

Renata Ferrari

**EVOLUÇÃO DA INTERLEUCINA 6 E DA PROTEÍNA C-REATIVA EM
PACIENTES COM DPOC NO PERÍODO DE TRÊS ANOS**

Botucatu

2013

Renata Ferrari

**EVOLUÇÃO DA INTERLEUCINA 6 E DA PROTEÍNA C-REATIVA EM
PACIENTES COM DPOC NO PERÍODO DE TRÊS ANOS**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Campus de Botucatu, para a obtenção do
título de Doutor em Fisiopatologia em Clínica
Médica.

Orientadora: Prof^a Titular Irma Godoy

**Bolsa FAPESP – Doutorado (Processo 2010/08557-6)
Bolsa FAPESP – Auxílio à Pesquisa (Processo 2010/08527-0)**

Botucatu

2013

Dedicatória

Dedico essa dissertação aos meus pais queridos, que sempre me deram liberdade para ir atrás dos meus sonhos.

E ao meu marido amado que me ajuda a sonhar e me acompanha em todas as realizações.

Agradecimentos

Mais uma etapa foi vencida. Foi um período de desafio, construção e amadurecimento. Por isso, agradeço sincera e profundamente as pessoas que contribuíram para a realização dessa jornada.

Primeiramente, agradeço a Dra Irma que durante 7 anos confiou no meu trabalho e me ensinou que se um trabalho vai ser feito, que seja bem feito. Obrigada por dividir sua sabedoria e conhecimento.

Agradeço também ao Prof. Manoj Basin que gentilmente me acolheu em Boston e me direcionou em novos horizontes da pesquisa.

Manifesto aqui minha gratidão a todos os professores, funcionários e amigos da Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu, em particular a Laura, companheira fiel de caminhada e trabalho e também a Dra Suzana que colaborou estatística e significativamente para a realização desse trabalho.

Muito obrigada aos meus familiares pela ajuda do dia-a-dia e por compartilhar minha alegria. E aos meus amigos que mesmo distantes fisicamente sempre me apoiaram e me incentivaram.

Agradeço aos pacientes que gentilmente aceitaram participar desta pesquisa.

Aos funcionários da Experimental obrigada pela ajuda na análise laboratorial, particularmente Camila e Corina. Agradeço também aos funcionários do Departamento de Clínica Médica pela disponibilidade e auxílio operacional.

Agradeço à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo pelo Auxílio Financeiro, processo 2010/085270, e pelo fornecimento da bolsa de doutorado, processo 2010/08557-6 .

Epígrafe

“A menos que modifiquemos nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma que nos acostumamos a ver o mundo.”

Albert Einstein

RESUMO

Introdução: Estudos mostram que os valores médios da Interleucina 6 (IL-6) e Proteína C-Reativa (PCR) não mudam significativamente em pacientes com DPOC no período de um ano. No entanto, o acompanhamento de longo prazo desses mediadores não está estabelecido. Portanto, o objetivo do atual estudo é verificar a evolução dos marcadores inflamatórios sistêmicos de pacientes com DPOC após três anos e verificar a associação entre eles e os demais marcadores da doença.

Métodos: Uma coorte de 77 pacientes com DPOC estável foi avaliada no momento basal e 53 ($VEF_1=56\pm 21\%$) foram incluídos no estudo. Nós avaliamos IL-6, PCR, distância percorrida em seis minutos (DP6) e índice de massa corporal (IMC) no momento basal e após três anos. A concentração plasmática de IL-6 foi avaliada por meio de ensaios imunoenzimáticos (ELISA) ultrasensíveis e a PCR foi obtida por meio de imunonefelometria com uso de kits ultrasensíveis.

Resultados: Os valores da IL-6 aumentaram significativamente após três anos em comparação ao momento basal [0,8 (0,5-1,3) vs 2,4 (1,3-4,4) pg/ml, $p < 0,001$] e foram associados com piora da DP6. Os resultados da análise de regressão de Cox mostraram que os valores aumentados de IL-6 no momento basal foram associados com a mortalidade [Hazard Ratio (95% CI)=2,68 (0,13; 1,84); $p=0,02$]. Os valores médios da PCR não apresentaram alteração significativa [5 (1,6-7,9) vs 4,7 (1,7-10) mg/L, $p=0,84$]; embora, onze pacientes (21%) apresentaram aumento >3 mg/L da PCR no período de três anos.

Conclusões: O processo inflamatório sistêmico, avaliado pela IL-6, parece ser persistente e progressivo e associado com mortalidade e piora da performance física em pacientes com DPOC.

Palavras-chave: Inflamação, Biomarcadores, Exercício, Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica.

ABSTRACT

Background: Past studies have shown that mean values of Interleukin-6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP) do not change significantly in COPD patients over a one-year period. However, longer period follow-up studies are still lacking. Thus, the aim of this study is to evaluate plasma CRP and IL-6 concentration over three years in COPD patients and to test the association between these inflammatory mediators and disease outcome markers.

Methods: A cohort of 77 outpatients with stable COPD was evaluated at baseline, and 53 (mean FEV₁, 56% predicted) were included in the prospective study. We evaluated IL-6, CRP, six-minute walking distance (6MWD), and body mass index (BMI) at baseline and after three years. Plasma concentration of IL-6 was measured by high sensitivity ELISA, and CRP was obtained by high sensitivity particle-enhanced immunonephelometry.

Results: IL-6 increased significantly after 3 years compared to baseline measurements [0.8 (0.5-1.3) vs 2.4 (1.3-4.4) pg/ml; p<0.001] and was associated with worse 6MWD performance. In the Cox regression, increased IL-6 at baseline was associated with mortality [Hazard Ratio (95% CI)=2.68 (0.13, 1.84); p=0.02]. CRP mean values did not change [5 (1.6-7.9) vs 4.7 (1.7-10) pg/L; p=0.84], although eleven patients (21%) presented with changes >3 mg/L in CRP after 3 years.

Conclusions: The systemic inflammatory process, evaluated by IL-6, seems to be persistent, progressive and associated with mortality and worse physical performance in COPD patients.

Trial registration: No.: NCT00605540

Keywords: Inflammation, Biomarkers, Exercise, Chronic Obstructive Pulmonary Disease.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos pacientes com DPOC acompanhados no período de três anos

Tabela 2 - Comparação das características iniciais dos pacientes excluídos e dos pacientes avaliados após três anos

Tabela 3 - Modelo de regressão linear múltipla para avaliar os fatores associados com a DP6 no momento basal e após três anos (n=53)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama de acompanhamento dos pacientes no período de três anos

Figura 2 - Concentração plasmática da IL-6 e da PCR no momento basal e após três anos

Figura 3. Evolução da hemoglobina em pacientes com DPOC no período de três anos

Figura 4. Evolução do hematócrito em pacientes com DPOC no período de três

Figura 5. Curva de Característica de Operação do Receptor (Curva ROC- *Receiver Operating Characteristic*) para determinar o valor do ponto de corte da IL-6 em relação ao número de óbitos. Sensibilidade é a taxa de verdadeiros positivos e 1-especificidade, a taxa de falsos positivos. A área sob a curva foi de 0,70 (Intervalo de Confiança de 95%).

Figura 6. Análise de regressão logística múltipla para avaliar a associação dos marcadores diagnósticos e prognósticos com a piora da inflamação sistêmica ($IL-6 \geq 1,28$ pg/ml)

LISTA DE ABREVIATURAS

BODE: *Body mass index, Obstruction, Dyspnea, Exercise*

CCL-18: Quimiocina ligante 18

DP6: Distância percorrida em seis minutos

DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

GOLD: *Global Initiative for Chronic Obstrutive Lung Disease*

IL-6: Interleucina 6

IL-8: Interleucina 8

IMC: Índice de massa do corpo

PCR: Proteína C-Reativa

SGRQ: *Saint George's Respiratory Questionnaire*

TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa

VEF₁: Volume expiratório forçado no primeiro segundo

SUMÁRIO

Resumo

Abstract

Lista de Tabelas

Lista de Figuras

Lista de Abreviaturas

1. Introdução.....	11
2. Artigo.....	15
3. Resultados e Discussões adicionais.....	39
4. Conclusões Gerais.....	45
5. Referências.....	46
6. Anexos e Apêndices.....	50

1. INTRODUÇÃO

A doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) é uma das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo; muitas pessoas sofrem pela DPOC durante anos e morrem prematuramente devido a doença ou suas complicações (GOLD, 2011). É previsto o crescimento da prevalência da DPOC nas próximas décadas, devido à exposição continuada aos fatores de risco da doença, principalmente o tabagismo, e ao aumento da longevidade da população (GOLD, 2011). A DPOC é, atualmente, a quarta causa de morte no mundo; a Organização Mundial de Saúde estima que a mortalidade associada à doença aumente aproximadamente 30% nos próximos dez anos e que, em 2030, ela será a terceira causa de morte (WHO, 2008).

No Brasil, estudo realizado na região metropolitana da cidade de São Paulo indicou que 15,8% dos indivíduos maiores que 40 anos apresentam a doença. A prevalência é maior em homens e aumenta acentuadamente com a idade (Menezes et al., 2005). Segundo dados do DATASUS (2008), a DPOC ocupa o quinto lugar dentre as principais causas de morte e o número de óbitos, consequentes a ela, vem aumentando nos últimos 20 anos, em ambos os sexos (Jardim et al., 2004).

A DPOC é caracterizada por persistente limitação ao fluxo aéreo que é usualmente progressiva e associada à resposta inflamatória crônica das vias aéreas e do parênquima pulmonar a partículas e gases nocivos (GOLD, 2011). A exposição crônica ao tabagismo causa padrão específico de inflamação caracterizada pelo aumento de linfócitos T CD8+, presentes apenas em fumantes que desenvolvem a DPOC. Estas células, juntamente com macrófagos e neutrófilos, liberam mediadores inflamatórios e interagem com células estruturais das vias aéreas e parênquima pulmonar (GOLD, 2011). De fato, vários estudos mostram que pacientes com DPOC apresentam aumento de mediadores inflamatórios sistêmicos como a Interleucina 6 (IL-6) e a Proteína C-Reativa (PCR) no sangue periférico (Agusti et al., 2003; Gan et al., 2004; Tanni et al., 2010). No entanto, poucos estudos mostram o comportamento evolutivo desses mediadores inflamatórios na DPOC (Pinto-Patal et al., 2006; Kolsum et al., 2009). Pinto-Plata e colaboradores analisaram a mudança intra-individual da PCR em 36 pacientes com DPOC e em 42 controles no momento basal e após 17 meses. Os autores verificaram que os valores de PCR permaneceram inalterados, com coeficiente de variância para variabilidade individual de 14,6%. Usando o modelo de regressão linear ajustado para sexo, idade, composição corporal e obstrução das vias aéreas,

nenhuma diferença estatisticamente significativa foi detectada para a mudança nos valores da PCR no período (Pinto-Plata et al., 2006). Outro estudo longitudinal avaliou a comportamento da IL-6 e PCR em 58 pacientes com DPOC estável. Os valores médios dos mediadores inflamatórios não sofreram alteração e os autores verificaram repetibilidade dos valores durante a avaliação basal e após um ano. Além disso, os valores de PCR foram associados positivamente com os valores da IL-6 nas duas avaliações (Kolsum et al., 2009).

No trabalho desenvolvido no curso de mestrado financiado pela FAPESP (processo nº 2008/52667-0), 133 pacientes com DPOC leve a moderada foram acompanhados e realizou-se a avaliação dos marcadores diagnósticos e prognósticos da DPOC após três anos. Os resultados do estudo mostraram diminuição da tolerância ao exercício, piora da qualidade de vida e aumento da sensação de dispneia, apesar da estabilização da obstrução das vias aéreas e da composição corporal. Em conjunto, estes dados reforçam o conceito que o acompanhamento dos pacientes com DPOC deve incluir outros indicadores além daqueles relacionados com a obstrução das vias aéreas. No entanto, o comportamento evolutivo dos mediadores inflamatórios não foi verificado nesse estudo. (Ferrari et al., 2011).

Estudos transversais mostram associação entre o estado inflamatório sistêmico e perda de peso (Eid et al., 2001), diminuição dos valores de VEF₁ (Walter et al., 2008); diminuição da tolerância aos exercícios (Pinto-Plata et al., 2006; Broekhuizen et al., 2006), estado de saúde (Broekhuizen et al., 2006; Garrod et al., 2007), exacerbação da doença (Hurst et al., 2006) e anemia (John et al., 2005).

Eid et al. (2001) mostraram que pacientes com DPOC estável, Índice de Massa do Corpo (IMC) normal e depleção muscular (índice creatinina-altura <80% previsto) apresentaram níveis séricos elevados de IL-6 (Eid et al., 2001). Usando dados do estudo de coorte Framingham, Walter e colaboradores mostraram que valores séricos da IL-6 foram associados com valores reduzidos do VEF₁, independente de fatores de confundimento, como idade e tabagismo (Walter et al., 2008).

Poucos estudos avaliaram a associação entre o estado inflamatório sistêmico e a tolerância ao exercício em pacientes com DPOC. Pinto-Plata et al. (2006) e Broekhuizen et al. (2006) mostraram que pacientes com PCR aumentada apresentavam menores valores da distância percorrida em 6 minutos (DP6). Associação negativa entre o valor logaritmo da PCR e a DP6 foi observada também em pacientes com DPOC estável (Garrod et al., 2007). Pinto-Plata e colaboradores mostraram uma diferença clínica significativa dos valores da DP6 (59 m) entre os pacientes com o maior quintil da IL-6 quando comparado com aqueles com o menor quintil (Pinto-Plata et al., 2012).

A influência do processo inflamatório sistêmico no estado de saúde de pacientes com DPOC foi avaliada em poucos estudos (Broekhuizen et al., 2006, Garrod et al., 2007). Broekhuizen et al. (2006) mostraram que pacientes com DPOC que apresentam níveis séricos maiores de PCR apresentaram maior comprometimento do estado de saúde (Broekhuizen et al., 2006). No mesmo sentido, Garrod et al. (2007) mostraram que o escore total do *Saint George's Respiratory Questionnaire* (SGRQ) apresentou associação positiva significativa com o logaritmo de PCR. Entretanto, os autores não encontraram associação entre o estado de saúde e os valores séricos logaritmos de IL-6 ou TNF- α (fator de necrose tumoral alfa) (Garrod et al., 2007).

A evolução da DPOC é marcada pela presença de episódios de exacerbação da doença, definidos como piora sustentada das condições do paciente, maior que a oscilação diária característica da doença, de início agudo e que resulta em alteração da medicação de manutenção (Rodriguez-Roisin, 2000). Na presença desta condição aguda, a PCR elevada pode ser útil para confirmar a exacerbação (Hurst et al., 2006) e a manutenção de concentrações séricas elevadas do mediador após o tratamento é considerada fator de risco para a recorrência da exacerbação (Perera et al., 2007). No mesmo sentido, Donaldson e colaboradores acompanharam 130 pacientes com DPOC e mostraram que aqueles com exacerbações frequentes (>2,5 exacerbações/ano) apresentaram valores basais elevados da IL-6 no escarro quando comparados com pacientes com <2,5 exacerbações/ano (Donaldson et al., 2005). Agusti et al., 2012 identificaram um subgrupo de pacientes com inflamação sistêmica persistente, definida como valores elevados de dois ou mais biomarcadores (entre eles, a contagem de células brancas do sangue, fibrinogênio, IL-6 e PCR) no momento basal e após um ano. Os autores mostraram que a taxa anual de exacerbações durante três anos de acompanhamento foi maior nos pacientes com inflamação sistêmica persistente, quando comparado com os pacientes não inflamados (Agusti et al., 2012).

A anemia é uma comorbidade comum em muitas doenças crônicas e estudos mostram que a prevalência em pacientes com DPOC varia entre 10 e 30% (Chambellan et al., 2005; John et al., 2005; Cote et al., 2007). A fisiopatologia da anemia destes pacientes não está esclarecida; entretanto, uma possível explicação é o estado inflamatório sistêmico associado à doença estável ou exacerbada (Gan et al., 2004; Hurst et al., 2006). John et al. (2005) verificaram que pacientes com DPOC anêmicos apresentaram níveis séricos aumentados da PCR e resistência a níveis séricos elevados do hormônio eritropoetina. O aumento dos mediadores inflamatórios interfere no mecanismo da eritropoiese, inibindo a produção e o efeito da eritropoetina e do ferro na medula óssea. Esse mecanismo é similar ao

envolvido em outras doenças e explica a fisiopatologia da anemia em doenças crônicas (John et al., 2005). No mesmo estudo, não foi observada associação da anemia com perda de peso e caquexia, indicando que seu desenvolvimento é independente dos fatores nutricionais (John et al., 2005).

Poucos estudos mostram associação entre os valores basais dos marcadores inflamatórios sistêmicos e a evolução da DPOC (Man et al., 2006; Dahl et al., 2007). Em estudo com 4.803 pacientes com DPOC leve a moderada, os valores séricos basais da PCR foram divididos em quintis. Após cinco anos de acompanhamento, observou-se que o maior quintil da PCR foi preditor de mortalidade comparado com o menor quintil. Os níveis basais da PCR também foram associados com o declínio nos valores do VEF₁ (Man et al., 2006). No estudo de Dahl et al. (2007), os valores basais séricos da PCR maiores que 3 mg/L foram associados com maior risco de hospitalização e morte após 8 anos de acompanhamento em 1.302 pacientes com DPOC (Dahl et al., 2007). Em contrapartida, estudo de Torres et al. (2008) mostrou que valores basais séricos da PCR não se correlacionaram com a mortalidade em 218 pacientes com DPOC moderada a muito grave, após três anos de acompanhamento (de Torres et al., 2008). Estudo recente investigou associações entre mortalidade e marcadores sistêmicos em 1843 pacientes com DPOC no período de três anos. Os resultados mostraram que a contagem de células brancas do sangue e os níveis plasmáticos de IL-6, fibrinogênio, quimiocina ligante 18 (CCL-18), PCR, Interleucina 8 (IL-8) e proteína-D surfactante estavam aumentados nos pacientes que morreram e foram associados com mortalidade após ajuste para idade, índice BODE e história de hospitalização (Celli et al., 2012).

Em resumo, o aumento de marcadores inflamatórios sistêmicos está associado com manifestações sistêmicas da DPOC e com maior risco de mortalidade. Além disso, estudos prévios mostraram que os valores médios de PCR e IL-6 permaneceram estáveis no período máximo de um ano. No entanto, estudos de acompanhamento de longo prazo desses mediadores estão faltando e são necessários para compreender melhor a utilidade da PCR e IL-6 na prática clínica.

2. ARTIGO

Three-year follow-up of Interleukin 6 and C-reactive protein in chronic obstructive pulmonary disease

Renata Ferrari *
Email: renataferrarifisio@gmail.com

Suzana E Tanni
Email: suzanapneumo@gmail.com

Laura M O Caram
Email: laucaram@gmail.com

Corina Corrêa
Email: corina@fmb.unesp.br

Camila R Corrêa
Email: correa.camila9@gmail.com

Irma Godoy
Email: irma@fmb.unesp.br

Author Affiliations: Faculdade de Medicina de Botucatu, Univ Estadual Paulista, Unesp,
Disciplina de Pneumologia, Botucatu – São Paulo, Brazil

* Corresponding author. Faculdade de Medicina de Botucatu, Departamento Clínica Médica,
Distrito de Rubião Júnior, s/n CEP: 18618-970, Botucatu/SP, Brazil.

ABSTRACT

Background: Past studies have shown that mean values of Interleukin-6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP) do not change significantly in COPD patients over a one-year period. However, longer period follow-up studies are still lacking. Thus, the aim of this study is to evaluate plasma CRP and IL-6 concentration over three years in COPD patients and to test the association between these inflammatory mediators and disease outcome markers.

Methods: A cohort of 77 outpatients with stable COPD was evaluated at baseline, and 53 (mean FEV₁, 56% predicted) were included in the prospective study. We evaluated IL-6, CRP, six-minute walking distance (6MWD), and body mass index (BMI) at baseline and after three years. Plasma concentration of IL-6 was measured by high sensitivity ELISA, and CRP was obtained by high sensitivity particle-enhanced immunonephelometry.

Results: IL-6 increased significantly after 3 years compared to baseline measurements [0.8 (0.5-1.3) vs 2.4 (1.3-4.4) pg/ml; p<0.001] and was associated with worse 6MWD performance. In the Cox regression, increased IL-6 at baseline was associated with mortality [Hazard Ratio (95% CI)=2.68 (0.13, 1.84); p=0.02]. CRP mean values did not change [5 (1.6-7.9) vs 4.7 (1.7-10) pg/L; p=0.84], although eleven patients (21%) presented with changes >3 mg/L in CRP after 3 years.

Conclusions: The systemic inflammatory process, evaluated by IL-6, seems to be persistent, progressive and associated with mortality and worse physical performance in COPD patients.

Trial registration: No.: NCT00605540

Keywords: Inflammation, Biomarkers, Exercise, Chronic Obstructive Pulmonary Disease.

INTRODUCTION

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) affects primarily the lungs; however, it is now recognized as a disease with systemic repercussions, and it is associated with chronic inflammation [1]. In fact, there is increasing evidence that systemic inflammatory mediators such as C-reactive protein (CRP) and interleukin 6 (IL-6) are increased in the peripheral blood of COPD patients [2,3]. Cross-sectional studies show that CRP levels are related to important clinical outcomes, including exercise tolerance [4], health status [5] and the exacerbation of disease [6]. Plasma IL-6 concentration is known as a powerful promoter of CRP production in the liver [7], and it is associated with CRP levels in COPD patients [4,5,8]. IL-6 levels also have been shown to interfere with malnutrition pathophysiology since is increased in low weight COPD patients [9]. A previous study has shown that mean values of CRP remained stable over a 17-month period [10]; in addition, Kolsum et al. [8] have shown that IL-6 did not change over one-year.

Recent study showed that systemic inflammation, when present for at least 1 year, was associated with a higher incidence of exacerbations and worse survival despite similar lung impairment in COPD patients [11]. Furthermore, survival analyses show that the addition of white blood cell counts and the systemic levels of IL-6, CRP, interleukin 8, fibrinogen, chemokine ligand 18, and surfactant protein D improve significantly the ability of clinical variables to predict mortality in COPD patients [12]. In a cohort of 253 COPD patients, the results showed that the highest levels of inflammatory markers was related to the degree of airflow obstruction, functional capacity and health status [13]. The importance of studies to evaluate the inflammatory status in COPD has increased since the launching of new drugs, such as an oralphosphodiesterase 4 (PDE4) inhibitor with systemic effects and appears to offer the potential to target the inflammatory processes underlying COPD [14]. Clinical trials

have demonstrated that roflumilast improves lung function and reduces exacerbation frequency in COPD.

In summary, systemic inflammation in COPD is associated with poor outcomes and long-term follow-up studies of inflammatory mediators are needed to better understand the progression of this outcome. We hypothesized that reporting the evolution of CRP and IL-6 will provide information regarding the utility of these mediators in clinical practice and consequently to guide therapeutic interventions in COPD. Thus, the aim of this study was to evaluate plasma CRP and IL-6 concentration over three years in COPD patients and to test the association between these inflammatory mediators and nutritional status, exercise tolerance, disease exacerbations and mortality.

MATERIALS AND METHODS

Study population

Seventy-seven patients with mild to very severe COPD attending the Botucatu Medical School in Brazil were evaluated, and 53 participated in the prospective study. Major inclusion criteria included a diagnosis of COPD according to GOLD 2006 and the Brazilian Thoracic Society (BTS) guidelines [1,15]. Exclusion criteria included a primary diagnosis of other respiratory diseases or chronic diseases, recent (<4months) myocardial infarction, unstable angina or congestive heart failure (New York Heart Association class III or IV). Patients not clinically stable (changes in medication, disease exacerbation, or hospital admissions in the preceding 6 weeks) were also excluded. Patients were evaluated at baseline and were interviewed by telephone every 3 months to identify data associated with exacerbation and/or hospitalizations (see the additional file). The study was approved by the Research Ethics Committee of Botucatu Medical School University Hospital (390/2007), and all patients signed an informed consent.

Measurements

Spirometry and pulse oximeter oxygen saturation (SpO₂)

Pre and post bronchodilator spirometry was performed (Ferrari KOKO Louisville, CO 80027, USA) according to criteria set by the American Thoracic Society [16]. SpO₂ was assessed using an Onyx oxymeter (Model 9500 Oximeter; Nonin Medical Inc.; Minneapolis, MN, USA) on room air.

Blood sampling and analysis

Fasting peripheral blood was collected (08.00 hours), and plasma was stored at -80°C. IL-6 was assessed in duplicate by high sensitivity commercial kits using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) according to the manufacturer's instructions (BioSource International Inc, Ca, USA) with a lower detection limit of 0.16 pg/mL. CRP was assessed in duplicate by high sensitivity particle enhanced immunonephelometry (Cardio-Phase, Dade Behring Marburg GmbH, Marburg, USA) with a lower detection limit of 0.007 mg/L. All measurements were performed after the final evaluation using kits of the same lot number to avoid measurement bias.

Exercise tolerance

The six-minute walk distance (6MWD) was performed according to the guidelines of the American Thoracic Society [17] (see the additional file).

Nutritional Status, Dyspnea Perception, Multidimensional index, Comorbidity index

Body weight and height were measured, and body mass index [BMI = weight in kg/(height in m)²] was calculated. Dyspnea was assessed using a translated version of the Modified Medical Research Council (MMRC) scale [18]. BODE index was calculated using the model described by Celli et al. [19]. Comorbidities were quantified by the Charlson index [20].

Statistical analysis

All analyses were performed using SigmaStat 3.2 (Inc, Chicago, IL, USA) and R statistical software [21]. Multivariate Cox regression analysis was performed to evaluate the predictors of mortality including all the subjects evaluated at baseline, adjusting for age, gender, BODE index, SpO₂ and comorbidity index. Paired t-test or Wilcoxon test was performed to compare characteristics at baseline and after three years. For baseline characteristics, the unpaired *t*-test or the Mann-Whitney test was used. Spearman correlations were used to determine the relationships between inflammatory mediators. Two multiple linear regression analyses were performed including gender, age, FEV₁, IL-6 and Charlson index, at baseline, as independent variables and the baseline and final values of 6MWD as the dependent variables. The same model was used with BMI and number of exacerbations as the dependent variables. A $p \leq 0.05$ was defined as statistically significant.

RESULTS

The baseline characteristics of the 77 patients (66% men; FEV₁=57%) were mean age of 64 ± 9 years and smoking exposure of 51 ± 29 pack-years; 24 patients (31%) were active smokers. Sixty-five patients were using long-term bronchodilators, and 17 patients were regularly using inhaled corticosteroids; 16 had been on stable oxygen flow therapy for the last six months. Comparison between patients using or not inhaled corticosteroids at baseline and after three years showed no significant difference for the studied variables. No patients were medicated with theophylline or leukotriene modifiers.

Of the 77 patients initially evaluated, 24 were excluded from the final analyses; 11 patients died and 13 dropped out (Figure 1). The causes of deaths were pulmonary complications resulting from COPD in 4 patients, cardiovascular disease in 5 patients, splenic abscess/septic

shock in one patient, and colon cancer in one patient. Thus, 53 patients were monitored for three years.

At baseline, the mean age of the 53 patients included in the prospective study (66% men) was 63 ± 9 years with smoking exposure of 48 ± 27 pack-years; 16 patients (30%) were active smokers. Eight patients (15%) were in GOLD stage I, 19 (36%) were in stage II, 11 (20%) were in stage III, and 15 (28%) were in stage IV COPD. There was no difference in the proportion of patients within each disease severity between baseline and after three years ($p=0.99$). The comparison of 53 patients' characteristics between baseline and after three years is shown in Table 1 and has been included in a previous publication with 95 patients [22].

In summary, the FEV₁ and FVC values, in liters, decline statistically during the study period. There were significant deteriorations of SpO₂, MMRC, 6MWD, and BODE index. The Charlson index increased significantly in the period (3.0 ± 1.1 vs. 3.4 ± 1.2 , $p=0.02$). However, in 14 patients, the increase was attributable only to the change in the patient age. Forty-one patients (77.3%) had at least one exacerbation during the study period and in 10 patients (18.8%), the exacerbations were severe.

Comparisons of characteristics of excluded patients ($n=24$) versus those completing the study ($n=53$) are shown in Table 2. Plasma IL-6 concentration was significantly higher in the group of excluded patients ($n=24$). Sub-group analysis showed no statistical difference in IL-6 values of dropouts ($n=13$) versus those completing the study ($n=53$). However, patients who died ($n = 11$) presented with significantly higher values of plasma IL-6 concentration when compared to studied patients ($n = 53$) [1.5 (1.1 to 2.4) vs 0.7 (0.4 to 1.7) pg/ml, $p = 0.031$]. We found no differences in studied variables between the group of dropouts and patients who died. In addition, the Cox regression including all patients (77) showed that increased IL-6 at

baseline was associated with mortality [Hazard Ratio (95% CI)=2.68 (0.13, 1.84); $p=0.02$] after adjustments for age, gender, BODE index, SpO₂ and comorbidity index.

IL-6 mean values increased significantly after 3 years compared to baseline measurements [0.8 (0.5-1.3) vs 2.4 (1.3-4.4) pg/ml; $p<0.001$]. Thirty-five patients (66%) had increase > 1 pg/ml of IL-6 over three years. CRP mean values did not change [5 (1.6-7.9) vs 4.7 (1.7-10) pg/L; $p=0.84$], although eleven patients (21%) presented with changes in CRP >3 mg/L after 3 years (Figure 2). IL-6 was positively correlated with CRP at baseline ($r=0.54$; $p<0.001$) and after a three-year period ($r=0.53$; $p<0.001$). No influence of smoking in IL-6 levels was found at baseline and after three years (data not shown).

In the multiple linear regression analysis, male gender was associated with 6MWD values at baseline. Values of IL-6 and FEV₁, at baseline, were associated with walking capacity at both moments, baseline and after three years. (Table 3). There were no associations between inflammatory mediators and BMI and between inflammatory mediators and number of exacerbations. We found no association between CRP and the other studied variables.

DISCUSSION

To our knowledge, the present study is the first one to show increase over time in systemic inflammation, as measured by plasma IL-6 concentration, in COPD patients. Similar to previous studies [8,10], our results showed that CRP mean values did not change. Furthermore, increased IL-6 levels were associated with mortality and also with reduced exercise tolerance at baseline and after three years. Therefore, our three-year follow-up study showed that IL-6 could be part of the assessment of COPD progression, and increases in serum values are markers of poorer outcomes.

COPD is characterized by a specific pattern of inflammation involving increased numbers of CD8+ T lymphocytes, neutrophils and macrophages in small and large airways and in lung

parenchyma and pulmonary vasculature [1]. Alveolar macrophages have a crucial part in orchestrating this inflammation through the release of inflammatory cytokines, such as IL-6, that attract neutrophils into the airways. IL-6 regulates many pathways that could contribute to its effect on inflammatory disease progression. During CD4 T cell differentiation, IL-6 promotes IL-17 and IL-21 production, and suppresses regulatory T cell function. The downstream effect of IL-6 is deposition of matrix, antibody complexes and proteases in the targeted tissue and, consequently, tissue destruction [23]. However, given the cross-sectional nature of most studies, the role of IL-6 over time is not clear. Kolsum et al. [8] showed that the IL-6 mean values did not change significantly during the one-year period, and there was moderate repeatability of IL-6 between the two visits. By contrast, our results reported that IL-6 mean values increased significantly after three years compared to baseline measurements. We also found that patients who died presented higher plasma IL-6 concentration when compared to survivors. Furthermore, increased IL-6 at baseline was associated with mortality after adjustments for age, gender, BODE index, SpO₂ and comorbidity index. Association between serum IL-6 and prognosis is not conclusive considering the results of recent studies [24,25]. Mehrotra et al. [24] showed that IL-6 was a significant predictor of mortality in 268 elderly subjects with obstructive airway disease. Another study [12] showed association between mortality and levels of WBC counts, IL-6, fibrinogen, CCL-18, CRP, IL-8, and SP-D in 1843 COPD patients studied over three years. Using C statistics, only IL-6 independently added predictive power to the basic clinical model; however, the addition of all the biomarkers in the panel significantly increased the ability of clinical variables to predict mortality in patients with COPD. By contrast, Waschki et al. [25] did not find an association between mortality and levels of IL-6 in 170 outpatients with stable COPD.

CRP mean values did not change over time, although 21% of the patients presented with >3 mg/L changes in CRP after 3 years. We also found no association between CRP levels and mortality or differences in outcome variables between patients who survived at least 3 years with and without increases in CRP >3 mg/L (data not shown). In line with our findings, de Torres et al. [26] showed that baseline serum CRP did not correlate with mortality in patients with moderate to very severe COPD after a three year follow up study. In addition, Pinto-Plata et al. [10] also reported that CRP mean level did not change over a 17-month interval. In contrast, epidemiologic studies showed an association between baseline levels of systemic inflammatory markers and COPD progression [27,28]. In a study with mild to moderate COPD patients, baseline serum levels of CRP were divided into quintiles. After five years of follow-up, it was observed that the highest quintile of CRP was a predictor of mortality compared with the lowest quintile [27]. In the study by Dahl et al. [28], a baseline serum CRP greater than 3 mg/L was associated with increased risk of hospitalization and death after 8 years of follow-up in COPD patients.

As reported in previous studies, we found that CRP levels were positively correlated with plasma IL-6 concentration [4,5,8]; however, while IL-6 levels increased, mean values of CRP did not change over time. Biologically, IL-6 is a primary cytokine regulator of CRP in the liver [7] and may play a salient role in the systemic inflammatory response in COPD [29]. IL-6 has been studied as a COPD marker, since it is increased in low weight COPD patients [9], and its higher levels were associated with lower levels of lung function independent of confounders such as age and smoking [30]. It also plays a critical role in hematopoiesis, causing thrombocytosis and leukocytosis with IL-6 overexpression [31]. In addition, studies have showed that serum IL-6 is a powerful independent predictor of future cardiovascular events in Japanese patients with multiple cardiovascular risk factors [32] and in older adults

from a 9-year cohort [33], and the authors suggest that its prognostic value is superior to that of CRP.

We also found that IL-6 was negatively correlated with 6MWD at baseline and after 3 years. Although we cannot prove a causal relation, the association would suggest a persistence deleterious effect of IL-6 on physical performance of COPD patients and further investigation is warranted. In agreement with our results, Brinkley et al. [34] found that IL-6 levels were associated with poorer physical function, independent of age, gender, race, and body composition in older adults across multiple comorbidities, including COPD patients. Yende et al. [35] also showed that IL-6 was an independent predictor of reduced exercise capacity in elderly individuals with an obstructive pattern and with normal spirometry results. In a cross-sectional analysis, Garrod et al. [5] evaluated the values of TNF- α , IL6 and CRP in 41 patients with COPD and found a negative association between CRP and 6MWD, similar to other studies [4,10]. These results provide evidence that chronic inflammation and impaired physical function are related in various age-related diseases. Our study, in line with this hypothesis, shows that inflammation is persistent and associated with exercise tolerance over time in COPD patients.

We also explored the relationship between number of exacerbations and plasma IL-6 and CRP concentration; however, no association was found. Agusti et al. [11] showed that the annual rate of exacerbations during the 3 year follow-up were higher in the persistently inflamed patients, compared with non-inflamed patients. However, the logistic regression did not show association between that annual rate of exacerbations and the presence of persistent systemic inflammation (defined as in upper quartile at baseline and after one-year for at least 2 biomarkers).

The strengths of this study are the wide range of disease severities designed to evaluate changes in systemic inflammation and its relationship to disease prognosis outcomes over a

considerable period of time. Despite of the small number of patients, this study shows the association of IL-6 with prognosis in COPD patients and reinforces the role of this mediator in the evaluation of patients' outcomes. In addition, taking in consideration the difference in values of serum IL-6 between healthy subjects and smokers in previous study [3], a sample of 40 COPD patients would be necessary ($\alpha=0.05$; power=80%). However, a large sample size could allow the identification of a reliable cutoff value of IL-6 to predict poorer prognosis. We measured the systemic inflammatory mediators at baseline and after three years; therefore our study has limitations regarding the predictor value of serum IL-6 for shorter periods of time.

CONCLUSIONS

The systemic inflammatory process, evaluated by IL-6, seems to be persistent and progressive in COPD patients. In addition, increased systemic inflammation is associated with mortality and with reduced exercise tolerance over time. These results suggest that inflammatory markers could contribute to evaluate outcomes related to COPD progression.

List of abbreviations

6MWD Six-minute walk distance

BMI Body mass index

COPD Chronic obstructive pulmonary disease

CRP C-reactive protein

BTS Brazilian Thoracic Society

FEV₁ Forced expiratory volume in 1 second

FVC Forced expiratory vital capacity

GOLD Global initiative for chronic obstructive lung disease

IL-6 Interleukin 6

MMRC Modified Medical Research Council

SpO₂ Pulse oximeter oxygen saturation

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

RF and IG conceptualized the study. SET and RF performed statistical analysis; RF, SET and IG analyzed the data and drafted the manuscript. RF, LMOC, CC and CC contributed to cohort enrollment/data collection. All authors contributed to the writing of this manuscript, and they read and approved of the final draft of the manuscript.

Acknowledgements

This study was supported by grant from FAPESP, Brazil (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, São Paulo, Brazil) N° 2010/08527-0. Renata Ferrari is a recipient of a Scholarship Grant from FAPESP, N° 2010/08557-6.

REFERENCES

- 1 Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease guideline: global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease (updated 2010). Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease website. <http://www.goldcopd.com/>. Accessed June 15 2012.
- 2 Gan WQ, Man SFP, Senthilselvan A, Sin DD: **Association between chronic obstructive pulmonary disease and systemic inflammation: a systematic review and a meta-analysis.** *Thorax* 2004, **59**:574-580.
- 3 Tanni SE, Pelegriño NR, Angeleli AY, Correa C, Godoy I: **Smoking and tumor necrosis factor-alpha mediated systemic inflammation in COPD patients.** *J Inflamm (Lond)* 2010, **7**:29.
- 4 Broekhuizen R, Wouters EFM, Creutzberg EC, Schols AM: **Raised CRP levels mark metabolic and functional impairment in advanced COPD.** *Thorax* 2007, **61**:17-22.
- 5 Garrod R, Marshall J, Barley E, Fredericks S, Hagan G: **The relationship between inflammatory markers and disability in chronic obstructive pulmonary disease.** *Prim Care Respir J* 2007, **16**:236-240.
- 6 Hurst JR, Donaldson GC, Perera WR, Wilkinson TM, Bilello JA, Hagan GW, Vessey RS, Wedzicha JA: **Use of plasma biomarkers at exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease.** *Am J Respir Crit Care Med* 2006, **174**:867-874.
- 7 Kishimoto T: (1989) **The biology of interleukin-6.** *Blood* 1989, **74**:1-10.
- 8 Kolsum U, Roy K, Starkey C, Borrill Z, Truman N, Vestbo J, Singh D: **The repeatability of interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, and C-reactive protein in COPD patients over one year.** *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis J* 2009, **4**:149-156.

-
- 9 Eid AA, Ionescu AA, Nixon LS, Lewis-Jenkins V, Matthews SB, Griffiths TL, Shale DJ: **Inflammatory response and body composition in chronic obstructive pulmonary disease.** *Am J Respir Crit Care Med* 2001, **164**:1414-1418.
- 10 Pinto-Plata VM, Mullerova H, Toso JF, Feudjo-Tepie M, Soriano JB, Vessey RS, Celli BR: **C- reactive protein in patients with COPD, control smokers, and non-smokers.** *Thorax* 2006, **61**:23-28.
- 11 Agustí A, Edwards LD, Rennard SI, MacNee W, Tal-Singer R, Miller BE, Vestbo J, Lomas DA, Calverley PM, Wouters E, Crim C, Yates JC, Silverman EK, Coxson HO, Bakke P, Mayer RJ, Celli B: **Persistent systemic inflammation is associated with poor clinical outcomes in COPD: a novel phenotype.** *PLoS One* 2012, **7**:e37483.
- 12 Celli BR, Locantore N, Yates J, Tal-Singer R, Miller BE, Bakke P, Calverley P, Coxson H, Crim C, Edwards LD, Lomas DA, Duvoix A, MacNee W, Rennard S, Silverman E, Vestbo J, Wouters E, Agustí A: **Inflammatory biomarkers improve clinical prediction of mortality in chronic obstructive pulmonary disease.** *Am J Respir Crit Care Med* 2012, **185**:1065-1072.
- 13 Pinto-Plata V, Casanova C, Mullerova H, de Torres JP, Corado H, Varo N, Cordova E, Zeineldine S, Paz H, Baz R, Divo M, Cortopassi F, Celli BR: **Inflammatory and repair serum biomarker pattern. Association to clinical outcomes in COPD.** *Respir Res* 2012, **13**:71.
- 14 Rabe KF: **Update on roflumilast, a phosphodiesterase 4 inhibitor for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease.** *Br J Pharmacol* 2011, **163**:53-67.
- 15 Jardim JR, Oliveira JA, Nascimento O: **II Consenso Brasileiro de DPOC.** *J Bras Pneumol* 2004, **30**(Suppl 5):1-42.

-
- 16 American Thoracic Society statement: **Standardization of spirometry – Update.** *Am Rev Respir Dis* 1987, **136**:1285-1298.
- 17 American Thoracic Society statement: **Guidelines for the six-minute walk test.** *Am J Respir Crit Care Med* 2002, **166**:111-117.
- 18 Kovelis D, Segretti NO, Probst VS, Lareau SC, Brunetto AF, Pitta F: **Validação do Modified Pulmonary Functional Status and Dyspnea Questionnaire e da escala do Medical Research Council para o uso em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica no Brasil.** *J Bras Pneumol* 2008, **34**:1008-1018.
- 19 Celli BR, Cote CG, Marin JM, Casanova C, Montes de Oca M, Mendez RA, Pinto Plata V, Cabral HJ: **The body-mass index, airflow obstruction, dyspnea, and exercise capacity index in chronic obstructive pulmonary disease.** *N Engl J Med* 2004, **350**:1005-1012.
- 20 Charlson M, Szatrowski TP, Peterson J, Gold J: **Validation of a Combined Comorbidity Index.** *J Clin Epidemiol* 1994, **47**:1245-1251.
- 21 R Development Core Team. R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2011.
- 22 Ferrari R, Tanni SE, Faganello MM, Caram LM, Lucheta PA, Godoy I: **Three-year follow-up study of respiratory and systemic manifestations of chronic obstructive pulmonary disease.** *Braz J Med Biol Res* 2011, **44**:46-52.
- 23 Rincon M: **Interleukin-6: from an inflammatory marker to a target for inflammatory diseases.** *Trends Immunol* 2012, **33**:571-577.
- 24 Mehrotra N, Freire AX, Bauer DC, Harris TB, Newman AB, Kritchevsky SB, Meibohm B: **Predictors of mortality in elderly subjects with obstructive airway disease: the PILE score.** *Ann Epidemiol* 2010, **20**:223-232.

-
- 25 Waschki B, Kirsten A, Holz O, Müller KC, Meyer T, Watz H, Magnussen H: **Physical activity is the strongest predictor of all-cause mortality in patients with COPD: a prospective cohort study.** *Chest* 2011, **140**:331-342.
- 26 de Torres JP, Pinto-Plata V, Casanova C, Mullerova H, Córdoba-Lanús E, Muros de Fuentes M, Aguirre-Jaime A, Celli BR: **C-reactive protein levels and survival in patients with moderate to very severe COPD.** *Chest* 2008, **133**:1336-1343.
- 27 Man SFP, Connett JE, Anthonisen NR, Wise RA, Tashkin DP, Sin DD: **C-reactive protein and mortality in mild to moderate chronic obstructive pulmonary disease.** *Thorax* 2006, **61**:849-853.
- 28 Dahl M, Vestbo J, Lange P, Bojesen SE, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG: **C-reactive protein as a predictor of prognosis in chronic obstructive pulmonary disease.** *Am J Respir Crit Care Med* 2007, **175**:250-255.
- 29 Sin DD, Man SF: **Interleukin-6: a red herring or a real catch in COPD?** *Chest* 2008, **133**:4-6.
- 30 Walter RE, Wilk JB, Larson MG, Vasan RS, Keaney JF Jr, Lipinska I, O'Connor GT, Benjamin EJ: **Systemic inflammation and COPD: the Framingham Heart Study.** *Chest* 2008, **133**:19-25.
- 31 Kishimoto T: **Interleukin-6: from basic science to medicine—40 years in immunology.** *Annu Rev Immunol* 2005, **23**:1-21.
- 32 Nishida H, Horio T, Suzuki Y, Iwashima Y, Tokudome T, Fumiki Yoshihara F, Nakamura S, Kawano Y: **Interleukin-6 as an independent predictor of future cardiovascular events in high-risk Japanese patients: Comparison with C-reactive protein.** *Cytokine* 2011, **53**:342-346.
- 33 Jenny NS, French B, Arnold AM, Strotmeyer ES, Cushman M, Chaves PH, Ding J, Fried LP, Kritchevsky SB, Rifkin DE, Sarnak MJ, Newman AB: **Long-term**

assessment of inflammation and healthy aging in late life: The Cardiovascular Health Study All Stars. *Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2012; 2012, **67**:970-976.

- 34 Brinkley TE, Leng X, Miller ME, Kitzman DW, Pahor M, Berry MJ, Marsh AP, Kritchevsky SB, Nicklas BJ: **Chronic inflammation is associated with low physical function in older adults across multiple comorbidities.** *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2009, **64**:455-461.
- 35 Yende S, Waterer GW, Tolley EA, Newman AB, Bauer DC, Taaffe DR, Jensen R, Crapo R, Rubin S, Nevitt M, Simonsick EM, Satterfield S, Harris T, Kritchevsky SB: **Inflammatory markers are associated with ventilator limitation and muscle dysfunction in obstructive lung disease in well functioning elderly subjects.** *Thorax* 2006, **61**:10-16.

Table 1. Characteristics of COPD patients followed for a three-year period

Variables	Initial assessment (n=53)	Final assessment (n=53)	p-value
FEV ₁ (%)	56.0 ± 21.1	56.0 ± 22.6	0,48
FEV ₁ (l)	1.4 ± 0.7	1.3 ± 0.6	0.03
FVC (%)	88.9 ± 20.9	86.3 ± 24.3	0.20
FVC (l)	2.6 ± 0.9	2.5 ± 0.9	0.01
FEV ₁ /FVC	50.5 ± 12.1	50.2 ± 10.6	0.49
SpO ₂ (%)	93.0 ± 3.1	91.6 ± 4.9	0.02
MMRC (score)	1.6 ± 1.0	2.0 ± 1.2	0.01
6MWD (m)	444.0 ± 82.8	406.3 ± 102.9	<0.001
BMI (kg/m ²)	25.6 ± 5.5	25.5 ± 5.4	0.38
BODE index	2.4 ± 1.9	2.9 ± 2.5	0.01

Comparisons of patient characteristics at baseline and after three years were performed by Paired t-test or Wilcoxon; $p \leq 0.05$. Values are presented as mean \pm SD.

Definition of abbreviations: FEV₁ = forced expiratory volume in the first second (% of predicted); FVC = forced vital capacity (% of predicted); SpO₂ = pulse oximeter oxygen saturation; MMRC = Modified Medical Research Council; 6MWD = six-minute walking distance; BMI = body mass index.

Table 2. Comparison of baseline characteristics of the excluded patients versus those completing the study

Variables	Excluded patients (n=24)	Studied patients (n=53)	p-value
Gender F/M (n)	8/16	18/35	0.84
Age (years)	65.5 ± 9.3	62.9 ± 8.9	0.23
FEV ₁ (%)	61.3 ± 30.0	56.0 ± 21.1	0.65
FVC (%)	94.7 ± 28.9	88.9 ± 20.9	0.35
FEV ₁ /FVC	50.7 ± 13.7	50.5 ± 12.1	0.84
SpO ₂ (%)	92.9 ± 4.9	93.0 ± 3.1	0.49
MMRC (score)	1.6 ± 1.0	1.6 ± 1.0	0.96
6MWD (m)	406.9 ± 105.7	444.0 ± 82.8	0.10
BMI (kg/m ²)	24.9 ± 5.4	25.6 ± 5.5	0.62
IL-6 (pg/ml)	1.4 ± 1.0	0.9 ± 0.7	0.04
CRP (mg/L)	9.7 ± 12.5	8.0 ± 11.8	0.42

Comparisons between excluded patients and those completing the study were performed using the unpaired *t*-test or Mann-Whitney test; $p \leq 0.05$. Plus-minus values are presented as mean ± SD. Other values are presented as numbers.

Definition of abbreviations: Gender F/M = gender female/male; FEV₁ = forced expiratory volume in the first second (% of predicted); FVC = forced vital capacity (% of predicted); BMI = body mass index; SpO₂ = pulse oximeter oxygen saturation; MMRC = Modified Medical Research Council; 6MWD = six-minute walking distance; BMI = body mass index; IL-6 = Interleukin 6; CRP = C-reactive protein.

Table 3. Multiple linear regression models to evaluate the factors associated with baseline and final values of 6MWD

Variables	Baseline 6MWD	p-value	Final 6MWD	p-value
	Coefficient (95% CI)		Coefficient (95% CI)	
Gender (Male)	48.36 (8.61, 88.10)	0.02	22.64 (-26.55, 71.84)	0.35
Age (years)	-1.40 (-4.77, 1.96)	0.40	-0.60 (-4.88, 3.66)	0.77
FEV ₁ (%)	1.57 (0.74, 2.40)	<0.001	1.88 (0.82, 2.95)	<0.001
IL-6 (pg/ml)	-42.02(-65.49, -22.56)	<0.001	-54.86 (-82.40, -27.32)	<0.001
Charlson index	-8.81 (-33.77, 16.18)	0.48	-11.52 (-43.31, 20.25)	0.46

Baseline ($R^2=0.52$; $p\leq 0.05$) and after three years ($R^2=0.44$; $p\leq 0.05$). *Definition of abbreviations:* 6MWD = six-minute walking distance; FEV₁ = forced expiratory volume in the first second (% of predicted); IL-6 = Interleukin 6. For both regression analysis the variables values were those obtained at baseline.

FIGURAS

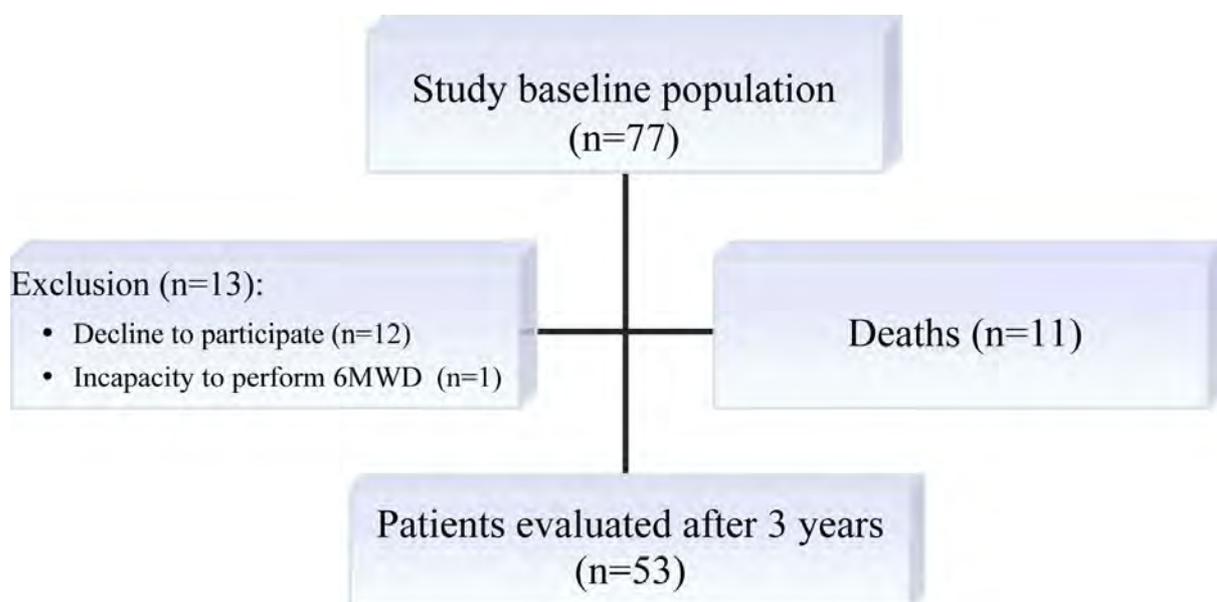


Figure 1. Diagram of patient follow up in three-year period. 6MWD = six-minute walking distance.

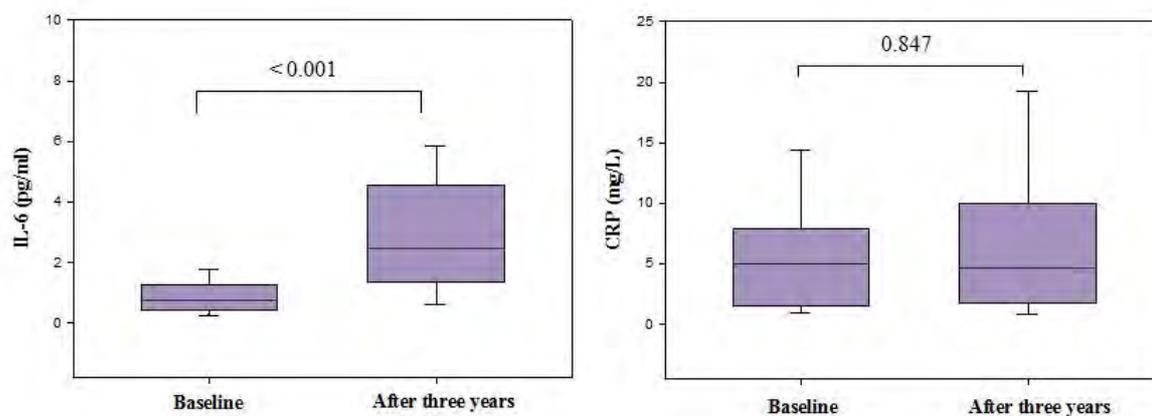


Figure 2. Plasma concentration of IL-6 and CRP at baseline and after three years. IL-6 = Interleukin 6; CRP = C-reactive protein. Data show medians with interquartile range.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES ADICIONAIS

3.1. Análise da evolução da hemoglobina e do hematócrito no período de três anos (n=53)

Os valores da hemoglobina [15,3 (14,2-15,9) g/dL vs 14,5 (13,8-15,5) g/dL; $p=0,02$] e do hematócrito [47,3 (43,8-49,6)% vs 44,0 (42,2-46,6)%; $p<0,001$] diminuíram significativamente no período do estudo (Figura 3 e 4). No momento basal, apenas 3 pacientes apresentaram anemia e após 3 anos, 5 pacientes.

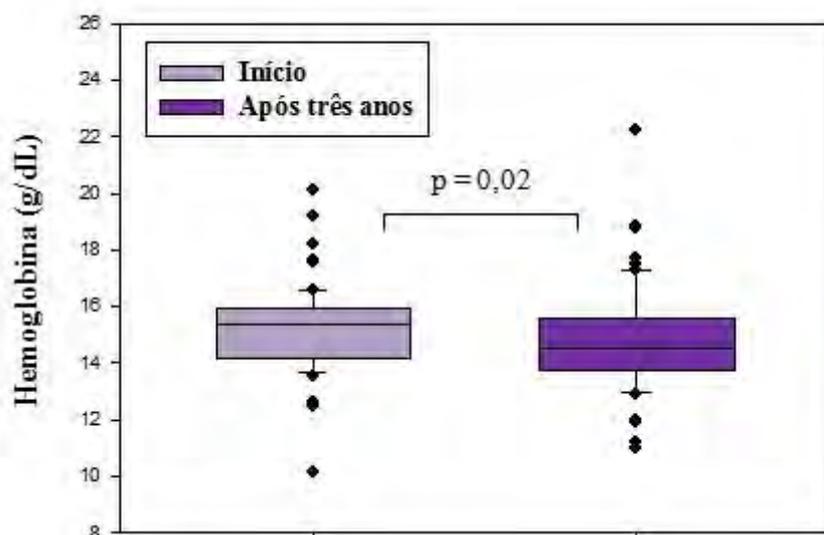


Figura 3. Evolução da hemoglobina em pacientes com DPOC no período de três anos

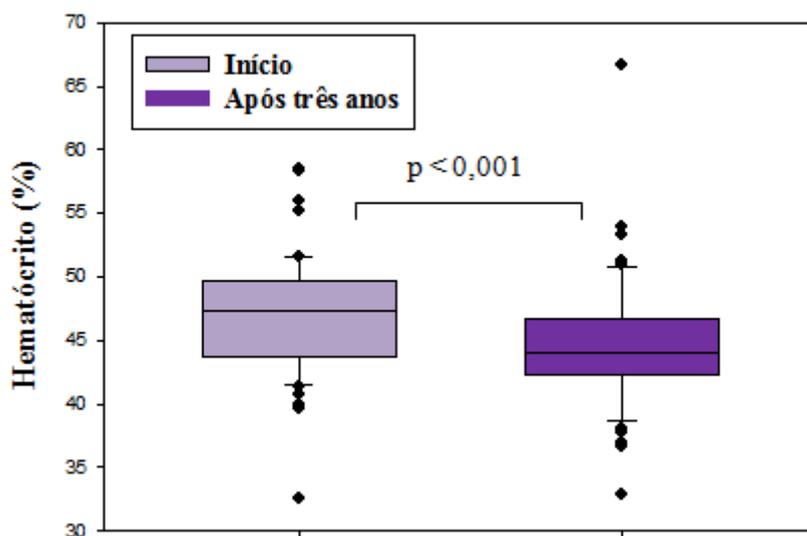


Figura 4. Evolução do hematócrito em pacientes com DPOC no período de três anos

Não foram observadas associações entre mediadores inflamatórios e os valores de hematócrito e hemoglobina em nosso estudo.

A anemia está associada com desfechos desfavoráveis da DPOC. Em estudo retrospectivo de Cote et al. (2007), pacientes anêmicos apresentaram maior intensidade de dispneia, diminuição da tolerância ao exercício e pior sobrevida quando comparado com pacientes não anêmicos. Em estudo anterior, verificamos que a anemia, caracterizada pelos valores do hematócrito, foi associada com risco de exacerbação de 2,5 vezes maior (Ferrari, 2010). Uma possível explicação para esse achado seria que a anemia está relacionada à presença de inflamação e é observada em pacientes com concomitante infecção e doenças inflamatórias. John et al. (2005) verificaram que pacientes com DPOC anêmicos apresentaram níveis séricos aumentados da PCR e resistência a níveis séricos elevados do hormônio eritropoetina. A baixa prevalência de anemia em nosso estudo (5% no início do estudo e 9% após três anos) pode explicar a falta de associação da anemia com a inflamação sistêmica. Futuros estudos longitudinais com maior tamanho amostral pode ser útil para confirmar a associação da anemia com a evolução dos marcadores inflamatórios.

3.2. Curva de Característica de Operação do Receptor (Curva ROC- *Receiver Operating Characteristic*) para determinar o valor do ponto de corte da IL-6 com a melhor sensibilidade e especificidade em relação do número de óbitos (n=77)

Os valores de sensibilidade e especificidade dos valores da IL-6 foram avaliados por meio da curva ROC. O ponto de corte identificado foi igual ou maior a 1,28 pg/ml. A sensibilidade deste valor foi de 71,4%, a especificidade foi de 72,3% e a área da curva foi de 0,70 (Figura 5).

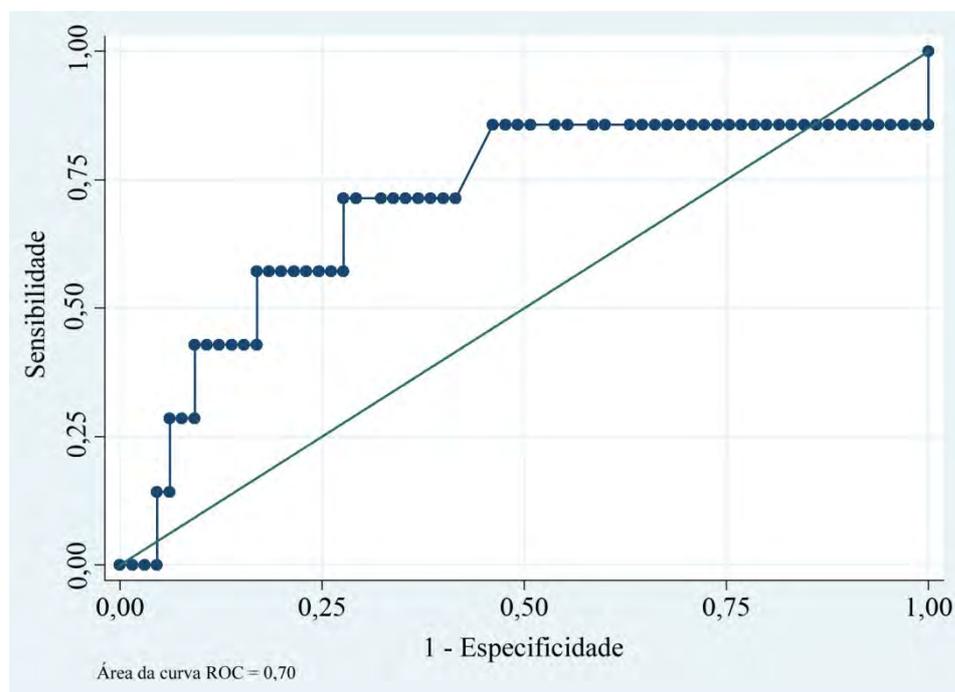
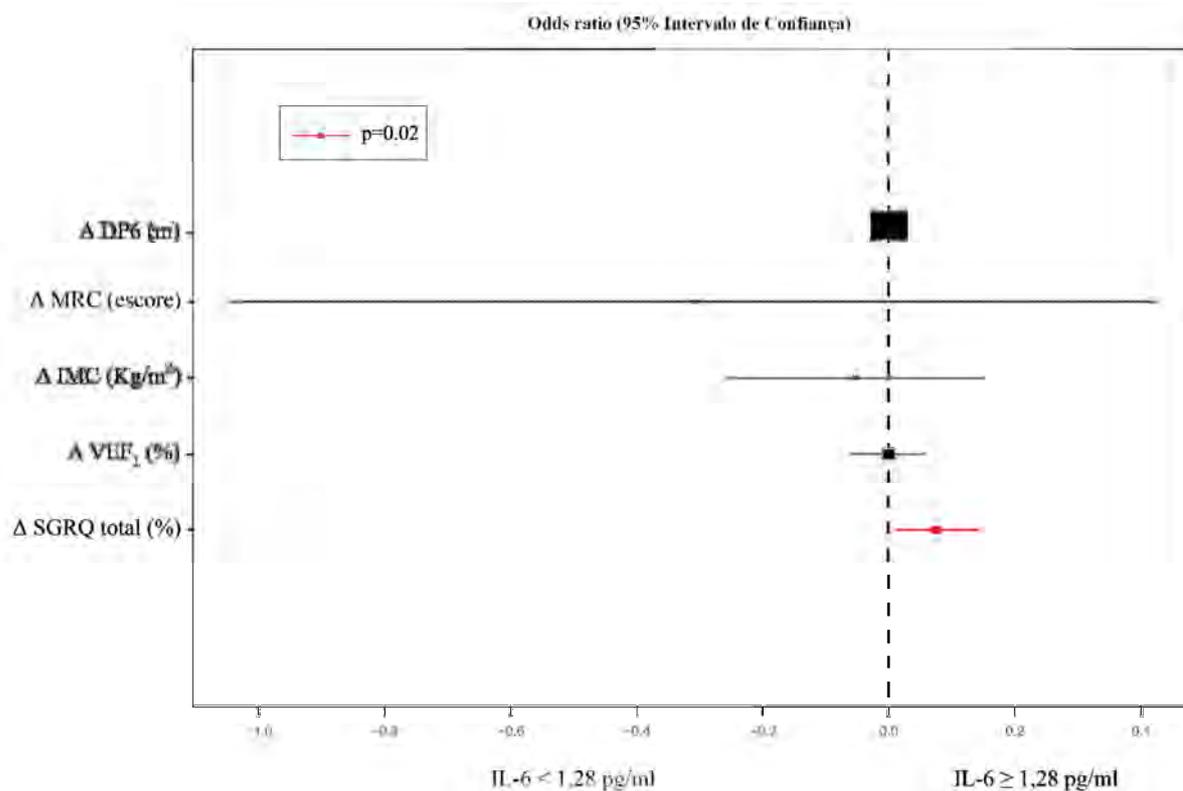


Figura 5. Curva de Característica de Operação do Receptor (Curva ROC- *Receiver Operating Characteristic*) para determinar o valor do ponto de corte da IL-6 em relação ao número de óbitos. Sensibilidade é a taxa de verdadeiros positivos e 1-especificidade, a taxa de falsos positivos. A área sob a curva foi de 0,70 (Intervalo de Confiança de 95%).

A curva ROC é um gráfico de sensibilidade (ou taxa de verdadeiros positivos) versus taxa de falsos positivos (Figura 5). Ela permite evidenciar os valores para os quais existe maior otimização da sensibilidade em função da especificidade que corresponde ao ponto em que a curva se aproxima do canto superior esquerdo da plotagem, uma vez que o índice de positivos verdadeiros é 1 e o de falsos positivos é zero; neste caso, a área sob a curva é próxima de 1. O ponto de corte identificado em nosso estudo foi maior ou igual a 1,28. A sensibilidade deste valor foi de 71,4%, a especificidade foi de 72,3% e a área da curva ROC foi de 0,70. Portanto, este valor de IL-6 não mostrou boa qualidade como marcador de gravidade de doença.

3.3. Associações dos marcadores inflamatórios e suas modificações no período com a evolução dos marcadores diagnósticos e prognósticos da DPOC (n=53)

Na análise de regressão logística múltipla, a variação no escore total do SGRQ foi associada com a piora da inflamação sistêmica ($IL-6 \geq 1,28$ pg/ml) (Odds de 0,07 – 95% IC de 0,01 a 0,14), como representado na Figura 6.



Δ : valores da avaliação final – valores da avaliação inicial; DP6: distância percorrida em 6 minutos; MMRC: Modified Medical Research Council; IMC: índice massa do corpo; VEF₁: volume expiratório forçado no primeiro segundo; SGRQ: Questionário de Qualidade do Hospital Saint George na doença respiratória.

Figura 6. Análise de regressão logística múltipla para avaliar a associação dos marcadores diagnósticos e prognósticos com a piora da inflamação sistêmica ($IL-6 \geq 1,28$ pg/ml)

Ao acrescentar o número de exacerbações no modelo acima, a variação do escore total do SGRQ continuou sendo a única variável associada com a piora da inflamação sistêmica no período. Na análise de regressão logística múltipla, os valores de PCR > 3 mg/L não foram associados com a piora da inflamação.

O estado de saúde é um importante resultado avaliado em pacientes com DPOC, uma vez que é identificado como preditor de mortalidade e piora significativamente com a progressão da doença (Martinez et al., 2006; Oga et al., 2007). Em nosso estudo publicado anteriormente, verificamos que a qualidade de vida piorou significativamente e sua piora foi associada com modificações do índice BODE, da dispneia e com a exacerbação da DPOC no período de três anos. No entanto, a associação da qualidade de vida com a inflamação sistêmica não foi incluída na análise (Ferrari et al., 2011). No presente estudo, o resultado da análise de regressão logística mostrou que a piora da IL-6 $\geq 1,28$ pg/ml foi associada com as modificações da qualidade de vida no período. Em análise transversal, Garrod et al., (2007) mostraram que o escore total do SGRQ apresentou associação positiva significativa com o logaritmo de PCR. Entretanto, os autores não encontraram associação entre a qualidade de vida e os valores séricos logaritmos de IL-6 ou TNF- α (Garrod et al., 2007). Nossos resultados estão em acordo com estudo de Agusti e colaboradores que reportaram que o escore total do SGRQ foi associado com inflamação sistêmica persistente (Agusti et al., 2012). Uma vez que está fundamentado pela literatura que o estado de saúde mede o impacto da DPOC e está vinculado com a progressão da doença, a sua associação com a inflamação sistêmica, sugere que a IL-6 pode ser usada como um marcador da doença.

4. CONCLUSÕES GERAIS

- O processo inflamatório sistêmico, avaliado pela IL-6, parece ser persistente e progressivo em pacientes com DPOC. Além disso, o aumento da inflamação sistêmica está associado com piora da qualidade de vida, com a tolerância ao exercício reduzida e também foi associada com a mortalidade no período de três anos. Estes resultados sugerem que a IL-6 é um mediador inflamatório apropriado para avaliar a progressão da DPOC.
- Não foram observadas associações entre mediadores inflamatórios e IMC, número de exacerbações e os valores de hematócrito e hemoglobina.

5. REFERÊNCIAS *

Agustí AG, Noguera A, Sauleda J, Sala E, Pons J, Busquets X. Systemic effects of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 2003; 21:347-60.

Agustí A, Edwards LD, Rennard SI, MacNee W, Tal-Singer R, Miller BE, et al. Persistent systemic inflammation is associated with poor clinical outcomes in COPD: a novel phenotype. *PLoS One*. 2012; 7:e37483.

Broekhuizen R, Wouters EFM, Creutzberg EC, Schols AMWJ. Raised CRP levels mark metabolic and functional impairment in advanced COPD. *Thorax*. 2006; 61:17-22.

Celli BR, Locantore N, Yates J, Tal-Singer R, Miller BE, Per Bakke, et al. Inflammatory biomarkers improve clinical prediction of mortality in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012; 185:1065-72.

Chambellan A, Chailleux E, Similowski T and the Antadir Observatory Group. Prognostic value of the hematocrit in patients with severe COPD receiving long term oxygen therapy. *Chest*. 2005; 128:1201-8.

Cote CG, Zilberberg MD, Mody SH, Dordelly LJ, Celli B. Haemoglobin level and its clinical impact in a cohort of patients with COPD. *Eur Respir J*. 2007; 29:923-9.

Dahl M, Vestbo J, Lange P, Bojesen SE, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. C-reactive protein as a predictor of prognosis in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007; 175:250-5.

DATASUS. Sistema de informação sobre mortalidade [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2008 [Acesso 18 set 2012]. Disponível em: <http://www.datasus.gov.br> .

International Committee of Medical Journal Editors. Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journal: sample references[Internet]. Bethesda: U.S. National Library of Medicine; 2003[last updated 2009 August 28; cited 2010 April 16]. Available from:http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html
National Library of Medicine. List of journals indexed in Index Medicus. Washington, 2008. 337p.

de Torres JP, Pinto-Plata V, Casanova C, Mullerova H, Córdoba-Lanús E, Muros de Fuentes M. C-reactive protein levels and survival in patients with moderate to very severe COPD. *Chest*. 2008; 133:1336-43.

Donaldson GC, Seemungal TA, Patel IS, Bhowmik A, Wilkinson TM, Hurst JR, et al. Airway and systemic inflammation and decline in lung function in patients with COPD. *Chest*. 2005; 128:1995-2004.

Eid AA, Ionescu AA, Nixon LS, Lewis-Jenkins V, Matthews SB, Griffiths TL, et al. Inflammatory response and body composition in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 164:1414-8.

Ferrari R. Evolução dos marcadores diagnósticos e prognósticos de pacientes com DPOC no período de três anos [dissertação]. Botucatu: Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista; 2010.

Ferrari R, Tanni SE, Caram LM, Naves CR, Godoy I. Predictors of health status do not change over three-year periods and exacerbation makes difference in chronic obstructive pulmonary disease. *Health Qual Life Outcomes*. 2011; 9:112.

Ferrari R, Tanni SE, Faganello MM, Caram LM, Lucheta PA, Godoy I. Three-year follow-up study of respiratory and systemic manifestations of chronic obstructive pulmonary disease. *Braz J Med Biol Res*. 2011; 44:46-52.

Gan WQ, Man SFP, Senthilselvan A, Sin DD. Association between chronic obstructive pulmonary disease and systemic inflammation: a systematic review and a meta-analysis. *Thorax*. 2004; 59:574-80.

Garrod R, Marshall J, Barley E, Fredericks S, Hagan G. The relationship between inflammatory markers and disability in chronic obstructive pulmonary disease. *Prim Care Respir J*. 2007; 16:236-40.

Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD): Global Strategy for the diagnosis, management, and prevention of COPD [Internet]. Bethesda; 2011 [Acesso 15 fev 2012]. Disponível em: <http://www.goldcopd.org/>.

Hurst JR, Donaldson GC, Perera WR, Wilkinson TMA, Bilello JA, Hagan GW, et al. Use of plasma biomarkers at exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006; 174:867-74.

Jardim JR, Oliveira JA, Nascimento O. II Consenso Brasileiro de DPOC. *J Bras Pneumol*. 2004; 30:S1-S42.

John M, Hoernig S, Doehner W, Okonko DD, Witt C, Anker SD. Anemia and inflammation in COPD. *Chest*. 2005; 127:825-9.

Kolsum U, Roy K, Starkey C, Borrill Z, Truman N, Vestbo J, et al. The repeatability of interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, and C-reactive protein in COPD patients over one year. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2009; 4:149-56.

Man SFP, Connett JE, Anthonisen NR, Wise RA, Tashkin DP, Sin DD. C-reactive protein and mortality in mild to moderate chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 2006; 61:849-53.

Martinez FJ, Foster G, Curtis JL, Criner G, Weinmann G, Fishman A, et al. Predictors of mortality in patients with emphysema and severe airflow obstruction. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006; 173:1326-34.

Menezes AMB, Jardim JR, Pérez-Padilla R, Camelier A, Rosa F, Nascimento O. Prevalence of chronic obstructive pulmonary disease and associated factors: the PLATINO study in São Paulo, Brazil. *Cad Saúde Pública*. 2005; 21:1565-73.

Oga T, Nishimura K, Tsukino M, Sato S, Hajiro T, Mishima M. Longitudinal deteriorations in patient reported outcomes in patients with COPD. *Respir Med*. 2007; 101:146-53.

Perera WR, Hurst JR, Wilkinson TMA, Sapsford RJ, Müllerova H, Donaldson GC, et al. Inflammatory changes, recovery and recurrence at COPD exacerbation. *Eur Respir J*. 2007; 29:527-34.

Pinto-Plata V, Casanova C, Müllerova H, de Torres JP, Corado H, Varo N, et al. Inflammatory and repair serum biomarker pattern. Association to clinical outcomes in COPD. *Respir Res*. 2012; 13:71.

Pinto-Plata VM, Müllerova H, Toso JF, Feudjo-Tepie M, Soriano KB, Vessey RS, et al. C-reactive protein in patients with COPD, control smokers, and non-smokers. *Thorax*. 2006; 61:23-8.

Rodriguez-Roisin R. Toward a consensus definition for COPD exacerbations. *Chest*. 2000; 117:398S-401S.

Tanni SE, Pelegrino NR, Angeleli AY, Correa C, Godoy I. Smoking and tumor necrosis factor-alpha mediated systemic inflammation in COPD patients. *J Inflamm (Lond)*. 2010; 7:29.

Walter RE, Wilk JB, Larson MG, Vasan RS, Keaney JF Jr, Lipinska I, et al. Systemic inflammation and COPD: the Framingham Heart Study. *Chest*. 2008; 133:19-25.

World Health Organization (WHO). COPD predicted to be third leading cause of death in 2030 [Internet]. Geneva: WHO; 2008 [Acesso Jan 2013]. Disponível em: http://www.who.int/gard/news_events/World_Health_Statistics_2008/en/

ANEXOS

Anexo A – Aprovação do Projeto de Pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) – UNESP.

 **Universidade Estadual Paulista**
Faculdade de Medicina de Botucatu

Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.
CEP: 18.618-970
Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br



 Registrado no Ministério da Saúde em 30 de abril de 1997

Botucatu, 01 de outubro de 2.007 OF. 390/2007-CEP

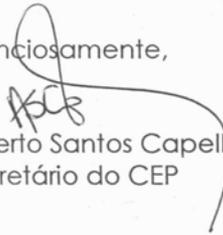
Ilustríssima Senhora
Profª. Drª. Irma de Godoy
Departamento de Clínica Médica da
Faculdade de Medicina de Botucatu

Prezada Drª Irma,

De ordem da Senhora Coordenadora deste CEP, informo que Projeto de Pesquisa **“Evolução dos marcadores diagnósticos e prognósticos de pacientes com DPOC no período de três anos”** a ser conduzido por Renata Ferrari, orientada por Vossa Senhoria, recebeu do relator parecer favorável, aprovado em reunião de 01 de outubro de 2.007.

Situação do Projeto: APROVADO. Ao final da execução deste Projeto, apresentar ao CEP **“Relatório Final de Atividades”**.

Atenciosamente,


Alberto Santos Capelluppi
Secretário do CEP

Anexo B– Mudança do título do Projeto aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) – UNESP.



Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu

Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu – S.P.
CEP: 18.618-970
Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br
e-mail coordenadoria: tsarden@fmb.unesp.br



Registrado no Ministério da Saúde
em 30 de abril de 1997

Botucatu, 03 de Março de 2011.

OF. 67/11-CEP

Ilustríssima Senhora
Prof.^a. Dr.^a. Irma de Godoy
Departamento de Clínica Médica da
Faculdade de Medicina de Botucatu.

Prezada Dr.^a. Irma,

De ordem do Senhor Coordenador deste CEP, informo que o Projeto de Pesquisa "Evolução dos marcadores diagnósticos e prognósticos de pacientes com DPOC no período de três anos" teve seu título alterado para "Evolução dos marcadores inflamatórios de pacientes com DPOC no período de três anos".

Atenciosamente,

Alberto Santos Capellupp
Secretário do CEP

Anexo C– Mudança do título do Projeto aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) – UNESP.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



JUSTIFICATIVA DE ALTERAÇÃO NO TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA

Declaramos que o Projeto de Pesquisa "Evolução dos marcadores inflamatórios de pacientes com DPOC no período de três anos" aprovado pelo CEP em 01/10/07, teve seu título alterado para "Evolução da Interleucina 6 e da proteína C-Reativa em pacientes com DPOC no período de três anos", sem nenhuma alteração no seu conteúdo metodológico da época de apresentação para análise do CEP.

A presente alteração foi efetuada somente para adequação do título da Tese de doutorado.

Botucatu, 08/01/2013

Renata Ferrari Castan

Prof. Titular (Irmã de Godoy)

Programa de Pós Graduação Em Fisiopatologia em Clínica Médica

Preencher formulário em 2 vias e protocolar no respectivo CEP

03-558 09/01/2013 000000000 COMITE DE ETICA EM PESQUISA FMB - UNESP

Anexo D – MMRC

Escala de Dispneia (MMRC), (Kovelis et al., 2008)

<i>Grau 1</i>	Só sofre de falta de ar durante exercícios intensos.
<i>Grau 2</i>	Sofre de falta de ar quando andando apressadamente ou subindo uma rampa leve.
<i>Grau 3</i>	Anda mais devagar do que pessoas da mesma idade por causa de falta de ar ou tem que parar para respirar mesmo quando andando devagar.
<i>Grau 4</i>	Para para respirar depois de andar menos de 100 metros ou após alguns minutos.
<i>Grau 5</i>	Sente tanta falta de ar que não sai mais de casa, ou sente falta de ar quando está se vestindo.

Anexo E – ESCALA DE DISPNEIA DE BORG

ESCALA DE BORG

0 – NENHUM (A)

0,5 – MUITO, MUITO LEVE

1 – MUITO LEVE

2 – LEVE

3 – MODERADA

4 – POUCO INTENSA

5 – INTENSA

6

7 – MUITO INTENSA

8

9 –

MUITO, MUITO INTENSA

10 – EXAUSTIVO (MÁXIMO)

Anexo F – Questionário do Hospital Saint George na Doença Respiratória

The St. George's Respiratory Questionnaire – Paul Jones.**Parte 1**

- Nas questões abaixo, assinale aquela que melhor identifica seus problemas respiratórios no último ano.

Obs: Assinale um só espaço para as questões de 1 a 8:

	Maioria dos dias da semana (5-7 dias)	Vários dias da semana (2-4 dias)	Alguns dias no mês	Só com infecções respiratórias	Nunca
1. Durante o último ano tossi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Durante o último ano tive catarro	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Durante o último ano tive falta de ar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Durante o último ano tive “chiado no peito”	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

5. Durante o último ano, quantas crises graves de problemas respiratórios você teve:

Mais de 3	3	2	1	Nenhuma
<input type="checkbox"/>				

6. Quanto tempo durou a pior dessas crises?
(passe para a pergunta 7 se não teve crises graves)

1 semana ou mais	3 ou mais dias	1 ou 2 dias	Menos de um dia
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

7. Durante o último ano, em uma semana considerada como habitual, quantos dias bons (com poucos problemas respiratórios) você teve:

Nenhum dia	1 ou 2 dias	3 ou 4 dias	Quase todos os dias	Todos os dias
<input type="checkbox"/>				

8. No caso de ter tido “chiado no peito”, ele é pior de manhã?

<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim
------------------------------	------------------------------

Parte 2• **Seção 1**

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

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

B. Em relação ao seu trabalho, assinale um dos quadrados:
(passe para a seção 2 se você não trabalha)

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

• **Seção 2**

As respostas abaixo se referem às atividades que podem provocar falta de ar.

A. Assinale com um “x” o quadrado de cada questão abaixo, indicando a resposta *Sim* ou *Não*, de acordo com o seu caso atualmente:

	Sim	Não
Sentado ou deitado	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tomando banho ou vestindo-se	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Caminhando dentro de casa	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Caminhando em terreno plano	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Subindo um lance de escada	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Subindo ladeiras	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Praticando esportes ou jogos que impliquem esforço físico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

• **Seção 3**

A. Assinale com um “x” o quadrado de cada questão abaixo, indicando a resposta *Sim* ou *Não* para definir o estado de sua tosse e falta de ar atualmente:

	Sim	Não
Minha tosse causa-me dor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Minha tosse deixa-me cansado	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Falta-me o ar quando falo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Falta-me o ar quando dobro o corpo para frente	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Minha tosse ou falta de ar perturba o meu sono	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fico exausto com facilidade	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

- **Seção 4**

A- Assinale com um “x” o quadrado de cada questão abaixo, indicando a resposta *Sim* ou *Não*, para definir o efeito que a doença respiratória tem sobre você:

	Sim	Não
Minha tosse ou falta de ar deixam-me envergonhado em público	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Minha doença respiratória é inconveniente para a minha família, amigos ou vizinhos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tenho medo ou mesmo pânico quando não consigo respirar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sinto que minha doença respiratória escapa ao meu controle	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Eu não espero nenhuma melhora da minha doença respiratória	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Minha doença debilitou-me física e mentalmente, o que faz com que eu precise de da ajuda de alguém	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Parece-me perigoso fazer exercício	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tudo que faço, parece ser demais para minha capacidade	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

- **Seção 5**

A. Assinale com um “x” o quadrado de cada questão abaixo, indicando a resposta *Sim* ou *Não* para definir os efeitos da medicação na sua doença respiratória: (passe para a seção 6 se não toma medicamentos)

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

- **Seção 6**

A. Assinale com um “x” o quadrado de cada questão abaixo, indicando a resposta *Sim* ou *Não* para indicar as atividades que podem ser afetadas pela sua respiração:

	Sim	Não
Levo muito tempo para lavar-me ou vestir-me	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Demoro muito tempo ou não consigo tomar banho de chuveiro ou na banheira	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ando mais devagar que as outras pessoas, ou tenho que parar para descansar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Demoro muito tempo para realizar as tarefas como o trabalho de casa, ou tenho que parar para descansar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Quando subo um lance de escada, vou muito devagar, ou tenho que parar para descansar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Se estou apressado ou caminho mais depressa, tenho que parar para descansar ou ir mais devagar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Por causa da minha respiração, tenho dificuldades para desenvolver	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

atividades como: subir ladeiras, carregar objetos subindo escadas, dançar, praticar esporte leve		
Por causa da minha respiração, tenho dificuldades para desenvolver atividades como: carregar grandes pesos, fazer “Cooper” ou nadar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Por causa da minha respiração, tenho dificuldades para desenvolver atividades como: trabalho manual pesado, correr, andar de bicicleta, nadar rápido ou praticar esportes de competição	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

• **Seção 7**

A. Assinale com um “x” o quadrado de cada questão abaixo, indicando resposta *Sim* ou *Não* para indicar outras atividades que geralmente podem ser afetadas pela sua doença respiratória:

	Sim	Não
Praticar esportes ou jogos que impliquem esforço físico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sair de casa para me divertir	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sair de casa para fazer compras	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fazer o trabalho de casa	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sair da cama ou da cadeira	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

B. A lista seguinte descreve uma série de outras atividades que o problema respiratório pode impedir você de realizar.

Dar passeios a pé ou passear com o seu cão
Fazer o trabalho doméstico ou jardinagem
Ter relações sexuais
Ir à igreja, bar ou a locais de diversão
Sair com mau tempo ou permanecer em locais com fumaça de cigarro
Visitar a família e os amigos ou brincar com as crianças

Por favor, escreva qualquer outra atividade importante que seu problema respiratório pode impedi-lo de fazer.

C. Das questões abaixo relacionadas, assinale somente aquela que melhor define a forma como você é afetado pela sua doença respiratória:

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

Anexo G – LISTA DE COMORBIDADES

Lista de Comorbidades de acordo com o Índice de Charlson

<i>COMORBIDADES</i>	<i>PESO(1)</i>	<i>PESO(2)</i>	<i>PESO(3)</i>	<i>PESO(6)</i>
Infarto do miocárdio	x			
ICC	x			
Doença cerebrovascular	x			
Doença pulmonar crônica	x			
Doença do tecido conjuntivo	x			
Úlcera péptica	x			
Doenças do fígado	x			
Diabetes	x			
Hemiplegia		x		
Doença renal (moderada-grave)		x		
Diabetes com prejuízo orgânico		x		
Algum tumor		x		
Leucemia		x		
Linfoma		x		
Doenças do fígado (moderada-grave)			x	
Tumor sólido metastático				x
AIDS				x

APÊNDICES

Apêndice A – ROTEIRO DAS LIGAÇÕES

Exacerbação da doença: presença de dois ou mais sintomas e pelo menos uma mudança no tratamento de manutenção

➤ Sintomas (presentes durante três ou mais dias):

- Dispneia
- Aumento do volume do escarro
- Mudança da coloração do catarro
- Tosse
- Chiado
- Dor torácica

➤ Tratamento:

- Uso de antibiótico e/ou corticoide sistêmico
- Uma mudança significativa na prescrição da medicação respiratória

Exacerbação: () sim () não

➤ Sintomas: _____

➤ Tratamento: _____

➤ Total de exacerbações: _____

Hospitalização: () sim () não

➤ Causa: _____

Óbito: () sim () não

Causa: _____

Apêndice B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da pesquisa:

“Evolução dos marcadores inflamatórios de pacientes com DPOC no período de três anos”

O objetivo deste estudo é avaliar a evolução da atividade inflamatória em indivíduos portadores de DPOC, conhecida como bronquite crônica e enfisema.

O Sr (a) está sendo convidado a participar do estudo por ser portador de DPOC, já atendido num primeiro momento. Durante o estudo serão realizadas avaliações de sua função pulmonar e também serão coletadas duas amostras de sangue para exames bioquímicos e hematológicos. Os riscos associados aos procedimentos utilizados na realização do estudo são mínimos e o Sr (a) será acompanhado (a) por um médico durante os procedimentos para eventuais intercorrências. O estudo não envolve qualquer alteração nos tratamentos que esteja recebendo e as informações e dados pessoais serão utilizados apenas em reuniões de caráter científico e serão mantidos em sigilo profissional.

Qualquer dúvida em relação ao estudo será imediatamente esclarecida pelos responsáveis pelo estudo e o Sr (a) receberá explicações detalhadas sobre os procedimentos e métodos que serão utilizados. O Sr (a) não receberá remuneração para participar da pesquisa. O Sr (a) estará livre para retirar seu consentimento e desistir de participar do estudo, em qualquer momento, sem interferência no relacionamento que tenha com a Instituição.

Eu _____ entendo o que foi descrito acima e dou meu consentimento para ser incluído neste estudo.

Assinatura do participante

Eu declaro que expliquei ao participante acima a natureza e os objetivos da pesquisa, os prováveis benefícios e possíveis riscos com a participação neste estudo. Este documento será elaborado em 2 vias, sendo uma entregue ao participante e outra será mantida em arquivo.

Assinatura da pesquisa

Pesquisadora: Renata Ferrari

Rua: João Vieira de Mello, 251- Botucatu - SP

Fone: (14) 38116213

E-mail: renataferrarifisio@gmail.com

Orientadora: Profª Adjunta Irma de Godoy

Disciplina de Pneumologia/ Departamento de Clínica Médica

Faculdade de Medicina de Botucatu Fone: (14)3882-2969 ou 38823822

E-mail: irma@fmb.unesp.br