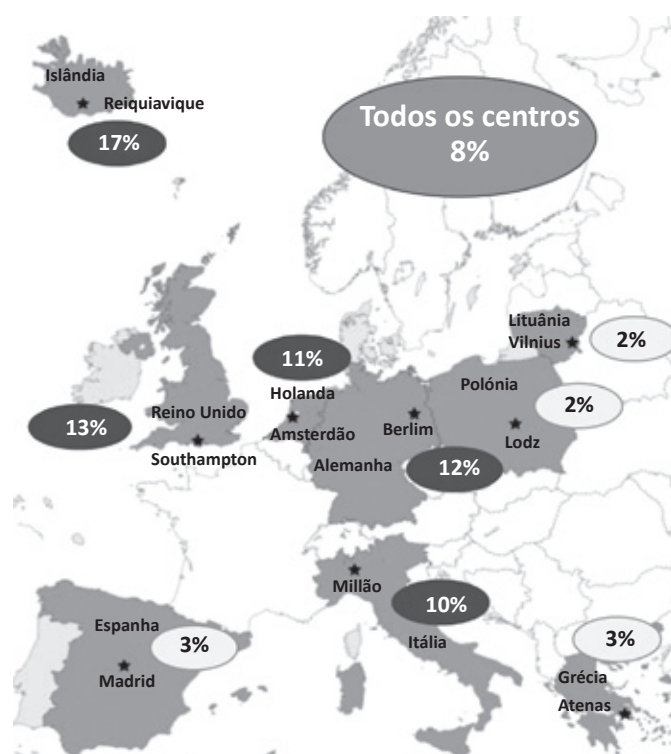


Figura 2 Mapa apresentando os centros do estudo e a prevalência de sibilos no segundo ano de vida por cada centro (adaptado de Keil *et al.*).¹⁷

histórico de doenças alérgicas.^{18 37} Considerando que a doença alérgica paterna e asma materna em alguns modelos estavam associadas à sibilância, a prevalência de sibilos entre os bebés da coorte EuroPrevall pode ser maior do que na população geral.

Outra consideração importante é de que as estimativas de prevalência de sibilos eram dependentes da compreensão dos pais sobre o termo sibilos.³⁸ Da mesma forma, algumas crianças com erupções virais podem ter sido classificadas erradamente como portadoras de eczema. Este aspeto é sugerido pelo facto de que a prevalência de eczema em centros individuais foi amplamente concordante com a prevalência de ITRS. Para minimizar o potencial de mal-entendidos, os questionários do estudo foram traduzidos do inglês para os diferentes idiomas e verificados através de tradução reversa. Adicionalmente, os questionários foram baseados nos questionários amplamente usados no ISAAC, que foram validados em muitos idiomas para avaliar os sibilos e a asma em crianças em idade escolar.^{4 39} É possível que exista viés devido a esquecimento, dado que alguns questionários foram completados 6 meses após o período para o qual estava determinada a recolha de dados.

Os principais pontos fortes deste estudo são o seu tamanho (permitindo-nos ajustar para múltiplos fatores de confusão) e o facto de que os diagnósticos de alergia alimentar foram confirmados através de testes alimentares controlados com placebo, com dupla ocultação.

CONCLUSÃO

Este estudo de coorte de nascimento fornece dados exclusivos sobre a prevalência e os fatores de risco para a sibilância na primeira infância em toda a Europa.

A alergia alimentar de início precoce e as práticas de alimentação infantil não foram associadas a sibilos no segundo ano de vida. De acordo com estudos anteriores, as infeções do trato respiratório inferior, frequência de creche, tabagismo materno na infância e sexo masculino foram identificados como importantes fatores de risco. A relação entre estes e os sibilos diferiu entre centros, sugerindo que podem estar presentes fatores de risco adicionais específicos dos países.

São necessários mais estudos para identificá-los. Enquanto isto, a prevenção das infeções do trato respiratório e a minimização à exposição pós-natal ao fumo podem ajudar a reduzir a carga de sibilos na primeira infância.

Quadro 4b Associação dos fatores de risco com os síbilos no segundo ano de vida: dados demográficos, detalhes do parto, doenças alérgicas familiares, ambiente e escolaridade materna

Dados demográficos básicos e detalhes do parto	Não expostos % (n / N)	Expostos % (n / N)	Síbilos nos não expostos % (n / N)	Síbilos nos expostos % (n / N)	IRR não ajustada (IC 95%) (valor de P)	Modelo primário - IRR ajustada (IC 95%) (valor de P) (n = 3612)	Modelo 1de sensibilidade - IRR ajustada (IC 95%) (valor de P) (n = 4227)
Sexo masculino (vs feminino)	48,6 (4263/8774)	51,4 (4511/8774)	6,6 (280/4263)	8,9 (401/4511)	1,35 (1,16 a 1,58) (<0,001)	1,33 (1,03 a 1,70) (0,027)	1,32 (1,06 a 1,64) (0,014)
Gestação (aumento por semana)					1,04 (0,99 a 1,10) (0,105)	1,02 (0,93 a 1,12) (0,700)	
Peso à nascença (aumento por kg)					1,24 (1,07 a 1,44) (0,004)	0,88 (0,60 a 1,28) (0,495)	
Comprimento à nascença (aumento por cm)					0,96 (0,94 a 0,99) (0,004)	0,99 (0,92 a 1,06) (0,715)	
Índice de Apgar aos 5 min (por aumento de 1 ponto)					0,94 (0,84 a 1,053) (0,282)		
Nascimento múltiplo (vs nascimento único)	97,9 (857/8760)	2,1 (183/8760)	7,7 (663/8577)	8,7 (16/183)	1,13 (0,69 a 1,86) (0,626)		
Parto por cesariana (vs parto vaginal)	75,4 (658/8731)	24,6 (2144/8731)	7,7 (506/6587)	8,1 (173/2144)	1,05 (0,88 a 1,25) (0,577)		
Mãe não caucasiana (vs mãe caucasiana)	95,4 (8330/8734)	4,6 (404/8734)	7,7 (640/8330)	9,9 (40/404)	1,29 (0,94 a 1,77) (0,120)		
Pai não-caucasiano (vs pai caucasiano)	94,8 (8255/8708)	5,2 (453/8708)	7,5 (622/8255)	11,9 (54/453)	1,58 (1,20 a 2,09) (0,001)	1,44 (0,85 to 2,44) (0,180)	
Idade materna (por aumento de 1 ano)					1,00 (0,98 a 1,01) (0,691)		
Idade materna, anos (por aumento de 1 ano)					1,00 (0,99 a 1,01) (0,918)		
Doença alérgica familiar							
Doença alérgica auto-relatada, diagnosticada por médico							
Qualquer (sim vs não)	73,7 (6435/8732)	26,3 (2297/8732)	6,0 (386/6435)	12,6 (290/2297)	2,11 (1,81 a 2,45) (<0,001)	2,11 (1,81 a 2,45) (<0,001)	
Asma (sim vs não)	90,8 (809/8760)	9,2 (809/8760)	6,8 (544/7951)	16,7 (135/809)	2,44 (2,02 a 2,95) (<0,001)	1,30 (0,90 a 1,87) (0,158)	1,47 (1,12 a 1,93) (0,006)
Rinite alérgica (sim vs não)	84,8 (7418/8749)	15,2 (133/18749)	6,9 (511/7418)	12,5 (166/1331)	1,81 (1,52 a 2,16) (<0,001)		
Eczema (sim vs não)	88,1 (7706/8748)	11,9 (1042/8748)	7,0 (537/7706)	13,4 (140/1042)	2,05 (1,62 a 2,60) (<0,001)		
Doença alérgica materna auto-relatada, diagnosticada pelo médico							
Qualquer (sim vs não)	78,7 (681/18652)	21,3 (184/18652)	6,3 (427/6811)	12,7 (234/1841)	2,03 (1,73 a 2,38) (<0,001)	1,32 (0,98 a 1,78) (0,067)	1,31 (1,04 a 1,65) (0,020)
Asma (sim vs não)	92,9 (8083/8699)	7,1 (616/8699)	7,1 (571/8083)	15,4 (95/616)	2,18 (1,76 a 2,71) (<0,001)	0,3 (0,46 a 1,15) (0,174)	
Rinite alérgica (sim vs não)	85,7 (7415/8657)	14,4 (1242/8657)	7,1 (528/7415)	11,2 (139/1242)	1,58 (1,30 a 1,90) (<0,001)		
Eczema (sim vs não)	93,8 (8153/8688)	6,2 (535/8688)	7,2 (587/8153)	14,8 (79/535)	2,05 (1,62 a 2,60) (<0,001)		
Ambiente							
Habituação rural (vs habitação urbana)	83,8 (7352/8774)	16,2 (1422/8774)	7,9 (580/7352)	7,1 (101/1422)	0,90 (0,73 a 1,11) (0,330)		
Casa com bolor (sim vs não)	90,2 (766/78503)	9,8 (836/8503)	7,5 (573/7667)	9,5 (79/836)	1,26 (1,00 a 1,60) (0,051)	0,96 (0,64 a 1,44) (0,833)	
Animais de estimação							
Qualquer (sim vs não)	63,9 (5594/8751)	36,1 (3157/8751)	7,8 (438/5594)	7,6 (241/3157)	0,98 (0,83 a 1,14) (0,752)		
Gato (sim vs não)	84,6 (7398/8751)	15,5 (1353/8751)	7,7 (566/7398)	8,4 (113/1353)	1,09 (0,89 a 1,34) (0,395)		
Cão (sim vs não)	83,9 (7343/8751)	16,1 (1408/8751)	8,3 (606/7343)	5,2 (73/1408)	0,63 (0,49 a 0,80) (<0,001)	0,90 (0,60 a 1,33) (0,587)	
Escolaridade materna							
Ensino básico não concluído					0,90 (0,60 a 1,33) (0,587)		
Ensino básico concluído					1,15 (0,91 a 1,45) (0,255)		
Curso profissional / vocacional					1,20 (0,96 a 1,50) (0,114)		
Faculdade / universidade							

Modelo primário: inclui todas as variáveis com $P < 0,1$ na análise univariada (sexo, gestação, peso à nascença, comprimento à nascença, etnia do pai, alergia materna, asma materna, alergia paterna, asma paterna, casa com bolor, ter cão, frequência de creche, infecções do trato respiratório e eczema), em adição à alergia alimentar. Variáveis relacionadas com a alimentação e exposição ao fumo e centro do estudo.

Modelo 1de sensibilidade: foi gerado através da aplicação da exclusão reversa ao modelo primário. Inclui a sobreposição da amamentação / sólidos, o tabagismo da mãe no 1º ano de seguimento, sexo, frequência de creches, ITR, eczema e centro do estudo.

IRR, taxa de incidência; ITR, infecções do trato respiratório inferior; ITRS, infecções do trato respiratório superior.

Quadro 5 Associação dos fatores de risco significativos do modelo primário com os sibilos no segundo ano de vida por centro

	Reiquiavique	Southampton	Amesterdão	Berlim	Lodz	Vilnius	Madrid	Milão	Atenas
n	829	494	569	1228	1084	1009	826		
Sexo masculino (vs feminino)	1,45 (1,02 a 2,08) (0,040)	1,66 (1,00 a 2,76) (0,050)	3,17 (1,67 a 6,01) (<0,001)	1,72 (0,84 a 1,63) (0,346)	1,28 (0,45 a 3,65) (0,643)	2,00 (0,74 a 5,32) (0,167)	1,02 (0,46 a 2,25) (0,966)	-	-
Mãe fumou no 1º ano de seguimento (sim vs não)	1,08 (0,64 a 1,83) (0,776)	2,72 (1,29 a 5,77) (0,009)	1,46 (0,75 a 2,86) (0,267)	1,27 (0,84 a 1,94) (0,258)	2,38 (0,75 a 7,55) (0,141)	0,79 (0,11 a 5,99) (0,823)	1,66 (0,68 a 4,05) (0,261)	-	-
Creche em qualquer momento dos primeiros 2 anos de vida (sim vs não)	1,30 (0,41 a 4,09) (0,656)	1,16 (0,69 a 1,95) (0,570)	1,71 (0,67 a 4,34) (0,258)	1,67 (1,01 a 2,77) (0,047)	1,91 (0,65 a 5,61) (0,237)	3,66 (1,47 a 9,13) (0,005)	0,69 (0,31 a 1,53) (0,365)	-	-
ITRI no primeiro ano de vida (≥trimestralmente vs ≤um)	1,83 (1,28 a 2,65) (0,001)	1,85 (0,82 a 4,17) (0,138)	2,33 (0,56 a 9,63) (0,243)	1,30 (0,63 a 2,66) (0,478)	2,48 (0,32 a 19,18) (0,384)	24,9 (2,98 a 207,18) (0,003)	2,42 (0,86 a 6,80) (0,093)	-	-
ITRI no segundo ano de vida (≥trimestralmente vs ≤um)	2,74 (1,92 a 3,92) (<0,001)	1,07 (0,41 a 2,75) (0,896)	2,67 (0,65 a 11,15) (0,174)	1,29 (0,69 a 2,39) (0,421)	10,23 (1,34 a 78,33) (0,025)	-	11,83 (4,27 a 32,78) (<0,001)	-	-

Os valores representam: taxa de incidência ajustada (IC95%) (valor P)*.

Onde não se encontram valores, foi porque não foi possível realizar a estimativa de Poisson.

* Apenas as associações significativas do modelo primário (sexo, tabagismo materno no 1º ano de seguimento, frequência de creches e ITRIs no primeiro e segundo anos de vida) foram inseridas nos modelos multivariáveis para centros individuais.

ITRI, infecções do trato respiratório inferior.

Afiliações dos autores

¹Clínicas Clínicas e Experimentais e Unidades Acadêmicas de Desenvolvimento Humano e Saúde, Faculdade de Medicina, Universidade de Southampton, Southampton, Reino Unido

²Departamento de pediatria, Royal Hampshire County Hospital, Winchester, Reino Unido

³Departamento de Nutrição e Dietética, Southampton Children's Hospital, Southampton, Reino Unido

⁴Educação Clínica Imperial, Escola de Saúde Pública, Imperial College London, London, Reino Unido

⁵Instituto de Medicina Social, Epidemiologia e Economia da Saúde, Charité University Medical Center, Berlin, Alemanha

⁶Instituto de Epidemiologia Clínica e Biometria, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Würzburg, Alemanha

⁷Departamento de Epidemiologia das Doenças Infecciosas, Robert Koch Institute, Berlin, Alemanha

⁸Departamento de Dermatologia, Venerologia e Alergologia, Charité University Medical Center, Berlin, Alemanha

⁹Children's Hospital, Landspítali – National University Hospital of Iceland, Reiquiavique, Islândia

¹⁰Faculdade de Medicina, Vilnius University, Vilnius, Lituânia

¹¹Divisão de Alergia, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Itália

¹²Departamento de Imunologia, Reumatologia e Alergia, Medical University of Lodz, Lodz, Polónia

¹³Unidade de Alergia, 2ª Clínica Pediátrica, University of Athens, Atenas, Grécia

¹⁴Centro de Pediatria e Saúde da Criança, Instituto de Desenvolvimento Humano, University of Manchester, Manchester, Reino Unido

¹⁵Hospital Universitario Infanta Sofia, San Sebastián de los Reyes, Madrid, Espanha

¹⁶Departamento de Imunologia, Landspítali – The National University Hospital of Iceland, Reiquiavique, Islândia

¹⁷Departamento de Pneumologia e Alergologia Pediátrica, Beatrix Children's Hospital, University Medical Center Groningen, Groningen, Holanda

¹⁸Instituto de Inflamação e regeneração, Manchester Academic Health Science Centre, Manchester Institute of Biotechnology, University of Manchester, Manchester, Reino Unido

¹⁹Departamento de Pneumologia e Imunologia Pediátrica, Charité University Medical Center, Berlin, Alemanha

²⁰NIHR Southampton Respiratory Biomedical Research Centre, University Hospital Southampton NHS Foundation Trust, Southampton, Reino Unido

²¹Centro de Investigação de Asma e Alergia David Hide, St Mary's Hospital, Ilha de Wight, Reino Unido

Agradecimentos Gostaríamos de agradecer a todas as famílias que participaram no estudo de coorte de nascimento EuroPrevall e à equipa médica e de enfermagem dos hospitais participantes, particularmente: Islândia: H Ragnarsdóttir, AG Gunnarsdóttir, H Sigurdardóttir, G L Gudjonsdóttir (Landspítali - Hospital Nacional da Universidade de Reiquiavique) e às enfermeiras dos cuidados pré-natais da The Primary Health Care da Área da Capital Reiquiavique; Reino Unido: K Foote, E Oliver, L Gudgoen, T Kemp, Rei R, Garland J, E Francis, Morris R, S Pestrige, Scally K, E Gattrell, L Bellis, A Acqua, Kemp R, T Bryant e o NIHR Wellcome Trust Clinical Research Facility (Southampton); Holanda: às parteiras, Zorggroep Almere (Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Flevo Hospital Almere) N van den Berg (De Kinderkliniek Almere), W M C van Aalderen, L Hulshof e N C M Petrus (Centro Médico Académico do Emma Children's Hospital, Amsterdão); Alemanha: S Travis, Paschke-Goossens, S Sieger, S Dufour, Kafert, K Dobberstein, Schulz, Rohrbach, A Scholz, Reich, M Kulig (Berlim) e M Wjst (Munique); Polónia: K Zeman (Universidade Médica de Lodz), J Wilczynski e L Podciechowski (Polish Mother's Memorial Hospital, Lodz); Lituânia: I Butiene, D Vaicekaskaitė, A Arlauskienė, J Zakareviciene e L Stokute-Malinauskienė. Espanha: N Martín-Esteban, S Quirce, R Gabriel, J Larco, I Bobolea e T Cuevas (Madrid); Itália: A Martelli, P. Realini, F. Brandi (Alergia, Fundação Italiana de Investigação da Alergia e Asma), GB Bouygue, O Mazzina, M Busacca, T Saratud e G Pezzoli (Milão); Grécia: P Saxoni-Papageorgiou, K Zannikos, E Emmanouil, Vasiliopoulou, C Michopoulou, C Skordali (Kyriakou Hospital), S Gavrilis, GD Vlachos (Alexandra Hospital), A Malamitsi-Puchner, D Hasiakos, L Kontara (Areteion Hospital) e N Papatrsteidis (Elena Venizelou Maternity Hospital), Atenas).

Colaboradores ENCM foi o coordenador do projeto EuroPrevall; KB foi investigador principal do estudo de coorte de nascimento. AC S, GR, KEG e AM realizaram as análises estatísticas; TK, LG e VC forneceram aconselhamento estatístico e epidemiológico. AC S e GR elaboraram o manuscrito. Todos os autores reviram e aprovaram o manuscrito final.

Financiamento O estudo de coorte de nascimento EuroPrevall foi conduzido dentro da iniciativa colaboração de investigação EuroPrevall, um projeto integrado financiado pela Comissão Europeia no âmbito do 6º Quadro Programa (FOOD-CT-2005-514000) e Abordagens Integradas para a Alergia Alimentar e Gestão do Risco de Alergia, do 7º Quadro do Projeto Colaborativo- (FP7-KBBE-2012-6). A coorte de nascimentos do Reino Unido e a análise para este documento foram financiados pela UK Food Standards Agency (T07046 e FS305019).

Conflitos de interesses GR recebeu subvenções do Programa FP6 da UE e da UK Food Standards Agency durante a realização do estudo; KEG recebeu bolsas educacionais da Nutricia e honorários como palestrante da Nutricia e da Abbott; TK recebeu subvenções do programa FP7 da UE fora do trabalho apresentado; STS recebeu subvenções do Landspítali University Hospital Science Fund, da GlaxoSmithKline e do Icelandic Student Innovation Fund durante a realização do estudo e recebeu apoio não financeiro da Novartis e da Thermo Fisher fora do trabalho submetido; ENCM recebeu subvenções do UK Biological and Biotechnological Sciences Research Council, DBV Technologies, Reacta Biotech Ltd, Medical Research Council, Innovate e North West Lung Cancer Charity fora do trabalho apresentado e é diretor fundador da Reacta Biotech Ltd; KB recebeu financiamento para atividades de investigação da União Europeia, German Research Foundation, Berliner Sparkasse, BEA-Stiftung, Food Allergy and Anaphylaxis Network, Food Allergy Initiative, Danone, Thermo Fisher e DST Diagnostics. Os outros autores não têm conflitos de interesses a declarar.

Aprovação de ética A aprovação de ética foi concedida por parte dos comités de ética relevantes de cada país envolvido no estudo.

Proveniência e revisão por pares Não comissionados; revisto externamente por pares.

© O(s) autor(es) do artigo (ou o(s) seu(s) empregador(es), salvo indicação em contrário no texto do artigo) 2019. Todos os direitos reservados. Não é permitida a utilização com fins comerciais a menos que seja expressamente concedida.

REFERÊNCIAS

- Brand PL, Baraldi E, Bisgaard H, et al. Definition, assessment and treatment of wheezing disorders in preschool children: an evidence-based approach. *Eur Respir J* 2008;32:1096–110.
- Martinez FD, Wright AL, Taussig IM, et al. Asthma and Wheezing in the First Six Years of Life. *N Engl J Med* 1995;332:133–8.
- Ducharme FM, Ise SM, Chauhan B. Diagnosis, management, and prognosis of preschool wheeze. *Lancet* 2014;383:1593–604.
- Asher MI, Weiland SK. The international Study of asthma and allergies in childhood (ISAAC). *Clin Exp Allergy* 1998;28:52–66.
- Janson C, anto J, Burney P, et al. The European Community Respiratory Health Survey: what are the main results so far? *Eur Respir J* 2001;18:598–611.
- Uphoff EP, Bird PK, anto JM, et al. Variations in the prevalence of childhood asthma and wheeze in the MALL cohorts in Europe. *ERJ Open Res* 2017;3:00150-2016–2016.
- Arshad SH, Stevens M, Hide DW. The effect of genetic and environmental factors on the prevalence of allergic disorders at the age of two years. *Clin Exp Allergy* 1993;23:504–11.
- Rancière F, Nikasovic I, Bousquet J, et al. Onset and persistence of respiratory/allergic symptoms in the early childhood of a prospective birth cohort study. *Allergy* 2013;332:n/a–67.
- Lodge CJ, Tan DJ, Iau MX, Mxiz L, et al. Breastfeeding and asthma and allergies: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr* 2015;104:38–53.
- van Odijk J, Kull I, Borres MP, et al. Breastfeeding and allergic disease: a multidisciplinary review of the literature (1966–2001) on the mode of early feeding in infancy and its impact on later atopic manifestations. *Allergy* 2003;58:833–43.
- Friedman NJ, Zeiger RS. The role of breast-feeding in the development of allergies and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:1238–48.
- Oddy WH, Holt PG, Sly PD, et al. Association between breast feeding and asthma in 6 year old children: findings of a prospective birth cohort study. *BMJ* 1999;319:815–9.
- Kull I, Wickman M, Ilja G, et al. Breast feeding and allergic diseases in infants—a prospective birth cohort study. *Arch Dis Child* 2002;87:478–81.
- Zutavern A, von Mutius E, Harris J, et al. The introduction of solids in relation to asthma and eczema. *Arch Dis Child* 2004;89:303–8.
- Snijders Be, thijcs C, van rec R, et al. Age at first introduction of cow milk products and other food products in relation to infant atopic manifestations in the first 2 years of life: the KOala Birth cohort Study. *Pediatrics* 2008;122:115–22.
- Wang J, Liu AH. Food allergies and asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2011;11:249–54.
- Keil T, McBride D, Grimshaw K, et al. The multinational birth cohort of EuroPrevall: background, aims and methods. *Allergy* 2010;65:482–90.
- McBride D, Keil T, Grabenhenrich I, et al. The EuroPrevall birth cohort study on food allergy: baseline characteristics of 12,000 newborns and their families from nine European countries. *Pediatr Allergy Immunol* 2012;23:230–9.
- Duijts L, Jaddoe VVW, van der Valk RJ, et al. Fetal exposure to maternal and paternal smoking and the risks of wheezing in preschool children: the generation R Study. *Chest* 2012;141:876–85.
- Pearce N, Sunyer J, Cheng S, et al. Comparison of asthma prevalence in the ISAAC and the ecRHS. *Eur Respir J* 2000;16:420–6.
- Burney P, Chinn S, Jarvis D, et al. Variations in the prevalence of respiratory symptoms, self-reported asthma attacks, and use of asthma medication in the European Community Respiratory Health Survey (ecRHS). *Eur Respir J* 1996;9:687–95.
- The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: the international Study of asthma and allergies in childhood (ISAAC). *Eur Respir J* 1998;12:315–35.
- Dharmage SC, Lowe AJ, Matheson MC, et al. Atopic dermatitis and the atopic march revisited. *Allergy* 2014;69:17–27.
- Allen KJ, Dharmage SC. The role of food allergy in the atopic march. *Clin Exp Allergy* 2010;40:1439–41.
- Malmberg IP, Saarinen KM, Pelkonen AS, et al. Cow's milk allergy as a predictor of bronchial hyperresponsiveness and airway inflammation at school age. *Clin Exp Allergy* 2010;40:1491–7.
- Kurukulaaratchi J, Fenn MH, Waterhouse IM, et al. Characterization of wheezing phenotypes in the first 10 years of life. *Clin Exp Allergy* 2003;33:573–8.
- McGowan EC, Bloomberg GR, Gergen PJ, et al. Influence of early-life exposures on food sensitization and food allergy in an inner-city birth cohort. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:171–8.
- Caudri D, Wijga A, Scholtens S, et al. Early daycare is associated with an increase in airway symptoms in early childhood but is not a protection against asthma or atopy at 8 years. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;180:491–8.
- Ball TM, Castro-Rodriguez JA, Griffith KA, et al. Siblings, day-care attendance, and the risk of asthma and wheezing during childhood. *N Engl J Med* 2003;349:438–43.
- Cheng G, Smith AM, Levin L, et al. Duration of day care attendance during infancy predicts asthma at the age of seven: the Cincinnati childhood allergy and air pollution Study. *Clin Exp Allergy* 2014;44:1274–81.
- Nicolau NC, Simpson A, Lowe JA, et al. Day-care attendance, position in sibship, and early childhood wheezing: a population-based birth cohort study. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:500–6.
- Henderson AJ, Sherriff A, Northstone K, et al. Pre- and postnatal parental smoking and wheeze in infancy: cross cultural differences. *Eur Respir J* 2001;18:323–9.
- Lux AL, Henderson AJ, Pocock SJ, et al. Wheeze associated with prenatal tobacco smoke exposure: a prospective, longitudinal study, alSPac Study team. *Arch Dis Child* 2000;83:307–12.
- Häberg SE, Stigum H, Nystad W, et al. Effects of pre- and postnatal exposure to parental smoking on early childhood respiratory health. *Am J Epidemiol* 2007;166:679–86.
- Magnusson IL, Olesen AB, Wennberg H, et al. Wheezing, asthma, hayfever, and atopic eczema in childhood following exposure to tobacco smoke in fetal life. *Clin Exp Allergy* 2005;35:1550–6.
- Grimshaw KE, Maskell J, Oliver EM, et al. Introduction of complementary foods and the relationship to food allergy. *Pediatrics* 2013;132:e1529–38.
- Schoemaker AA, Sprinkelman AB, Grimshaw KE, et al. Incidence and natural history of challenge-proven cow's milk allergy in European children—EuroPrevall birth cohort. *Allergy* 2015;70:963–72.
- Michel G, Silverman M, Strippoli MP, et al. Parental understanding of wheeze and its impact on asthma prevalence estimates. *Eur Respir J* 2006;28:1124–30.
- Asher MI, Keil U, Anderson HR, et al. International Study of asthma and allergies in childhood (ISAAC): rationale and methods. *Eur Respir J* 1995;8:483–91.

Archives of Disease in Childhood

Showcasing the best in paediatric medicine

Official journal of the Royal College of Paediatrics and Child Health, **Archives of Disease in Childhood (ADC)**, brings you the latest advances in childhood disease diagnostics and treatment, inclusive of the perinatal period through to adolescence.

Why read?

- **Get 3 for the price of 1** with one subscription for **ADC, ADC Fetal and Neonatal edition**, and **ADC Education and Practice edition**
- **Stay up-to-date with the latest therapies** in our quarterly Paediatric and Perinatal Drug Therapy supplement
- **Read high-quality, original research**, on community child health, public health, epidemiology, acute paediatrics, advocacy, and ethics.
- **Access Archimedes** for evidence-based, clinical problem-solving articles
- **Choose how to access information** with our multimedia content, including podcasts, blogs and social channels



Join our online communities:



Find out more
adc.bmj.com

Thorax

Your essential respiratory medicine journal

Official journal of the British Thoracic Society, **Thorax** brings you the latest in peer-reviewed clinical and experimental research across the respiratory medicine discipline.

Why read?

- **Access high-quality reviews and research** on COPD, asthma, smoking, respiratory infection, lung cancer and much more
- **Choose how to access information** with our multimedia content, including podcasts, blogs and social channels
- **Keep up with your peers** with our Most Read articles and Editors' Choice
- **Save time in the Chest Clinic:** the one-stop shop for clinically-relevant research
- **Read the latest research** in papers published online ahead of print



Join our online communities:



Learn more today
thorax.bmj.com

Com um
objeto simples,
Thomas Edison
acendeu a vida
de todos.

O 1º ICS/LABA em BTI*,
ativado pela respiração

Porque somos
apenas humanos.

 **flutiform®
k-haler®**
propionato de fluticasona/formoterol



Através do seu
design inovador,
k-haler
simplifica
o tratamento
da asma.

INFORMAÇÕES ESSENCIAIS COMPATÍVEIS COM O RCM

NOME DO MEDICAMENTO: Flutiform K-haler 50 microgramas/5 microgramas suspensão pressurizada para inalação e Flutiform K-haler 125 microgramas/5 microgramas suspensão pressurizada para inalação. **COMPOSIÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA:** Cada dose calibrada (à saída da válvula) contém: 50 microgramas de propionato de fluticasona e 5 microgramas de fumarato de formoterol di-hidratado; 125 microgramas de propionato de fluticasona e 5 microgramas de fumarato de formoterol di-hidratado. **FORMA FARMACÉUTICA:** Suspensão pressurizada para inalação. **INDICAÇÕES TERAPÉUTICAS:** indicada no tratamento regular da asma quando for adequada a utilização de um medicamento com esta associação (um corticosteroide inalado e um agonista beta-2 de longa ação); Em doentes não controlados adequadamente com corticosteroides inalados e 'quando necessário' um agonista beta-2 de curta ação inalado. Em doentes já controlados adequadamente com um corticosteroide inalado e um agonista beta-2 de longa ação. Flutiform K-haler está indicado em adultos e adolescentes com 12 ou mais anos de idade. **POSOLOGIA E MODO DE ADMINISTRAÇÃO:** Os doentes devem ser instruídos relativamente à utilização do inalador e a sua asma deverá ser regularmente reavaliada pelo médico, de forma que a dosagem de Flutiform K-haler que utilizam permaneça adequada e esta só deverá ser alterada por indicação do médico. A dose deve ser ajustada para a dose mais baixa que permita manter o controlo efetivo dos sintomas. Após ser obtido o controlo da asma com a dosagem mais baixa de Flutiform K-haler administrada duas vezes por dia. **Nenhuma das dosagens de Flutiform K-haler suspensão pressurizada para inalação é recomendada para utilização em crianças com menos de 12 anos de idade; Flutiform K-haler não deve ser utilizado nesta faixa etária jovem. CONTRAINDICAÇÕES:** Hipersensibilidade às substâncias ativas ou a qualquer um dos excipientes. **EFEITOS INDESEJÁVEIS:** os efeitos indesejáveis associados ao Flutiform K-haler durante o desenvolvimento clínico são apresentados na tabela seguinte, listados por classe de sistema de órgãos. As seguintes categorias de frequência constituem a base para a classificação dos efeitos indesejáveis como: muito frequentes (>1/10), frequentes (>1/100, <1/10), pouco frequentes (>1/1.000, <1/100): Perturbações do sono incluindo insónias; cefaleias, tremor, tonturas, palpitações, extrassístoles ventriculares; exacerbação da asma, disfonia, irritação na garganta; boca seca; erupção cutânea; raros (≥ 1/10.000, <1/1.000): sonhos estranhos e agitação; disgeusia, vertigens, angina de peito, taquicardia, hipertensão, dispneia, tosse, diarreia, prurido, espasmos musculares, edema periférico, astenia; dispepsia, muito raros (<1/10.000) e desconhecida (não pode ser estimada com base nos dados disponíveis): visão turva, hiperatividade motora, ansiedade, depressão, agressividade, alterações comportamentais (sobretudo em criança). **Notificação de suspeitas de reações adversas:** A notificação de suspeitas de reações adversas após a autorização do medicamento é importante, uma vez que permite uma monitorização contínua da relação benefício-risco do medicamento. Pede-se aos profissionais de saúde que notifiquem quaisquer suspeitas de reações adversas diretamente ao INFARMED, I.P.: Direção de Gestão do Risco de Medicamentos; Parque da Saúde de Lisboa, Av. Brasil 53; 1749-004 Lisboa; Tel: +351 21 798 73 73; Linha do Medicamento: 800222444 (gratuita); Fax: +351 21 798 73 97; Sítio da internet: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/submissaoam>; E-mail: farmacovigilancia@infarmed.pt. Data da revisão do texto: fevereiro 2018. **MEDICAMENTO SUJEITO A RECEITA MÉDICA.** N.º registo: 5733357; 5733365. **COMPARTICIPADO a 69%.** Para mais informações contactar o Titular de AIM: Mundipharma Farmacêutica Lda.

*Breath Triggered Inhaler