

MARIÂNGELA FARIA CARDOSO TEIXEIRA

**Avaliação da resposta funcional a curto prazo ao tiotrópio em  
crianças e adolescentes com bronquiolite obliterante**

Dissertação apresentada à Faculdade  
de Medicina da Universidade de São  
Paulo para obtenção do título de  
Mestre em Ciências

Programa de Pediatria  
Orientadora: Dra. Fabíola Villac Adde

SÃO PAULO

2013

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Teixeira, Mariângela Faria Cardoso

Avaliação da resposta funcional a curto prazo ao tiotrópio em crianças e adolescentes com bronquiolite obliterante / Mariângela Faria Cardoso Teixeira. -- São Paulo, 2013.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Pediatria.

Orientadora: Fabíola Villac Adde.

Descritores: 1.Bronquiolite obliterante 2.Tiotrópio 3.Antagonistas colinérgicos 4.Broncodilatadores 5.Criança

# DEDICATÓRIA

A toda minha família.

Ao meu filho Henrique, razão da minha vida.

Ao meu esposo Carlos, pela paciência, ajuda e carinho.

Ao meu pai Arlindo Celso, ser humano exemplar, pai zeloso e motivo de minha escolha pela medicina, hoje com 44 anos de dedicação à pediatria, admirado por três gerações de pacientes.

À minha mãe Neide, por sempre me apoiar, conseguir conciliar família e trabalho, pela eterna alegria de viver e constante disposição para ajudar.

Às minhas irmãs Ana Luísa e Lígia, minhas grandes amigas, profissionais e pessoas maravilhosas, pela admiração.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora, Dra. Fabíola Villac Adde, pelo exemplo de dedicação à profissão, pela paciência, confiança e extrema disponibilidade em ajudar.

Ao Prof. Dr. Joaquim Carlos Rodrigues, por ter me dado a oportunidade de realizar este estudo, por ter também me orientado, pelo apoio e pelas valiosas contribuições que deu ao longo desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Claudio Leone pela importante ajuda nas análises estatísticas e fundamental atuação na publicação do estudo no periódico Chest.

À técnica do Laboratório de Função Pulmonar, Maria Inês Lopes, por ter realizado os exames com o rigor técnico necessário.

A todos os pacientes que tornaram possível a realização deste estudo.

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

# SUMÁRIO

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas

Lista de tabelas

Lista de figuras

Resumo

Summary

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Fatores de risco para desenvolvimento de BO.....	3
1.2	Patogênese.....	4
1.3	Histopatologia.....	5
1.4	Diagnóstico.....	6
1.5	Função Pulmonar.....	7
1.6	Prognóstico.....	8
1.7	Tratamento.....	9
1.8	Comparações entre BO e DPOC.....	10
1.9	O brometo de tiotrópio.....	11
2	JUSTIFICATIVAS.....	14
3	HIPÓTESE.....	16
4	OBJETIVOS.....	18
5	CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	20
5.1	Critérios de inclusão.....	21
5.2	Critérios de exclusão.....	21
5.3	Delineamento do Estudo.....	21
5.4	Dados Clínicos.....	23

5.5 Prova de Função Pulmonar .....	23
5.6 Análise estatística.....	24
6 RESULTADOS.....	26
7 DISCUSSÃO.....	40
8 CONCLUSÕES.....	49
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	51
10 ANEXOS.....	53
11 REFERÊNCIAS .....	60

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS.

ATS	American Thoracic Society
BO	bronquiolite obliterante
BD	broncodilatador
bpm	batimentos por minuto
BT	brometo de tiotrópio
CD4/CD8	relação entre linfócitos CD4 e linfócitos CD8
Cols	colaboradores
CI	capacidade inspiratória
CPT	capacidade pulmonar total
CVF	capacidade vital forçada
DP	Desvio padrão
DPOC	doença pulmonar obstrutiva crônica
ERS	European Respiratory Society
FEF <sub>25-75%</sub>	fluxo expiratório forçado entre 25% e 75% da CVF
fem	feminino
Fr	Teste de Friedman
HC/FMUSP.	Hospital das clínicas da Faculdade de medicina da Universidade de São Paulo
ICr	Instituto da Criança
IL-6	interleucina seis
IL-8	interleucina oito
IMC	Índice de massa corpórea
Kg	quilograma
Kg/m <sup>2</sup>	quilogramas dividido por metro quadrado
LBA	LBA lavado bronco-alveolar
m	metros
masc	masculino
mcg	microgramas
min	minutos
ml	mililitros
mmHg	milímetros de mercúrio
M <sub>1</sub>	receptor muscarínico M um
M <sub>2</sub>	receptor muscarínico M dois
M <sub>3</sub>	receptor muscarínico M três
n	número
Nº	número
NS	não significante
NH <sub>3</sub>	amônia
NO <sub>2</sub>	óxido nítrico



P1	grupo um
P2	grupo dois
PFP	prova de função pulmonar.
Raw	Resistência das vias aéreas
sGaw	Condutância específica das vias aéreas
SpO <sub>2</sub>	Saturação de oxigênio com oxímetro de pulso
VEF <sub>1</sub>	volume expiratório forçado no primeiro segundo
VEF <sub>1</sub> /CVF	Relação entre o volume expiratório forçado no primeiro segundo e a capacidade vital forçada
V'maxFRC	fluxo máximo na capacidade residual funcional
Vpart	fluxo expiratório forçado parcial
VR	volume residual
VR/CPT	Relação entre o volume residual e a capacidade pulmonar total
VSR	vírus sincicial respiratório
µg	micrograma
®	Marca registrada
β <sub>2</sub>	beta dois
%	% porcentagem
≥	Maior ou igual
<	menor que
±	Mais ou menos

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados demográficos e características clínicas dos 30 pacientes com bronquiolite obliterante estudados .....	27
Tabela 2 - Medicamentos inalatórios em uso contínuo pelos 30 pacientes com bronquiolite obliterante estudados .....	28
Tabela 3 - Parâmetros espirométricos e pletismográficos basais nos momentos pré-administração do tiotropio e placebo .....	29
Tabela 4 - Médias da CVF na situação basal e nos diferentes momentos de avaliação após a administração de tiotropio e placebo .....	29
Tabela 5 - Médias do VEF <sub>1</sub> na situação basal e nos diferentes momentos de avaliação após a administração de tiotropio e placebo .....	30
Tabela 6 - Médias do FEF <sub>25-75%</sub> na situação basal e nos diferentes momentos de avaliação após a administração de tiotropio e placebo .....	30
Tabela 7 - Médias da relação VEF <sub>1</sub> /CVF na situação basal e nos diferentes momentos de avaliação após a administração de tiotropio e placebo .....	31
Tabela 8 - Médias da CI na situação basal e nos diferentes momentos de avaliação após a administração de tiotropio e placebo .....	31
Tabela 9 - Médias da CPT na situação basal e nos diferentes momentos de avaliação após a administração de tiotropio e placebo .....	32

Tabela 10 - Médias do VR na situação basal e nos diferentes momentos de avaliação após a administração de tiotrópio e placebo .....	32
Tabela 11 - Médias da relação VR/CPT na situação basal e nos diferentes momentos de avaliação após a administração de tiotrópio e placebo .....	33
Tabela 12 - Médias da Resistência na situação basal e nos diferentes momentos após a administração de tiotrópio e placebo	33
Tabela 13 - Médias da Condutância na situação basal e nos diferentes momentos após a administração de tiotrópio e placebo	34
Tabela 14 - Diferenças absolutas em mediana da CVF, VEF <sub>1</sub> e VR entre 180 minutos e tempo basal.....	34
Tabela 15 - Diferenças entre todos os momentos versus o basal no grupo tiotrópio versus placebo nos principais parâmetros funcionais (teste de Friedman).....	35

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Médias da CVF (capacidade vital forçada) e do VEF<sub>1</sub> (volume expiratório forçado no primeiro segundo) no momento basal e nos momentos sucessivos após a administração de 18 mcg de tiotrópio. 36

Figura 2. Médias do FEF<sub>25-75%</sub> (fluxo expiratório forçado entre 25 e 75% da CVF) e da relação VEF<sub>1</sub>/CVF no momento basal e nos momentos sucessivos após a administração de 18 mcg de tiotrópio. 37

Figura 3. Médias do VR (volume residual) e da CPT (capacidade pulmonar total) no momento basal e nos momentos sucessivos após a administração de 18 mcg de tiotrópio ..... 38

Figura 4. Médias da condutância e resistência no momento basal e nos momentos sucessivos após a administração de 18 mcg de tiotrópio ..... 39

## RESUMO

Teixeira MFC. Avaliação da resposta funcional a curto prazo ao tiotrópio em crianças e adolescentes com bronquiolite obliterante [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

**Introdução:** Os pacientes com bronquiolite obliterante (BO) costumam apresentar acometimento importante da função pulmonar que resulta em hipoxemia crônica e limitação da atividade física. Não há terapêutica de grande eficácia na BO, a resposta aos broncodilatadores costuma ser pobre, entretanto, não se conhece a resposta broncodilatadora a um agente anticolinérgico de longa ação como o brometo de tiotrópio (BT). Já se demonstrou eficácia e segurança do BT em adultos com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) com resposta broncodilatadora significativa e sustentada em dose única diária. **Objetivo:** Avaliar se existe melhora do grau de obstrução brônquica e do aprisionamento aéreo, através de medidas funcionais, após o uso de dose única de brometo de tiotrópio por via inalatória comparado a placebo em crianças e adolescentes com BO. **Métodos:** Ensaio clínico prospectivo, duplo cego, randomizado, placebo-controlado e cruzado em pacientes com BO estáveis na faixa etária de 6 a 16 anos. Espirometrias e pletismografias foram realizadas antes e aos 30, 60, 120, 180 minutos e 24 horas após a inalação de 18 mcg de tiotrópio ou placebo. Após 7-14 dias, os medicamentos foram invertidos e os procedimentos repetidos. As mudanças nos parâmetros de função pulmonar em cada momento foram comparadas com o basal através da análise de variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey e as diferenças entre todos os momentos versus o basal nos grupos tiotrópio versus placebo foram comparados usando o teste de Friedman. **Resultados:** Trinta pacientes participaram do estudo (23 do sexo masculino, 7 do feminino; idade  $10,9 \pm 2,8$  a), com valores basais de função pulmonar (% do previsto) de CVF, VEF<sub>1</sub>, VEF<sub>1</sub>/CVF, FEF<sub>25-75%</sub>, CI, CPT, VR, VR/CPT, resistência das vias

aéreas (raw) e condutância (sGaw) de  $75\pm 15$ ,  $48\pm 14$ ,  $59\pm 11$ ,  $22\pm 11$ ,  $64\pm 23$ ,  $120\pm 19$ ,  $281\pm 101$ ,  $49\pm 13$ ,  $250\pm 65$  e  $23\pm 9$ , respectivamente. Diferenças estatisticamente significantes foram observadas após inalação do tiotrópio nos seguintes parâmetros comparados ao tempo basal: CVF em 60/120/180 min/24h, VEF<sub>1</sub> em 30/60/120/180min, VEF<sub>1</sub>/CVF em 60/120/180min, FEF<sub>25-75%</sub> em 60/120/180min, VR em 30/60/120/180min, CPT em 30/120/180min, VR/CPT em 30/60/120/180min, raw em 30/60/120/180min/24h e sGaw em 30/60/120/180min/24h. Na fase placebo não houve diferença estatisticamente significativa em nenhum parâmetro funcional em nenhum momento após a administração. As diferenças entre as medidas funcionais comparando o grupo tiotrópio versus o grupo placebo foram estatisticamente significantes. **Conclusões:** O brometo de tiotrópio, após dose única, diminuiu agudamente o grau de obstrução e de aprisionamento aéreo por até 24 horas em crianças com BO. Estudos de longo prazo são necessários para se avaliar o papel do BT na terapêutica desses pacientes.

Descritores: bronquiolite obliterante, tiotrópio, antagonistas colinérgicos, broncodilatadores, criança.

## SUMMARY

Teixeira MFC. Evaluation of short term bronchodilator responsiveness to tiotropium in children and adolescents with Bronchiolitis Obliterans [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2013.

**Introduction:** Patients with bronchiolitis obliterans (BO) usually have severe airflow obstruction that results in chronic hypoxemia and limitation of physical activity. There is no efficient therapy for BO, bronchodilator response is usually poor, however, the bronchodilator response to a long action anticholinergic agent such as tiotropium bromide (TB) is not known. Efficacy and safety of TB with one daily administration has already been shown in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) with significant and sustained bronchodilator response. **Objective:** Verify through functional measurements whether the level of bronchial obstruction and air trapping was improved by the administration of a single dose of TB by inhalation when compared to placebo in children and adolescents with BO. **Methods:** A randomized, double blind, placebo-controlled, crossover, prospective study in stable BO patients, 6 to 16 years of age. Spirometry and plethysmography were performed before and at 30, 60, 120 and 180 minutes and 24 hours after inhalation of 18 mcg of tiotropium or a placebo. After 7-14 days, the drugs were inverted, and the procedures were repeated. The changes in lung function parameters at each time point were compared to the baseline by analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post-test and the differences in all time points assessment versus baseline in tiotropium versus placebo groups were compared using the Friedman test. **Results:** Thirty patients were enrolled in the study (23 male, 7 female; age  $10.9 \pm 2.8$  y) with baseline lung function values (% predicted) of FVC, FEV<sub>1</sub>, FEV<sub>1</sub>/FVC, FEF<sub>25-75%</sub>, IC, TLC, RV, RV/TLC, airway resistance (raw) and conductance (sGaw) of  $75 \pm 15$ ,  $48 \pm 14$ ,  $59 \pm 11$ ,  $22 \pm 11$ ,  $64 \pm 23$ ,  $120 \pm 19$ ,  $281 \pm 101$ ,  $49 \pm 13$ ,  $250 \pm 65$  and  $23 \pm 9$ , respectively. Statistically significant differences were observed after

tiotropium inhalation in the following parameters compared to baseline: FVC at 60/120/180min/24h, FEV<sub>1</sub> at 30/60/120/180min, FEV<sub>1</sub>/FVC at 60/120/180min, FEF<sub>25-75%</sub> at 60/120/180min, RV at 30/60/120/180min, TLC at 30/120/180min, RV/TLC at 30/60/120/180min, raw at 30/60/120/180min/24h and sGaw at 30/60/120/180min/24h. For the placebo group, no significant differences were observed in any lung function parameters at any time. The differences between the functional measurements comparing the tiotropium versus placebo groups were statistically significant. **Conclusions:** Tiotropium bromide, after a single dose, acutely decreased airway obstruction and air trapping for up to 24 hours in children with BO. Long-term studies are necessary to evaluate the role of BT in the management of these patients.

Descriptors: bronchiolitis obliterans, tiotropium, cholinergic antagonists, bronchodilators, child



---

# 1 INTRODUÇÃO

A bronquiolite obliterante (BO) é uma doença de prevalência desconhecida, porém com grande aumento no número de casos diagnosticados nos últimos anos principalmente nos países da América do Sul. É uma doença pulmonar obstrutiva crônica decorrente de uma resposta histopatológica estereotipada a um insulto ao trato respiratório inferior. Caracteriza-se por inflamação e fibrose dos bronquíolos terminais e respiratórios com estreitamento ou obliteração total do lúmen das pequenas vias aéreas<sup>1-3</sup>.

As etiologias principais de BO são<sup>4</sup>:

- Pós-infecciosa: viral (adenovírus 1, 3, 7, 21, VSR, influenza e parainfluenza), micoplasma e legionela
- Inalação de gases tóxicos: NO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>
- Doenças do tecido conectivo (Artrite Reumatóide principalmente)
- Drogas (penicilamina, ouro, sulfassalazina, metotrexate, ciclofosfamida, cocaína)
- Granulomatose de Wegener
- Sarcoidose
- Pneumoconiose
- Pneumonite de hipersensibilidade
- Síndrome de Stevens-Johnson
- Doença tecido-hospedeiro após transplante de medula óssea ou pulmonar
- Processos aspirativos crônicos
- Causas idiopáticas (geralmente associadas à pneumonia organizante)

A infecção viral é a causa mais freqüente na população pediátrica. Especialmente em países em desenvolvimento, estima-se que 1% das bronquiolites progridam para BO, principalmente por adenovírus subtipos 3, 7 e 21<sup>5,6</sup>.

Na América do Sul a BO pós infecciosa parece ser mais comum do que nos países do hemisfério norte. No Chile, Argentina e Uruguai, o adenovírus

7H apresenta maior associação com bronquiolite aguda grave e evolução tardia para doença respiratória crônica<sup>1</sup>.

Clinicamente a BO pós-infecciosa é caracterizada pela presença de sintomas respiratórios crônicos, por mais de 4 a 8 semanas, em criança previamente sadia, após episódio de infecção respiratória aguda. Os principais sinais/sintomas são: taquipnéia, aumento do diâmetro ântero-posterior do tórax, estertoração, sibilância e hipoxemia<sup>7,8</sup>. O espectro destes sintomas é variável, desde quadros oligossintomáticos até sibilância perene, aprisionamento intenso de ar, supuração pulmonar crônica pela presença de bronquiectasias, dependência de oxigênio e cor pulmonale<sup>8</sup>.

A primeira descrição da doença foi feita por Reynauld na França em 1835 e o primeiro estudo clássico de BO foi publicado por Lange em 1901<sup>4</sup>.

### **1.1 Fatores de risco para desenvolvimento de BO**

Devido à alta incidência de bronquiolite viral aguda nos lactentes e a prevalência cada vez maior de evolução para BO nos países em desenvolvimento, têm-se estudado recentemente os fatores de risco para o desenvolvimento da BO.

O agente etiológico envolvido, a extensão do insulto inicial, a resposta inflamatória individual e fatores genéticos relacionados ao paciente devem alterar a reparação tecidual levando as lesões estruturais nas vias aéreas que caracterizam a BO, como descrito nos estudos abaixo:

- Kajon e cols<sup>9</sup> encontraram associação entre adenovírus sorotipos AV7H, 3, 5, 21 e evolução de bronquiolite viral aguda para BO.
- Teper e cols<sup>10</sup> encontraram alta frequência do antígeno HLA-DQB1 0302 em crianças com BO na Argentina.
- Walter e cols<sup>11</sup> descreveram uma proteína expressa por células epiteliais pulmonares ativadas, denominada KL-6, aumentada no soro de pacientes pós transplante pulmonar que desenvolveram BO.

- Mistchenko e cols<sup>12</sup> detectaram imunocomplexos contendo antígenos do adenovírus nos pulmões, assim como concentrações séricas elevadas de interleucina 6 (IL-6), IL-8 e fator de necrose tumoral nas infecções graves por adenovírus, sugerindo uma resposta imunológica específica.
- Castro-Rodriguez e cols<sup>13</sup> avaliando lactentes internados com pneumonia por adenovírus concluíram que crianças com comprometimento pulmonar mais grave no episódio agudo (internação em UTI, necessidade de ventilação mecânica e corticoterapia sistêmica) são mais propensos a desenvolver BO.
- Murtagh e cols<sup>14</sup> estudando 415 lactentes previamente hígidos internados por infecção respiratória aguda por adenovírus encontrou como fatores de risco independentes para evolução para BO: hospitalização acima de 30 dias, pneumonia multifocal e hipercapnia.
- Colom e cols<sup>15</sup> encontraram como fatores de risco significantes para o desenvolvimento de BO pós-infecciosa em crianças menores de três anos com bronquiolite viral aguda, infecção por adenovírus e necessidade de ventilação mecânica. Não foi encontrada associação entre BO e sexo, idade do lactente e exposição ao tabaco. O estudo ressalta que com relação à ventilação mecânica não se sabe se ela é a causadora da injúria nas vias aéreas, o que aumentaria o risco de desenvolvimento de BO, ou se serve meramente como indicador de gravidade do episódio agudo.
- Mattiello e cols<sup>16</sup> sugerem que piores achados tomográficos nos primeiros três anos de vida correlacionam-se com maior comprometimento da função pulmonar futura dos pacientes com BO.

## 1.2 Patogênese

A patogênese proposta para a BO é a reparação anormal que se segue à necrose do epitélio intraluminal das pequenas vias aéreas, como resultado

de agentes infecciosos, aspiração de conteúdo gástrico, inalação de gases tóxicos ou outros agravos. A infecção crônica por adenovírus pode ser um fator que estimule o crescimento tecidual por amplificação do processo inflamatório e dessa maneira transforme uma bronquiolite aguda em BO<sup>5</sup>.

Estudo avaliando a celularidade e concentrações de IL-8 no lavado bronco-alveolar (LBA) de pacientes com BO pós pneumonia por sarampo comparado a controles mostrou número total de células e de neutrófilos significativamente maior no grupo BO, sem diferença na porcentagem de linfócitos, eosinófilos e células epiteliais entre os grupos. Também se observou aumento significativo na porcentagem de linfócitos CD8 e diminuição de CD4/CD8 no grupo BO, além de concentrações de IL-8 significativamente maiores neste grupo. Houve correlação significativa entre concentrações de IL-8 e porcentagem de neutrófilos nos grupos BO e controle. Estes achados sugerem que neutrófilos, IL-8 e linfócitos T CD8 podem ter um papel importante na patogênese da BO pós sarampo, lesando as vias aéreas periféricas e favorecendo o remodelamento fibrótico. Esses achados parecem ser comuns à BO pós adenovírus e pós transplante<sup>17</sup>.

### **1.3 Histopatologia**

São propostas duas principais categorias histopatológicas: a BO proliferativa e a BO constrictiva<sup>1,4</sup>. A primeira é caracterizada por pólipos intraluminais de tecido conectivo mixomatoso, principalmente nos bronquíolos respiratórios distais, podendo ser acompanhados de “plugs” de tecido de granulação em ductos alveolares e alvéolos. Nesses casos usa-se o termo BO com pneumonia organizante (BOOP). A BO constrictiva é caracterizada por fibrose peribronquiolar envolvendo submucosa e adventícia, levando ao estreitamento concêntrico do lúmen das pequenas vias aéreas causando um dano bronquiolar mais grave<sup>1,4</sup>.

Existem poucos estudos sobre os aspectos histológicos da BO em crianças, pois o diagnóstico costuma, na maioria dos casos, ser baseado em dados clínicos e tomográficos. Mauad & Dolhnikoff, avaliando 34 biopsias a céu aberto, lobectomias e autopsias de pacientes pediátricos com BO observaram que o padrão constritivo estava presente em 97% dos casos<sup>18</sup>.

O padrão proliferativo costuma apresentar boa resposta ao tratamento com corticóide, enquanto no constritivo a resposta é pobre.

#### **1.4 Diagnóstico**

Os critérios diagnósticos de BO pós-infecciosa em crianças, segundo Fischer e colaboradores são<sup>1,8</sup>:

1. História de bronquiolite viral/pneumonia aguda grave em criança previamente hígida durante os primeiros três anos de vida;
2. Evidência de obstrução persistente das vias aéreas após um evento agudo, identificado por exame físico e/ou provas de função pulmonar (PFP). Esta obstrução de vias aéreas não é responsiva a um curso de, pelo menos, duas semanas de corticoide sistêmico associado a broncodilatadores;
3. Achados na radiografia de tórax de doença pulmonar obstrutiva, como hiperinsuflação pulmonar, atelectasias, espessamento da parede das vias aéreas e bronquiectasias;
4. Padrão em mosaico e aprisionamento aéreo em tomografia computadorizada de tórax;
5. Exclusão de outras doenças pulmonares crônicas, incluindo tuberculose, fibrose cística, displasia broncopulmonar, imunodeficiências, asma grave e deficiência de alfa-1-antitripsina.

A biópsia pulmonar é dispensável na grande maioria dos casos.

Um escore para a predição de BO pós-infecciosa incluindo as seguintes variáveis foi desenvolvido e aplicado em 125 crianças argentinas menores

de dois anos de idade: “história clínica típica”, definida como paciente previamente hígido, com um grave episódio de bronquiolite causando hipoxemia crônica por mais de 60 dias (4 pontos); “história de infecção por adenovírus” (3 pontos) e “tomografia computadorizada de alta resolução com padrão em mosaico” (4 pontos). Uma pontuação maior ou igual a 7 prediz um diagnóstico de BO pós-infecciosa com alta precisão (especificidade de 100% e sensibilidade de 67%). Enfatiza-se ainda que uma pontuação menor que 7 não descarta com certeza o diagnóstico de BO porque o estudo só incluiu pacientes gravemente enfermos<sup>19</sup>.

### 1.5 Função Pulmonar

Estudos avaliando a função pulmonar de lactentes e crianças com BO pós-infecciosa costumam mostrar padrão obstrutivo moderado a grave, diminuição da complacência pulmonar, aumento da resistência específica de vias aéreas e respostas variáveis ao broncodilatador, mas geralmente pobre<sup>2,15,20-27</sup>. Hiperresponsividade brônquica a metacolina e a adenosina 5-monofosfato já foi demonstrada em alguns casos<sup>28</sup>. Comprometimento da capacidade pulmonar ao exercício ocorre principalmente nos pacientes com maior aprisionamento aéreo<sup>29</sup>.

Um estudo italiano envolvendo 11 crianças com BO pós-infecciosa constatou declínio de 1% ao ano em diversos parâmetros da função pulmonar durante seguimento médio de dez anos, sugerindo a presença de um processo inflamatório ativo nas vias aéreas anos após o agravo infeccioso agudo, levando a uma piora progressiva da função pulmonar<sup>30</sup>.

Em 2010, Mattiello e colaboradores, descrevendo a função pulmonar de 77 pacientes brasileiros e chilenos entre oito e 18 anos com BO pós-infecciosa encontrou grave comprometimento da função pulmonar: importante diminuição do VEF<sub>1</sub> (volume expiratório forçado no primeiro segundo) e aumento do volume residual e da resistência específica das vias

aéreas. Os autores não conseguiram correlacionar parâmetros funcionais piores com fatores de risco conhecidos para doença respiratória<sup>31</sup>.

## 1.6 Prognóstico

O curso clínico da BO é de significativa morbidade, com manutenção de sintomas respiratórios crônicos graves (dispneia, sibilância perene, dificuldade para realizar atividades físicas, dependência variável de oxigênio, reinternações) e pode ocorrer perda progressiva de função pulmonar, apesar de parte dos pacientes apresentarem uma melhora clínica com o passar dos anos.

Zhang realizou um estudo prospectivo observacional para definir o curso clínico e fatores prognósticos de 31 pacientes com BO pós-infecciosa. Durante os oito anos de seguimento 67,7% tiveram persistência dos sintomas respiratórios, 22,6% apresentaram remissão dos sintomas e 9,7% morreram. Neste estudo idade maior no início da doença e atopia relacionaram-se com pior prognóstico<sup>6</sup>.

Em um estudo Argentino com 109 pacientes menores de três anos com BO, 57% necessitaram de oxigênio domiciliar após a admissão hospitalar inicial por um período médio de 17 meses e 95% precisaram de readmissão hospitalar por infecções subseqüentes do trato respiratório inferior<sup>15</sup>.

Estudo realizado no Instituto da Criança – Hospital das Clínicas avaliou 40 pacientes de até 18 anos com diagnóstico de BO em seguimento ambulatorial por um período médio de quatro anos. Os pacientes haviam sido submetidos a pulsoterapia com metilprednisolona endovenosa por no mínimo 6 meses. Apesar da ausência de grupo placebo, essa terapêutica, associada às demais medidas gerais de suporte, aparentemente resultou em diminuição das agudizações pulmonares e hospitalizações, possibilidade de retirada do corticoide oral contínuo e do oxigênio domiciliar em número significativo de pacientes<sup>32</sup>.



## 1.7 Tratamento

O tratamento da BO é de suporte: otimização do estado nutricional, imunizações, fisioterapia respiratória, tratamento precoce das agudizações infecciosas, oxigenoterapia e em alguns casos cirurgias para ressecar as áreas mais acometidas por bronquiectasias. Cirurgia de redução de volume pulmonar e até transplante pulmonar podem estar indicados em casos selecionados<sup>3</sup>.

O tratamento com corticoterapia parenteral (pulsoterapia com metilprednisolona), oral e inalatória geralmente é realizado nesses pacientes, apesar das controvérsias sobre a sua real eficácia. Estudos recentes sugerem que a corticoterapia pode ser benéfica nas fases iniciais, preferencialmente a pulsoterapia<sup>32,33</sup>.

Os broncodilatadores ( $\beta_2$  adrenérgicos de curta e longa ação) também são usados apesar da pouca eficácia funcional e clínica na maioria dos casos.

Mais recentemente a azitromicina tem sido usada na BO pós-transplante pulmonar, demonstrando diminuir níveis de neutrófilos e IL8 nas vias aéreas quando adicionada à terapêutica imunossupressora<sup>34</sup>. Seu uso em BO pós-infecciosa merece ser avaliado. Há também estudos com bloqueador de fator de necrose tumoral alfa em BO pós-transplante de medula óssea<sup>35</sup>.

Pela escassez de trabalhos relacionados ao tratamento de BO, utiliza-se muitas vezes o mesmo tratamento para asmáticos graves nesses pacientes, isto é, corticóide inalatório em altas doses, broncodilatadores do tipo  $\beta_2$  adrenérgicos de curta e longa ação, além da corticoterapia sistêmica, a qual muitas vezes o paciente se torna dependente e com diversos efeitos colaterais.

É possível que pacientes com BO apresentem resposta aos anticolinérgicos como ocorre nos pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), pois em ambas as doenças (BO e DPOC) há lesões estruturais brônquicas mais significativas comparadas à asma.

## 1.8 Comparações entre BO e DPOC

O estreitamento das vias aéreas na DPOC, por muito tempo foi considerado irreversível, assim como na BO. Entretanto, uma grande proporção de pacientes com DPOC respondem a agentes broncodilatadores, principalmente anticolinérgicos, com mudanças significativas na função pulmonar<sup>36-38</sup>.

Diferente da asma, anormalidades na estrutura ou função do músculo liso das vias aéreas não são consideradas importantes no mecanismo de estreitamento das vias aéreas na DPOC. Na asma, o músculo liso das vias aéreas encontra-se mais espesso do que o normal e sua habilidade aumentada para gerar força é considerada o maior mecanismo para o estreitamento das vias aéreas. Na DPOC, o músculo liso das vias aéreas tem uma espessura próxima do normal e sua capacidade de gerar força está fracamente correlacionada com o grau de obstrução ao fluxo aéreo. O estreitamento das vias aéreas na DPOC é atribuído principalmente ao aumento da espessura da parede da via aérea e a perda da capacidade elástica (atribuída ao rompimento das estruturas alveolares). Estas modificações estruturais irreversíveis amplificam os efeitos de pequenas mudanças no tônus da musculatura lisa das vias aéreas. Portanto, mantendo num grau mínimo o tônus das vias aéreas, estas permanecerão mais abertas, diminuindo a dispneia desses pacientes, a qual é a maior queixa na DPOC<sup>36</sup>. Isto pode ser obtido pelo antagonismo dos receptores muscarínicos por agentes anticolinérgicos, que leva a um relaxamento efetivo da musculatura lisa das vias aéreas na DPOC<sup>37, 38</sup>.

A BO corresponde a um processo final de resposta inflamatória a diferentes insultos no epitélio das pequenas vias aéreas, que evolui com cicatrização intraluminal ao invés do processo de reparo normal esperado após uma bronquiolite aguda sem complicações. Nos dois tipos histológicos, em proporções diferentes, ocorrem inflamação e necrose do epitélio bronquiolar com distorção da parede e luz bronquiolar<sup>8</sup>. O processo é mais

periférico quando comparado à DPOC, porém assim como na DPOC os danos às vias aéreas são mais estruturais e com pouca descrição de espessamento de musculatura lisa. Estes dados sugerem que a histopatologia e a resposta terapêutica na BO se aproximam mais do modelo da DPOC do que da asma.

### **1.9 O brometo de tiotrópio**

Os anticolinérgicos são os broncodilatadores (BD) de escolha no manejo da DPOC. Eles bloqueiam os receptores muscarínicos presentes na musculatura das vias aéreas, diminuindo o tônus colinérgico que parece ser o único componente reversível da DPOC. Com a descoberta de diferentes subtipos de receptores muscarínicos, o desenvolvimento de anticolinérgicos mais seletivos vem sendo possível. O maior avanço atual nessa área terapêutica foi a descoberta do brometo de tiotrópio.

O brometo de tiotrópio (BT) é um agente anticolinérgico com estrutura de amônio quaternário que atua como antagonista de longa ação dos receptores muscarínicos de forma específica e potente. Os receptores muscarínicos  $M_1$ ,  $M_2$  e  $M_3$  são encontrados nas vias aéreas. Os receptores  $M_1$  estão localizados nos gânglios parassimpáticos e facilitam a neurotransmissão colinérgica, favorecendo a broncoconstrição colinérgica. Os receptores  $M_2$ , presentes nas terminações nervosas colinérgicas, inibem a liberação da acetilcolina; o bloqueio destes receptores resulta num aumento na liberação de acetilcolina. Os receptores  $M_3$  estão localizados nas células e glândulas da musculatura lisa das vias aéreas e mediam a broncoconstrição e secreção de muco<sup>37</sup>.

O brometo de tiotrópio se liga aos receptores muscarínicos das vias aéreas  $M_1$ ,  $M_2$  e  $M_3$ , apresentando maior seletividade aos receptores  $M_1$  e  $M_3$ , comparado ao  $M_2$ , com rápida dissociação deste último. A afinidade ao receptor  $M_3$  é três vezes maior que ao  $M_1$ . O BT após antagonizar os

receptores  $M_3$  de forma competitiva e reversível provoca o relaxamento do músculo liso brônquico e é a dissociação muito lenta dos receptores  $M_3$  a responsável pela sua longa duração de ação. O agente anticolinérgico brometo de ipratrópio, comparado ao BT, tem uma afinidade menor e uma dissociação mais rápida dos receptores  $M_3$  e portanto uma curta duração de ação<sup>37</sup>.

O BT é topicamente seletivo quando administrado pela via inalatória, com broncodilatação ocorrendo primariamente como resultado de um efeito local nas vias aéreas. A concentração plasmática máxima alcançada após a inalação do tiotrópio não induz ocupação relevante funcional dos receptores muscarínicos<sup>37</sup>.

Frente ao mecanismo de ação do BT, com pico de ação em três horas e duração por mais de 24 horas ele tem sido estudado no tratamento da DPOC, demonstrando ser bem tolerado com administração única diária e com vantagens significativas sobre o brometo de ipratrópio, usado quatro vezes ao dia<sup>38,39</sup>.

Estudos mostram que o BT melhora significativamente a função pulmonar, diminui os volumes pulmonares e provoca broncodilatação mantida por no mínimo 24 horas nos pacientes com DPOC quando comparado a placebo, brometo de ipratrópio quatro vezes ao dia e salmeterol duas vezes ao dia. Há também melhora clínica com o uso contínuo: diminuição da dispneia, melhora na qualidade de vida, diminuição na frequência e gravidade das exacerbações<sup>38</sup>.

Trabalhos em DPOC com dose única diária de BT 18 $\mu$ g versus placebo demonstraram melhora no VEF<sub>1</sub> basal iniciando-se com 30 minutos da administração, atingindo pico médio de 22% após três horas<sup>40</sup>.

A ação, com dose única da droga, mantém-se por 24 horas com melhora do VEF<sub>1</sub> em 12% em relação ao basal. Nos estudos de longo prazo (três meses a um ano), com casuísticas médias de 900 pacientes com DPOC, a melhora funcional foi sustentada sem taquifilaxia<sup>40-43</sup>.

Os pacientes em uso de BT apresentam também redução sustentada da hiperinsuflação pulmonar em repouso e durante o exercício<sup>44-47</sup>. Segundo

O'Donnel em estudo duplo-cego, placebo-controlado com 187 pacientes a capacidade vital e a capacidade inspiratória aumentaram com declínio no volume residual e na capacidade residual funcional, havendo ainda melhora da dispneia e da performance para exercício no grupo em uso de BT<sup>47</sup>.

O BT tem se mostrado bastante seguro: revisão sistemática e metanálise incluindo 19 grandes estudos (n=18.111) confirmam que não há efeitos adversos cardiovasculares com doses variando de 4,5 a 36 microgramas/dia<sup>40,48-51</sup>.

Pela ampla experiência clínica do BT em pacientes com DPOC, com demonstração de eficácia e segurança, além de comodidade posológica é muito atrativo conhecer como seria sua ação nas crianças com BO, que é uma DPOC na faixa etária pediátrica. Se esta experiência demonstrar resultados positivos esta droga poderá ser incluída no pobre arsenal terapêutico existente atualmente no manejo da BO.

O tiotrópio, tal como o ipratrópio, tem pouca absorção no trato gastrointestinal e sua biodisponibilidade sistêmica é muito baixa. Nos diversos ensaios clínicos em que foi utilizado, em longo prazo, o efeito adverso mais comum foi a sensação de secura na boca, um efeito anticolinérgico típico. Este efeito ocorreu em cerca de 10 a 16% dos pacientes estudados, uma frequência que foi discretamente maior do que a observada com o uso de ipratrópio<sup>44,45</sup>. Apesar da falta de liberação por ora do uso do BT na faixa etária pediátrica, o perfil de segurança em adultos permite a sua avaliação em dose única em crianças.

\_\_\_\_\_ 2 JUSTIFICATIVAS

1. Os pacientes com BO têm resposta lenta e pobre à corticoterapia sistêmica e inalatória, além de pouca resposta aos broncodilatadores  $\beta_2$  agonistas. Muitos pacientes apresentam acometimento importante da função pulmonar que resulta em significativa morbi-mortalidade. Faz-se então importante a procura de terapêutica alternativa que resulte em melhora funcional e conseqüente melhora clínica e da qualidade de vida dos pacientes.
2. Não há trabalhos utilizando-se anticolinérgico de longa ação (brometo de tiotrópio) em crianças com BO, apesar da eficácia e segurança comprovadas em adultos com DPOC, com resposta broncodilatadora significativa e sustentada em dose única diária.

\_\_\_\_\_ 3 HIPÓTESE



Os pacientes com BO apresentam obstrução fixa e crônica das vias aéreas e podem ter resposta funcional aguda ao brometo de tiotrópio de forma semelhante ao observado em pacientes adultos com DPOC.

**4 OBJETIVOS**

---

**Primário:** Avaliar se existe melhora do grau de obstrução brônquica e do aprisionamento aéreo, através de parâmetros funcionais, após o uso de dose única de brometo de tiotrópio por via inalatória comparado a placebo em crianças e adolescentes com BO.

**Secundário:** Analisar a melhora de cada parâmetro funcional ao longo das primeiras três horas (30, 60, 120 e 180 minutos) e após 24 horas da administração da droga e do placebo.

## \_\_\_\_\_ 5 CASUÍSTICA E MÉTODOS

### **5.1 Critérios de inclusão**

1. Pacientes em seguimento na Unidade de Pneumologia do Instituto da Criança (ICr) - HC/FMUSP.
2. Diagnóstico de BO clínico-tomográfico e/ou por biópsia pulmonar.
3. Idade  $\geq 6$  anos, independente do VEF<sub>1</sub> basal.
4. Não dependência de oxigênio diurno (saturação  $\geq 90\%$  em ar ambiente).
5. Uso de corticóide inalatório há mais de seis meses.
6. Estabilidade clínica no momento da função pulmonar, isto é, sem agudizações do quadro respiratório até quatro semanas antes (piora da tosse, aumento da secreção, aumento da dispneia, com ou sem febre).
7. Aptidão para inalar medicamento na forma de pó.

### **5.2 Critérios de exclusão**

1. Incapacidade de realizar adequadamente as manobras de PFP (pletismografia e espirometria).
2. Lobectomia/pneumectomia.

A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Pesquisa e Ética do Hospital das Clínicas da FMUSP sob o número 627/05 (Anexo A) e os pacientes participantes do estudo ou seus responsáveis legais assinaram um termo de consentimento (Anexo B).

### **5.3 Delineamento do Estudo**

Este foi um ensaio clínico prospectivo, duplo cego, randomizado, placebo-controlado e cruzado em pacientes com BO estáveis.

A coleta de dados foi realizada sempre no período da manhã, às quartas e quintas feiras, entre novembro de 2005 e janeiro de 2008. Problemas técnicos com o pletismógrafo, interrompendo a coleta de dados, ocorreram por quatro vezes, totalizando 12 meses.

Os pacientes foram randomizados para inalar a droga ativa (brometo de tiotrópio 18 µg em lactose) ou placebo (cápsula vazia) através de cápsulas idênticas em dispositivo handihaler®, após a realização da pletismografia e espirometria basais.

Para inalar a droga ou placebo o paciente era instruído por um segundo pesquisador em outra sala a realizar uma expiração completa, colocar o handihaler na boca e fechar os lábios firmemente ao redor do bocal. Em seguida orientava-se inspirar lenta e profundamente até a capacidade pulmonar total, ouvindo a vibração da cápsula. No final pedia-se ao paciente para fazer uma pausa respiratória de 10 segundos sem o handihaler na boca seguida de uma expiração normal. O pesquisador verificava se o conteúdo da cápsula (quando da inalação do BT) havia esvaziado e no caso de haver ainda algum resíduo todo o procedimento da inalação era repetido até esvaziá-la. Não foi feita a medição do fluxo inspiratório.

Os pacientes foram randomizados utilizando-se tábua de números aleatórios, para receber por via inalatória nas visitas 1 e 3 a droga ou o placebo, que foram denominados pelas letras “A” e “B” de modo duplo-cego; portanto, cada paciente participou da fase droga e da fase placebo.

O pesquisador principal, que realizou entrevista e exame físico e participou da realização das provas de função pulmonar não soube se o paciente havia recebido o equivalente a letra “A” ou “B”, uma vez que este procedimento, de acordo com prévio sorteio, era realizado pelo outro pesquisador e somente após o término da coleta de todos os dados, é que o estudo foi aberto ao pesquisador principal.

Foram realizadas quatro visitas para cada paciente:

Visita 1: PFP pré medicação A ou B e 30, 60, 120, 180 minutos após a inalação da droga ou placebo.

Visita 2: PFP 24 horas após o uso da medicação A ou B.

Visita 3: PFP pré medicação A ou B e 30, 60, 120, 180 minutos após a inalação da droga ou placebo.

Visita 4: PFP 24 horas após o uso da medicação A ou B.

O intervalo entre as visitas 1 e 3 foi de 7 a 14 dias para 26 pacientes. Apenas em quatro casos o intervalo foi maior (máximo de nove semanas) devido a problemas técnicos com o pletismógrafo ou por agudização do paciente no intervalo entre as visitas.

#### **5.4 Dados Clínicos**

Antes de se iniciarem as provas de função pulmonar era preenchido um protocolo clínico (Anexo C) pelo investigador principal, contendo os dados clínicos do paciente, seguido de exame físico. Eram avaliados antes da primeira função pulmonar: frequência respiratória e cardíaca, medida da saturação de oxigênio com oxímetro de pulso ( $SpO_2$ ), aferição da pressão arterial e ausculta pulmonar para avaliação da estabilidade respiratória. Nos momentos 30 e 180 minutos após administração da droga/placebo eram reavaliadas a frequência cardíaca e a pressão arterial.

#### **5.5 Prova de Função Pulmonar**

As provas espirométricas foram realizadas segundo recomendações da American Thoracic Society<sup>52</sup>. Foram avaliados os seguintes parâmetros: volume expiratório forçado no primeiro segundo ( $VEF_1$ ), capacidade vital forçada (CVF), fluxo expiratório forçado entre 25% e 75% da CVF ( $FEF_{25-75}$ ).

75%) a relação  $VEF_1/CVF$  e a capacidade inspiratória (CI). Foi realizada pletismografia para determinação dos volumes e capacidades pulmonares: capacidade pulmonar total (CPT), volume residual (VR), relação VR/CPT, resistências das vias aéreas (Raw) e condutância das vias aéreas (sGaw), seguindo padronizações internacionais<sup>53</sup>. Broncodilatadores  $\beta_2$  agonistas de curta e longa ação foram suspensos 24 horas antes dos testes.

O equipamento utilizado tanto para a espirometria quanto para a pletismografia foi o pletismógrafo da marca Sensormedics® disponível no laboratório de Prova de Função Pulmonar da Unidade de Pneumologia do Instituto da Criança. Todas as provas foram realizadas no período da manhã pela mesma técnica. O equipamento foi calibrado imediatamente antes da realização do primeiro exame do período. Os resultados foram expressos em valores absolutos e em porcentagem dos valores previstos para altura e sexo segundo as equações de Polgar e Promadhat e Polgar e Morris<sup>53-55</sup>.

## 5.6 Análise estatística

Com base em trabalhos prévios realizados em adultos com DPOC, nos quais o incremento no  $VEF_1$  após o uso do brometo de tiotrópio foi considerado o parâmetro de referência para resposta funcional (encontrou-se aumento de 19 a 22% no  $VEF_1$  três horas após uso da medicação), foi calculado o tamanho da amostra considerando-se arbitrariamente uma variação mínima de 15% no  $VEF_1$  em relação ao valor basal, após 3 horas de administração da droga em estudo, como resposta significativa.

Com base no programa Sample Power 2.0®, utilizando-se o teste T pareado diferente de zero, com  $\alpha$  bicaudal de 5% e poder de teste de 80%, foi calculado como necessário um n de 30 pacientes.

Todos os parâmetros funcionais da fase placebo e da fase droga foram analisados um a um comparando cada tempo com o valor basal.



Analisou-se o percentual de incremento nos parâmetros funcionais em cada tempo comparando ao basal através do teste de ANOVA (análise de variância para medidas repetidas) e no caso de uma diferença significativa realizou-se o pós-teste de Tukey. Considerou-se sempre um intervalo de confiança de 95%.

As diferenças entre todos os momentos versus o tempo basal no grupo tiotrópio versus grupo placebo foram comparadas usando o teste de Friedman (análise de variância para medidas repetidas não paramétricas).  $P < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

## 6 RESULTADOS

---

Foram convidados para o estudo todos os pacientes com BO acima de seis anos em seguimento na Unidade de Pneumologia do ICr. Dentre os 34 pacientes elegíveis quatro foram excluídos em decorrência de: lobectomia (1), incapacidade de realizar adequadamente as manobras de PFP (2) e recusa na participação (1). Foram então estudados 30 pacientes, sendo 23 do sexo masculino e sete do feminino, com média de idade de  $10,9 \pm 2,8$  anos. As características descritivas dos pacientes do estudo estão detalhadas nas Tabelas 1 e 2.

**Tabela 1 - Dados demográficos e características clínicas dos 30 pacientes com bronquiolite obliterante estudados**

Sexo (masc/fem)	23/7
Idade, anos*	$10,9 \pm 2,8$
Peso, Kg*	$34,7 \pm 13,2$
Altura, m*	$1,4 \pm 0,1$
IMC, Kg/m <sup>2</sup> *	$17,1 \pm 3,2$
SpO <sub>2</sub> basal (%)* - momento tiotrópio	$95,5 \pm 2$
SpO <sub>2</sub> basal (%)* – momento placebo	$95,7 \pm 2$
Diagnóstico por biópsia pulmonar	13
Pulsoterapia com metilprednisolona prévia	21
Pulsoterapia com metilprednisolona atual	1
Oxigenoterapia domiciliar prévia	11
Oxigenoterapia noturna domiciliar atual	3
Uso de $\beta$ 2 adrenérgico de longa ação	23
Uso contínuo de $\beta$ 2 adrenérgico de curta ação	2

\* média  $\pm$ DP

**Tabela 2 - Medicções inalatórias em uso contínuo pelos 30 pacientes com bronquiolite obliterante estudados**

Medicção inalatória	Dose µg/dia	Nº de pacientes
<b>Broncodilatador <math>\beta_2</math> longa ação</b>		
Formoterol	24	16
Salmeterol	100	7
<b>Broncodilatador <math>\beta_2</math> curta ação</b>		
Salbutamol		2
Não usavam $\beta_2$ diário	400	5
<b>Corticóide inalatório</b>		
Beclometasona	1000	4
	750	1
Budesonida	800	17
	600	2
	400	4
Fluticasona	1000	1
	500	1

A prova de função pulmonar basal mostrava que em média, em ambos os grupos, havia distúrbio ventilatório obstrutivo grave (segundo a normatização atual da ATS/ERS<sup>55</sup>) e aprisionamento aéreo importante (Tabela 3).

O VEF<sub>1</sub> basal variou de 21 a 76% do previsto no grupo tiotrópio e 23 a 94% do previsto no grupo placebo. Somente três pacientes apresentaram VEF<sub>1</sub> basal acima de 70%, mas seus parâmetros pletismográficos demonstraram aprisionamento aéreo, refletindo obstrução de vias aéreas e eles preencheram critérios clínicos e tomográficos para diagnóstico de BO (um deles apresentava inclusive biópsia pulmonar).

**Tabela 3 - Parâmetros espirométricos e pletismográficos basais nos momentos pré-administração do tiotrópio e placebo**

	Média (% do previsto) Tiotrópio	Média (% do previsto) Placebo
<b>CVF</b>	75,1 ± 15,4	73,1 ± 16,9
<b>VEF<sub>1</sub></b>	48,1 ± 13,8	47,0 ± 14,6
<b>VEF<sub>1</sub>/CVF</b>	58,5 ± 11,3	57,8 ± 11,5
<b>FEF<sub>25-75%</sub></b>	22,3 ± 10,7	22,2 ± 11,5
<b>CI</b>	63,6±22,5	61,3± 16,3
<b>VR</b>	280,7 ± 100,8	272,6 ± 73,3
<b>CPT</b>	120,2 ± 18,8	118,5 ± 14,1
<b>VR/CPT</b>	49,2 ± 13,4	49,0 ± 10,8
<b>Raw</b>	250,2 ± 64,5	258,9 ± 89,2
<b>sGaw</b>	22,8 ± 8,7	24,3 ± 12,7

CVF= capacidade vital forçada, VEF<sub>1</sub>= volume expiratório forçado no primeiro segundo, FEF 25-75% = fluxo expiratório forçado entre os 25 e 75% da CVF, VR=volume residual, CPT=capacidade pulmonar total, Raw= resistência das vias aéreas, sGaw= condutância específica das vias aéreas.

As tabelas 4 a 13 mostram as variações dos parâmetros espirométricos e pletismográficos nos grupos tiotrópio e placebo nos momentos basal, 30, 60 120, 180 minutos e 24 horas.

**Tabela 4 - Médias da CVF na situação basal e nos diferentes momentos de avaliação após a administração de tiotrópio e placebo**

Parâmetro	CVF (% previsto)			CVF (litros)		
	Tiotrópio	P1	Placebo	P2	Tiotrópio	Placebo
<b>basal</b>	75,1±15,5	-	73,1±16,9	-	1,9±0,6	1,8±0,6
<b>30min</b>	76,9±16,9	NS	74,9±16,7	NS	1,9±0,6	1,9±0,6
<b>60min</b>	79,1±15,5	<b>&lt;0,05</b>	75,7±16,1	NS	2,0±0,7	1,9±0,6
<b>1min</b>	79,3±16,4	<b>&lt;0,01</b>	75,0±15,2	NS	2,0±0,7	1,9±0,6
<b>180min</b>	80,5±14,6	<b>&lt;0,001</b>	74,9±15,5	NS	2,0±0,6	1,9±0,6
<b>24 horas</b>	78,9±15,1	<b>&lt;0,05</b>	72,1±16,8	NS	1,9±0,6	1,9±0,6

CVF= capacidade vital forçada. Teste de ANOVA no grupo tiotrópio e placebo entre os diferentes momentos da avaliação x basal. P1= grupo tiotrópio, P2= grupo placebo. NS= não significante.

**Tabela 5 - Médias do VEF<sub>1</sub> na situação basal e nos diferentes momentos de avaliação após a administração de tiotrópio e placebo**

Parâmetro	VEF <sub>1</sub> (% previsto)				VEF <sub>1</sub> (litros)		
	Tempo	Tiotrópio	P1	Placebo	P2	Tiotrópio	Placebo
basal		48,1±13,8	-	47,0±14,6	-	1,1±0,4	1,0±0,4
30min		51,1±13,9	<0,001	48,2±14,8	NS	1,1±0,4	1,1±0,4
60min		52,6±14,6	<0,001	48,6±14,1	NS	1,2±0,4	1,1±0,4
120min		53,6±15,7	<0,001	49,2±15,1	NS	1,2±0,4	1,1±0,4
180min		54,1±15,2	<0,001	48,9±15	NS	1,2±0,4	1,1±0,4
24 horas		49,9±13,8	NS	48,9±14,3	NS	1,1±0,4	1,1±0,4

VEF<sub>1</sub>= volume expiratório forçado no primeiro segundo. Teste de ANOVA no grupo tiotrópio e placebo entre os diferentes momentos da avaliação x basal. P1= grupo tiotrópio, P2= grupo placebo. NS= não significativa.

**Tabela 6 - Médias do FEF<sub>25-75%</sub> na situação basal e nos diferentes momentos de avaliação após a administração de tiotrópio e placebo**

Parâmetro	FEF <sub>25-75%</sub> (% previsto)				
	Tempo	Tiotrópio	P1	Placebo	P2
basal		22,3±10,7	-	22,2±11,7	-
30min		23,9±12,2	NS	22,5±12,8	NS
60min		25,7±14	<0,05	22,3±11,4	NS
120min		27,1±16	<0,01	24,3±13,9	NS
180min		26,2±14,6	<0,01	24,2±15,9	NS
24 horas		21,6±11	NS	23,1±16,4	NS

FEF<sub>25-75%</sub> = fluxo expiratório forçado entre os 25 e 75% da CVF. Teste de ANOVA no grupo placebo e tiotrópio entre os diferentes momentos da avaliação x basal. P1 = grupo tiotrópio, P2= grupo placebo. NS= não significativa.

**Tabela 7 - Médias da relação VEF<sub>1</sub>/CVF na situação basal e nos diferentes momentos de avaliação após a administração de tiotrópio e placebo**

Parâmetro	VEF <sub>1</sub> /CVF				
	Tempo	Tiotrópio	P1	Placebo	P2
basal		58,5±11,3	-	57,8±11,5	-
30 min		59,9±11,1	NS	57 ±11,1	NS
60 min		60,8±10,7	<0,05	56,7±11,3	NS
120 min		61,5±12,1	<0,001	58 ±11,9	NS
180 min		61±11,8	<0,01	57,4±12,2	NS
24 horas		57,6±10,8	NS	57,4±12	NS

VEF<sub>1</sub>/CVF= relação entre o volume expirado no primeiro segundo e a capacidade vital forçada. Teste de ANOVA no grupo placebo e tiotrópio entre os diferentes momentos da avaliação x basal. P1= grupo tiotrópio, P2= grupo placebo. NS= não significante.

**Tabela 8 - Médias da CI na situação basal e nos diferentes momentos de avaliação após a administração de placebo e tiotrópio**

Parâmetro	CI				
	Tempo	Tiotrópio	P1	Placebo	P2
basal		63,6±22,5	-	61,3±16,3	-
30min		63,3±20,5	NS	58,6±12,5	NS
60min		65±20,6	NS	62,7±13,9	NS
120min		63,8±21,1	NS	61,9±17,1	NS
180min		63,8±21,14	NS	60,9±15,5	NS
24 horas		61,8±16,8	NS	60,3±15,7	NS

CI= capacidade inspiratória. Teste de ANOVA no grupo tiotrópio e placebo entre os diferentes momentos da avaliação x basal. P1 = grupo tiotrópio, P2= grupo placebo. NS= não significante.

**Tabela 9 - Médias da CPT na situação basal e nos diferentes momentos de avaliação após a administração de tiotrópio e placebo**

Parâmetro	CPT (% previsto)				CPT (Litros)	
	Tiotrópio	P1	Placebo	P2	Tiotrópio	Placebo
<b>basal</b>	120,2±18,8	-	118,5±14,1	-	3,8±1,0	3,7±1,0
<b>30min</b>	117,4±17,9	<b>&lt;0,05</b>	119,6±15	NS	3,7±0,9	3,8±1,0
<b>60min</b>	116,2±17,2	NS	121,7±16,5	NS	3,6±0,9	3,8±0,9
<b>120min</b>	116,3±16,7	<b>&lt;0,05</b>	121,5±17,3	NS	3,7±1,0	3,8±0,9
<b>180min</b>	116,1±15,6	<b>&lt;0,05</b>	117,8±14,8	NS	3,7±1,0	3,7±0,9
<b>24 horas</b>	118±14,9	NS	119,6±13,9	NS	3,7±1,0	3,7±0,1

CPT=capacidade pulmonar total. Teste de ANOVA no grupo tiotrópio e placebo entre os diferentes momentos da avaliação x basal. P1 = grupo tiotrópio, P2= grupo placebo. NS= não significante.

**Tabela 10 - Médias do VR na situação basal e nos diferentes momentos de avaliação após a administração de tiotrópio e placebo**

Parâmetro	VR (% previsto)				VR (litros)	
	Tiotropio	P1	Placebo	P2	Tiotrópio	Placebo
<b>basal</b>	280,7±100,8	-	272,6±73,3	-	1,9±0,8	1,8±0,6
<b>30min</b>	253,0±93,8	<b>&lt;0,01</b>	275,5±86,4	NS	1,7±0,7	1,9±0,7
<b>60min</b>	246,9±96,0	<b>&lt;0,001</b>	281,8±85,9	NS	1,6±0,6	1,9±0,6
<b>120min</b>	242,4±98,8	<b>&lt;0,001</b>	277,3±81,7	NS	1,6±0,7	1,8±0,6
<b>180min</b>	239,6±92,7	<b>&lt;0,001</b>	266,8±88,0	NS	1,6±0,7	1,8±0,6
<b>24 horas</b>	262,4±79,4	NS	276,2±77,1	NS	1,8±0,6	1,8±0,6

VR=volume residual. Teste de ANOVA no grupo tiotrópio e placebo entre os diferentes momentos da avaliação x basal. P1 = grupo tiotrópio, P2= grupo placebo. NS= não significante.



**Tabela 11 - Médias da relação VR/CPT na situação basal e nos diferentes momentos de avaliação após a administração de tiotrópio e placebo**

Parâmetro	VR/CPT				
	Tempos	Tiotrópio	P1	Placebo	P2
basal		49,2±13,2	-	49±10,8	-
30min		45,5±13,1	<0,01	48,9±11,3	NS
60min		44,8±13,6	<0,001	49±11,1	NS
120min		43,9±13,5	<0,001	48,5±10,6	NS
180min		43,7±13,2	<0,001	48±11,7	NS
24 horas		47,2±11	NS	49,3±11	NS

VR/CPT= relação entre o volume residual e a capacidade pulmonar total. Teste de ANOVA no grupo tiotrópio e placebo entre os diferentes momentos da avaliação x basal. P1 = grupo placebo, P2= grupo tiotrópio. NS= não significante.

**Tabela 12 - Médias da Resistência na situação basal e nos diferentes momentos após a administração de tiotrópio e placebo**

Parâmetro	Resistência (% previsto)				
	Tempos	Tiotrópio	P1	Placebo	P2
Baseline		250,2±64,5	-	258,9±89,2	-
30 min		203,6±66,7	<0,001	254,2±81,3	NS
60 min		182,3±45,5	<0,001	241,4±89,4	NS
120 min		180,2±50,8	<0,001	239,9±80,4	NS
180 min		177,0±61,4	<0,001	239,9±79,9	NS
24 horas		216,3±59,6	<0,001	260,9±86,9	NS

Teste de ANOVA no grupo placebo e tiotrópio entre os diferentes momentos da avaliação x basal. P1= grupo tiotrópio, P2= grupo placebo. NS= não significante.

**Tabela 13 - Médias da Condutância na situação basal e nos diferentes momentos após a administração de tiotrópio e placebo**

Parâmetro	Condutância (% previsto)			
	Tiotrópio	P1	Placebo	P2
<b>Baseline</b>	22,8±8,8	-	24,3±12,7	-
<b>30 min</b>	30,7±15,1	<0,001	24,9±15	NS
<b>60 min</b>	34,3±14,9	<0,001	26,1±14,7	NS
<b>120 min</b>	35,1±14,8	<0,001	26,2±14,2	NS
<b>180 min</b>	35,7±15,6	<0,001	26,4±15,2	NS
<b>24 horas</b>	28,0±12	<0,01	24,6±13,2	NS

Teste de ANOVA no grupo placebo e tiotrópio entre os diferentes momentos da avaliação x basal .P1= grupo tiotrópio, P2= grupo placebo. NS= não significante.

Uma posterior análise dos dados foi realizada considerando-se arbitrariamente pacientes respondedores ao tiotrópio os que apresentaram um aumento no VEF<sub>1</sub> ≥200 ml e/ou um decréscimo do VR de ≥200 ml aos 180 minutos. Vinte e dois pacientes foram classificados como respondedores no grupo tiotrópio (21 pelo critério do VR e 7 pelo critério do VEF<sub>1</sub>; somente um paciente foi considerado respondedor pelo critério do VEF<sub>1</sub> isoladamente) enquanto 10 pacientes foram classificados como respondedores no grupo placebo (10 pelo critério do VR e 2 pelo critério do VEF<sub>1</sub>). Na tabela 14 visualiza-se a mudança funcional em mililitros após 180 minutos, nos grupos tiotrópio e placebo, dos parâmetros CVF, VEF<sub>1</sub> e VR.

**Tabela 14 - Diferenças absolutas em mediana da CVF, VEF<sub>1</sub> e VR entre 180 minutos e tempo basal**

Parâmetro	Tiotropium (ml)	Placebo (ml)
CVF (variação)	150 (-70 a 400)	70 (-390 a 340)
VEF <sub>1</sub> (variação)	130 (-10 a 310)	40 (-200 a 360)
VR (variação)	-260 (-800 a 910)	-30(-910 a 110)

CVF= capacidade vital forçada, VEF<sub>1</sub>= volume expiratório forçado no primeiro segundo, VR=volume residual.

As diferenças entre os grupos tiotrópio versus placebo foram estatisticamente significantes conforme mostra a tabela 15.

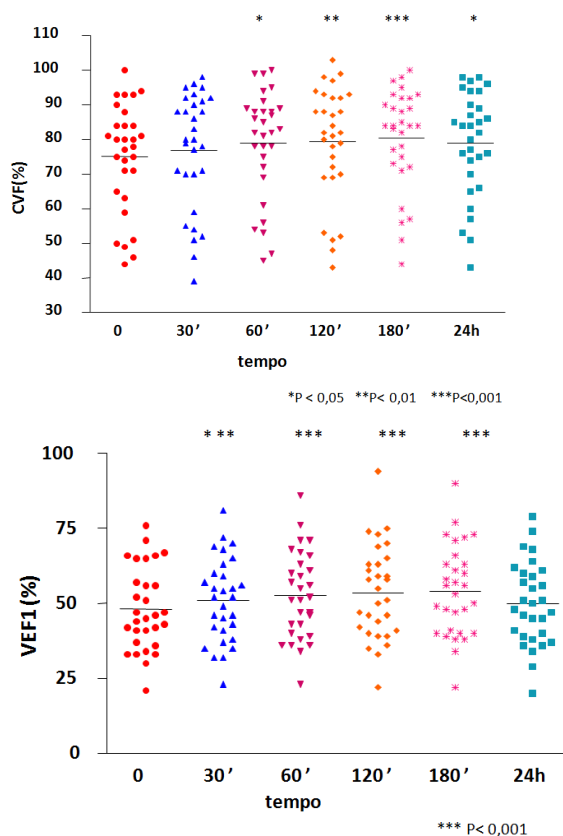
**Tabela 15 - Diferenças entre todos os momentos versus o basal no grupo tiotrópio versus placebo nos principais parâmetros funcionais (teste de Friedman)**

Parâmetro (PFP)	Teste de Friedman (Fr)	P
CVF	18,171	0,033
VEF <sub>1</sub>	48,184	< 0,0001
VR	45,037	< 0,0001
Resistência	104,10	< 0,0001
Condutância	136,83	< 0,0001

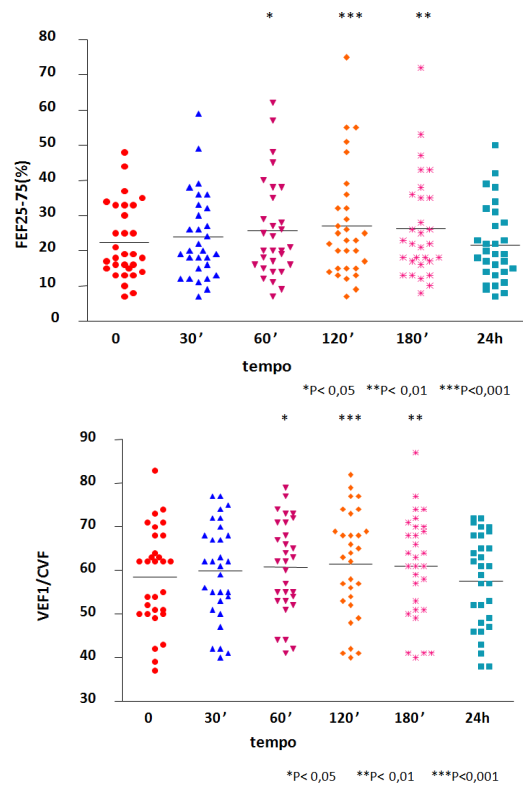
---

CVF= capacidade vital forçada, VEF<sub>1</sub>= volume expiratório forçado no primeiro segundo, VR=volume residual.

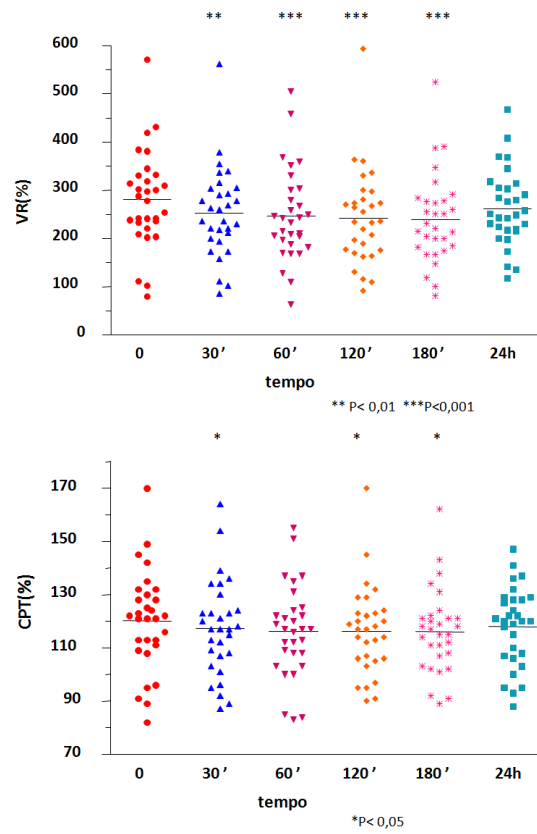
As figuras 1 a 4 mostram a evolução dos principais índices espirométricos e pletismográficos no grupo tiotrópio nos momentos basal, 30, 60 120, 180 minutos e 24 horas.



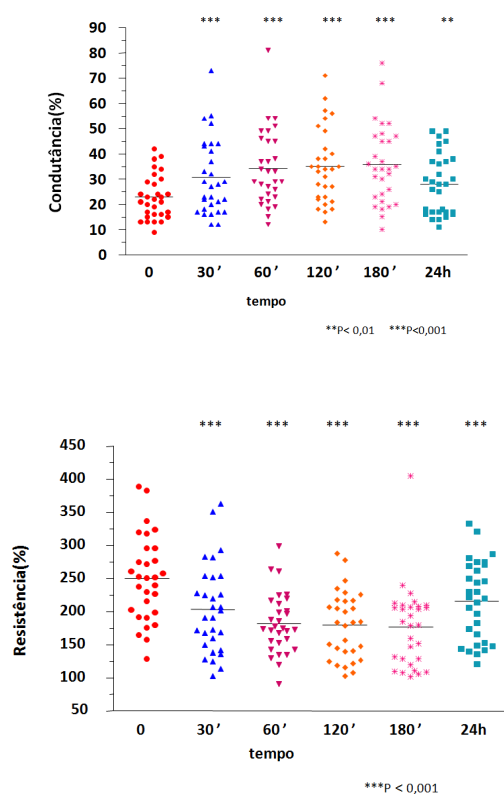
**Figura 1. Médias da CVF (capacidade vital forçada) e do VEF<sub>1</sub> (volume expiratório forçado no primeiro segundo) no momento basal e nos momentos sucessivos após a administração de 18 mcg de tiotrópio**



**Figura 2. Médias do FEF<sub>25-75</sub>% (fluxo expiratório forçado entre 25 e 75% da CVF) e da relação VEF<sub>1</sub>/CVF no momento basal e nos momentos sucessivos após a administração de 18 mcg de tiotropio**



**Figura 3. Médias do VR (volume residual) e da CPT (capacidade pulmonar total) no momento basal e nos momentos sucessivos após a administração de 18 mcg de tiotropio**



**Figura 4. Médias da condutância e resistência no momento basal e nos momentos sucessivos após a administração de 18 mcg de tiotropio**

As médias de frequência cardíaca nos períodos basal, 30 e 180 minutos foram respectivamente de  $88,3 \pm 8,5$  batimentos por minuto (bpm),  $88,4 \pm 8,8$  bpm,  $88,5 \pm 8,5$  bpm (grupo tiotrópio) e  $88,5 \pm 9,4$  bpm,  $88,6 \pm 9,8$  bpm,  $88,7 \pm 10,1$  bpm (grupo placebo).

As médias de pressão arterial sistólica nos tempos basal, 30 e 180 minutos foram respectivamente de  $103,3 \pm 10,9$  milímetros de mercúrio (mmHg),  $103,5 \pm 11$  mmHg,  $104,4 \pm 11,2$  mmHg (grupo tiotrópio) e  $104,2 \pm 9,5$  mmHg,  $104,4 \pm 9,8$  mmHg,  $104 \pm 10,1$  mmHg (grupo placebo).

As médias de pressão arterial diastólica nos tempos basal, 30 e 180 minutos foram respectivamente de  $67,5 \pm 8,1$  mmHg,  $67,1 \pm 7,6$  mmHg,  $67,9 \pm 8,3$  mmHg (grupo tiotrópio) e  $67,1 \pm 7,4$  mmHg,  $67,3 \pm 7,7$  mmHg,  $66,3 \pm 6,8$  mmHg (grupo placebo).

## 7 DISCUSSÃO

---



Este é o primeiro estudo em pacientes com BO pós-infecciosa com demonstração de resposta funcional aguda ao brometo de tiotrópio, notadamente nos parâmetros pletismográficos. A melhora da hiperinsuflação foi evidenciada pela queda do volume residual dos pacientes após 30 minutos da inalação do tiotrópio intensificando de 60 até 180 minutos (queda em mediana de 260 ml em relação ao basal). A diminuição da obstrução das vias aéreas destes pacientes foi demonstrada pelo decréscimo da resistência das vias aéreas já com 30 minutos do uso do tiotrópio com resultados notados até 24 horas após a inalação. A condutância melhorou de forma significativa, em paralelo à queda da resistência. Estes dados vem reforçar tanto a ação sustentada da droga, após dose única, quanto à importância do uso da pletismografia. Isto abre a possibilidade de perspectivas terapêuticas visando diminuir o grau de obstrução das vias aéreas e o aprisionamento aéreo, possivelmente melhorando a dispneia e a qualidade de vida destes pacientes.

Um grande comprometimento da função pulmonar basal destes pacientes foi observado, com obstrução importante das vias aéreas (média do VEF<sub>1</sub> ao redor de 48% do previsto), um expressivo aumento do VR (média do VR entre 270 – 280% do previsto) e da resistência das vias aéreas (média da Raw entre 250 – 260% do previsto). Mattiello e colaboradores descreveram a função pulmonar de 77 crianças e adolescentes brasileiros e chilenos com BO pós-infecciosa e também encontraram parâmetros de doença obstrutiva grave, com diminuição importante de VEF<sub>1</sub> (média de 46% do previsto) e FEF<sub>25-75%</sub> (média de 22% do previsto) e aumento de VR e resistência específica das vias aéreas (valores médios de 280% e 665% respectivamente)<sup>31</sup>. Neste estudo, a resposta a broncodilatador não foi avaliada<sup>31</sup>.

A BO vem sendo considerada uma doença obstrutiva fixa das pequenas vias aéreas, não responsiva ou pouco responsiva a

broncodilatadores, sugerindo um papel pouco relevante do tônus da musculatura lisa das vias aéreas. Porém os estudos sobre resposta a broncodilatadores que dispomos até o momento em BO apresentam dois pontos a serem questionados. O primeiro é o critério de reversibilidade pós broncodilatador usado, o qual se baseia em medidas do VEF<sub>1</sub>, e este é um parâmetro relativamente insensível quando se quer analisar mudanças no calibre das pequenas vias aéreas, local anatômico onde se situam as lesões histopatológicas da BO. A pletismografia possibilita uma avaliação mais sensível da gravidade e reversibilidade da obstrução e hiperinsuflação destes pacientes, como também demonstrado em estudo recente em adultos com BO pós transplante de medula óssea<sup>56</sup>. Em segundo lugar não há estudos com tiotrópio em BO pós-infecciosa, as publicações se baseiam principalmente no uso de broncodilatadores do tipo  $\beta_2$  adrenérgicos, desconsiderando a possibilidade da BO poder apresentar um tônus colinérgico aumentado da mesma maneira que ocorre na DPOC.

Apesar da ATS e ERS recomendarem a determinação de volumes pulmonares em pacientes com doença pulmonar obstrutiva, como a BO, uma vez que permite maior compreensão do dano respiratório subjacente<sup>54,55</sup>, poucos estudos descrevem a pletismografia destes pacientes<sup>25,30,31</sup>. Observa-se que com o aumento da gravidade da obstrução ao fluxo aéreo os parâmetros VR, TLC e VR/TLC tendem a aumentar, como resultado do decréscimo do recolhimento elástico pulmonar ou mudanças nos mecanismos dinâmicos.

Estudos em DPOC demonstraram que nos pacientes com hiperinsuflação pulmonar a inspiração profunda precedendo as manobras de expiração forçada pode causar broncoconstrição<sup>53</sup>. Assim, medidas do calibre das vias aéreas através de parâmetros que não sejam precedidas por inspiração profunda, como ocorre na pletismografia, parecem ser mais apropriadas para avaliar a broncodilatação em pacientes que já apresentem hiperinsuflação importante. Além do mais, até pequenos incrementos nos fluxos expiratórios dentro do volume corrente se associam a notáveis

reduções na hiperinsuflação pulmonar, a qual está fortemente relacionada no mecanismo da dispneia destes indivíduos<sup>53,54</sup>.

Outra vantagem da pletismografia em relação à espirometria na avaliação de resposta broncodilatadora é a análise da condutância das vias aéreas (sGaw) que parece ser um parâmetro mais sensível que o VEF<sub>1</sub>. Isso se deve à perda de sensibilidade do parâmetro VEF<sub>1</sub> atribuída à inspiração profunda envolvida na manobra da CVF<sup>57</sup>. Estudo inglês em pacientes asmáticos demonstrou aumento estatisticamente significativo na sGaw após a inalação de 100 a 400µg de salbutamol quando comparado a placebo e o incremento foi maior do que o encontrado no parâmetro VEF<sub>1</sub>, independente do dispositivo inalatório utilizado<sup>58</sup>. Smith e colaboradores encontraram falha na espirometria para detectar resposta broncodilatadora em 15% de pacientes asmáticos com suspeita de reversibilidade na obstrução das vias aéreas e com resposta clínica ao BD. Tais pacientes puderam ser identificados por mudanças na condutância ou nas medidas dos volumes pulmonares. Estes resultados sugerem que os pacientes envolvidos eram respondedores a broncodilatador nos parâmetros pletismográficos, mesmo sem mudanças na espirometria e, portanto poderiam se beneficiar do uso desta medicação<sup>59</sup>.

As publicações existentes avaliando resposta a broncodilatador em bronquiolite obliterante pós-infecciosa em crianças são escassas e com casuísticas muito pequenas e todas descrevem ausência ou pobre resposta a BD. Um estudo australiano sobre sequelas clínicas, radiológicas e de função pulmonar em 19 pacientes com BO pós-infecciosa mostrou em todos padrão de obstrução grave e ausência de resposta a salbutamol na espirometria<sup>2</sup>. Estudo argentino avaliou através de pletismografia de lactentes resposta a broncodilatador usando albuterol ou brometo de ipratrópio em 13 lactentes (média de idade 1,3±0,8 anos) com doença pulmonar obstrutiva crônica após infecção grave por adenovírus comparando com um grupo controle de 13 lactentes saudáveis. Os parâmetros funcionais foram determinados após 15, 30, 45 e 60 minutos da nebulização, com 24 horas de intervalo entre uma droga e outra. O padrão

encontrado foi de obstrução grave ( $V'_{maxFRC}$  – fluxo máximo na capacidade residual funcional foi de  $56 \pm 42$  ml/s e  $373 \pm 107$  ml/s no grupo BO e controles respectivamente) sem resposta a administração de brometo de ipratrópio ou albuterol<sup>7</sup>. Mais recentemente, estudo em 17 adultos com BO pós transplante de medula óssea observou resposta aguda a BD (albuterol + tiotrópio) numa parcela significativa dos pacientes, principalmente quando se levou em conta a melhora em parâmetros pletismográficos e não apenas espirométricos. Critérios padronizados de reversibilidade pós BD baseados no  $VEF_1$  e CVF foram encontrados em sete dos dezessete pacientes e dentre os dez pacientes sem resposta ao broncodilatador segundo o parâmetro  $VEF_1$  ou CVF, seis apresentaram incremento do  $V_{part}$  (fluxo expiratório forçado parcial) ou um decréscimo da hiperinsuflação pulmonar, com queda na capacidade residual funcional ou no volume residual. Este estudo sugere que o tônus da musculatura lisa das vias aéreas tem um papel significativo na BO pós transplante de medula óssea e que o prévio conhecimento de que a BO é uma doença obstrutiva irreversível provém da limitação da espirometria simples em detectar mudanças nas pequenas vias aéreas<sup>56</sup>. Nossos achados também corroboram essa conclusão.

Em adultos com DPOC parece haver um aumento do tônus colinérgico nas vias aéreas levando a um componente muscarínico reversível na obstrução das vias aéreas destes pacientes. Estudos com modelos animais de DPOC tem sugerido que o BT possa também ter um papel na inibição da inflamação pulmonar e no remodelamento das vias aéreas, propondo que a acetilcolina endógena participe da patogênese desta doença<sup>60</sup>. Apesar de na BO pós-infecciosa a fisiopatologia ser diferente da DPOC é possível que o tônus colinérgico nas vias aéreas também esteja aumentado. Nossos resultados de resposta broncodilatadora positiva a uma droga anticolinérgica na BO pós-infecciosa parece contrastar com a falta de evidência morfológica que a musculatura lisa das vias aéreas tenha um papel significante da patogênese da BO. O espessamento das vias aéreas causado pela presença de células inflamatórias, exsudatos e fibrose, como observado na BO, pode amplificar os efeitos das mudanças no tônus da

musculatura lisa das vias aéreas por dois mecanismos. O primeiro é que mudanças na resistência das vias aéreas são maiores quanto menor é o calibre da via aérea porque ela varia inversamente com a quarta potência do raio. O segundo mecanismo é que a quantidade de tecido na camada interna da parede da via aérea (fibrose intramural) está competindo com o lúmen quando a musculatura lisa das vias aéreas se encurta. Assim, até pequenas reduções no tônus do músculo liso podem resultar em consideráveis mudanças na resistência das vias aéreas ou nos fluxos expiratórios<sup>61</sup>.

Diversos estudos em adultos com DPOC demonstram melhora do VEF<sub>1</sub> e de parâmetros clínicos com o uso do BT a longo prazo e ele já é um tratamento bem estabelecido na DPOC<sup>38-51</sup>. Estudo randomizado, duplo-cego, placebo-controlado com duração de um ano, envolvendo 921 pacientes com DPOC estáveis (550 no grupo tiotrópio e 371 no grupo placebo), com VEF<sub>1</sub> basal médio de 38% em relação ao previsto (um litro) encontrou no grupo que recebeu 18 µg de tiotrópio diariamente uma melhora no VEF<sub>1</sub> de 12% em média em relação ao valor basal e resposta média após três horas do uso do tiotrópio de 22% em relação ao valor basal durante todo o período de seguimento de 12 meses. Os pacientes que receberam tiotrópio apresentaram menos dispneia, menos exacerbações e hospitalizações. Efeitos adversos foram iguais ao grupo placebo, com exceção para incidência de “boca seca”, encontrada em 16% do grupo tiotrópio e em apenas 2,7% do grupo placebo<sup>41</sup>. Outro estudo randomizado, duplo-cego, placebo-controlado envolvendo grande número de pacientes com DPOC (5.993, sendo 2.987 no grupo tiotrópio e 3.006 no grupo placebo; VEF<sub>1</sub> médio de 48% do previsto - 1,32 litros) com seguimento de quatro anos, encontrou no grupo tiotrópio uma melhora mantida no VEF<sub>1</sub> durante todo o seguimento quando comparado ao grupo placebo (variando de 87 a 103 ml). O questionário sobre qualidade de vida foi melhor no grupo tiotrópio durante os quatro anos de seguimento e durante todo o período houve redução no risco de exacerbações, hospitalizações e insuficiência respiratória no grupo tiotrópio, porém durante o período de quatro anos não houve redução significativa na taxa de declínio do VEF<sub>1</sub><sup>49</sup>. Desfechos

clínicos como redução nas exacerbações e nas hospitalizações, melhora da dispneia e da qualidade de vida também são importantes de serem avaliados em estudos de longo prazo com o BT em BO, além dos dados funcionais.

No presente estudo, o BT quando comparado ao placebo, provocou aumento estatisticamente significativo também nos parâmetros espirométricos dos pacientes com BO de forma variável após 30, 60, 120, 180 minutos e 24 horas da sua administração, diferente dos resultados de literatura obtidos após uso de brometo de ipratrópio e salbutamol em BO pós infecciosa<sup>2,6,7</sup>. Apesar da menor sensibilidade da espirometria em detectar resposta ao BD, observou-se melhora no grau de obstrução através do parâmetro  $VEF_1$  já após 30 minutos da administração do tiotrópio e o aumento deste índice espirométrico continuou progressivamente por até 3 horas quando comparado ao valor basal. A melhora funcional no grau de obstrução dos pacientes com BO após dose única de BT em relação ao placebo se confirma também através do incremento de outros parâmetros espirométricos: a relação  $VEF_1/CVF$  e o  $FEF_{25-75\%}$  entre 60 e 180 minutos da administração da droga. A CI destes pacientes foi o único parâmetro espirométrico que não se alterou e isto provavelmente tem relação com a pouca mudança na CPT. Quando da realização da pletismografia a avaliação espirométrica da CI perde a importância frente à maior sensibilidade da pletismografia. Estes dados ressaltam que é importante realizar a espirometria nestes pacientes, que é um exame bastante acessível, e, sempre que possível, deve-se complementar a avaliação funcional respiratória com a pletismografia.

A hiperinsuflação importante que estes pacientes com BO apresentaram é causa de grande morbidade e a diminuição deste aprisionamento aéreo deve causar impacto na qualidade de vida destas crianças e adolescentes. Durante a ventilação aumentada que ocorre no exercício, os volumes pulmonares do final de expiração aumentam agudamente acima de um valor de repouso previamente alto em pacientes que já apresentam importante limitação ao fluxo aéreo, como no caso da

DPOC e da BO, e para este fenômeno dá-se o nome de hiperinsuflação dinâmica. Para estes pacientes o exercício aumenta ainda mais o volume residual basal já elevado, diminui a capacidade inspiratória, a função da musculatura inspiratória se altera, há mudança na eficiência de eliminação do dióxido de carbono e piora na intensidade da dispneia<sup>47</sup>. Isto se reflete na baixa tolerância aos exercícios que estes pacientes apresentam. A diminuição da hiperinsuflação dinâmica dos indivíduos com DPOC tem sido um foco importante dos estudos do BT em adultos. O uso de dose única diária do tiotrópio na DPOC a longo prazo (meses e anos) aumentou a capacidade inspiratória, diminuiu de forma sustentada a hiperinsuflação pulmonar, melhorou a dispnéia destes pacientes e melhorou muito a performance aos exercícios<sup>47,62</sup>. Estudos semelhantes, com uso do tiotrópio a longo prazo, poderão ser propostos para as crianças com BO, já que o grave comprometimento da função pulmonar, resultando em intensa hiperinsuflação, causa muitas restrições às atividades físicas destas crianças e adolescentes e demonstrou-se nesta casuística diminuição importante do aprisionamento aéreo já após dose única de BT. Em estudos de longo prazo seria importante avaliar se na BO também ocorre diminuição da hiperinsuflação dinâmica, aumento da capacidade inspiratória e melhora da performance nos exercícios com o uso mantido do BT.

Uma limitação do presente estudo foi a falta de aplicação de um escore para graduação da dispneia dos pacientes estudados e então a melhora clínica, mesmo que a curto prazo, não foi monitorizada. Estudos com o uso de BT a longo prazo deverão incluir como desfechos a monitorização do grau de dispneia, testes de caminhada ou outros exercícios, para avaliar se há melhora não somente nos parâmetros funcionais mas também nos parâmetros clínicos destas crianças e adolescentes.

Em relação a efeitos adversos (sendo o principal *secura na boca*), os pacientes não foram questionados especificamente sobre a sua ocorrência. A monitorização de parâmetros cardiocirculatórios (frequência cardíaca e pressão arterial) por até três horas da administração do BT não mostrou

mudanças nos mesmos. Estudos multicêntricos e de longo prazo, com maiores casuísticas na faixa etária pediátrica, precisam ser realizados para avaliação da segurança da droga em crianças.



\_\_\_\_\_ 8 CONCLUSÕES

O brometo de tiotrópio, após dose única, comparado a placebo, levou a diminuição da obstrução brônquica e do aprisionamento aéreo, refletidos pela melhora nos diversos parâmetros espirométricos e pletismográficos.

Houve aumento significativo do  $VEF_1$  e do  $FEF_{25-75\%}$  por até 3 horas após a inalação de dose única do BT. Observou-se aumento significativo na condutância das vias aéreas e queda na resistência das vias aéreas em todos os momentos, inclusive na avaliação de 24 horas, parâmetros estes mais sensíveis na avaliação da obstrução brônquica. A diminuição do aprisionamento aéreo (volume residual) foi demonstrada de forma significativa por até 180 minutos após a administração da droga.

## \_\_\_\_\_ 9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esses resultados pioneiros mostram eficácia funcional do uso de dose única do brometo de tiotrópio em crianças e adolescentes com BO e sugerem que ele poderá ter um papel no tratamento dos pacientes com BO num futuro próximo. Estudos de longo prazo são necessários para se avaliar se esta significativa resposta funcional aguda observada se traduz em incremento funcional sustentado e em melhora das condições clínicas destes pacientes, além da segurança do seu uso na faixa etária pediátrica.

10 ANEXOS

---

## ANEXO A



### **APROVAÇÃO**

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 29.09.05, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **627/05**, intitulado: "Avaliação da resposta funcional aguda a anticolinérgico de longa duração em crianças com bronquiolite obliterante." apresentado pelo Departamento de **PEDIATRIA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10.10.1996, inciso IX. 2, letra "c")

Pesquisador(a) Responsável: **Dr. Joaquim Carlos Rodrigues**

Pesquisador (a) Executante: **Dra. Mariângela Faria Cardoso Teixeira**

CAPPesq, 29 de Setembro de 2005.

**PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO**  
Presidente da Comissão de Ética para Análise  
de Projetos de Pesquisa

## **ANEXO B**

### **CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAÇÃO NA PESQUISA:**

“Avaliação da resposta funcional a curto prazo ao tiotrópio em crianças e adolescentes com bronquiolite obliterante”

Esta pesquisa está sendo feita com os pacientes do ambulatório de pneumologia do Instituto da Criança que têm diagnóstico de bronquiolite obliterante com 6 anos de idade ou mais. Esta doença pulmonar crônica que o seu filho (a) é portador afeta os bronquíolos (as menores ramificações dos brônquios) e causa estreitamento das vias aéreas, provocando falta de ar e chiado contínuo. Os medicamentos utilizados até o momento têm sido pouco eficazes para controlar esta doença e diminuir a falta de ar.

O objetivo desta pesquisa é verificar se existe uma melhora da função pulmonar dos pacientes com a utilização de um novo medicamento, denominado brometo de tiotrópio, que já foi utilizado com sucesso e segurança em adultos com a finalidade de abrir os brônquios e melhorar a falta de ar.

#### **Procedimentos:**

O paciente será submetido a exame de prova de função pulmonar completa (pletismografia), que já faz parte da avaliação da função respiratória de pacientes com problemas respiratórios.

O trabalho constará de 4 visitas ao laboratório de prova de função pulmonar do Instituto da Criança.

Na visita 1 o teste será realizado em 5 etapas: sem o uso prévio da medicação, após 30 minutos, 60, 120 e 180 minutos do uso da medicação.

Essa “medicação” estará dentro de uma cápsula e será aspirada através de um pequeno aparelho. A cápsula irá conter o remédio em estudo (brometo de tiotrópio) ou não (placebo); nem o médico, nem o paciente saberá qual cápsula estará sendo usada até o final do trabalho, para que ao

final possamos descobrir se o remédio funciona “abrindo”os brônquios da criança e melhorando a “falta de ar”.

A visita 2 será feita 24 horas após a primeira (no dia seguinte) e a criança só irá realizar a prova de função pulmonar uma vez, sem a utilização de qualquer medicação.

Na semana seguinte o paciente deverá voltar ao laboratório de prova de função pulmonar para realizar os mesmos procedimentos descritos na visita 1, dessa vez com a cápsula contendo o oposto da usada na visita 1 (brometo de tiotrópio ou placebo). No dia seguinte será feito apenas mais um último exame sem o uso de qualquer medicação.

**Riscos:**

O exame, o placebo e o brometo de tiotrópio não oferecem risco algum.

**Benefícios:**

Se demonstrarmos que com a nova medicação ocorre abertura dos brônquios, melhora da respiração e conseqüentemente diminuição da “falta de ar”, essa medicação poderá vir a fazer parte do tratamento de pacientes com bronquiolite obliterante

**Confiabilidade:**

Todos os resultados serão informados a você.

Todas as informações obtidas nesse estudo serão considerada confidenciais e usadas somente para o propósito da pesquisa.

**Direito de recusar ou sair da pesquisa:**

Minha participação nessa pesquisa é voluntária. Eu sou livre para não participar ou, a qualquer momento, sair do estudo, sem que isso afete de qualquer modo meu seguimento no Instituto da Criança do Hospital das Clínicas.



**Consentimento:**

Eu concordo em participar desse estudo.

Eu li e recebi uamá cópia desse informe.

Assinatura do responsável: \_\_\_\_\_

Assinatura do médico da pesquisa: \_\_\_\_\_

Data:

## ANEXO C

### FICHA CLÍNICA

Nome: \_\_\_\_\_

RG: \_\_\_\_\_

Responsável: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Fone para contato: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Número da visita: 1  2  3  4

Número do paciente: \_\_\_\_\_

Critérios de inclusão: Sim  Não

Critérios de exclusão: Sim  Não

Diagnóstico: Clínico-tomográfico

Biópsia

Exame físico de chegada:

FR: \_\_\_\_\_ FC: \_\_\_\_\_ Ausculta pulmonar: \_\_\_\_\_

Saturação: \_\_\_\_\_ PA: \_\_\_\_\_

#### Medicamentos em uso:

1. corticóide inalatório:

qual: \_\_\_\_\_ dose: \_\_\_\_\_

2. broncodilatador de longa duração:

qual: \_\_\_\_\_ dose: \_\_\_\_\_

3. oxigênio noturno: Sim  Não  Pregresso

4. pulsoterapia: Sim  Não  Pgressa

5. data do diagnóstico \_\_\_\_\_

6. data do início da sibilância perene \_\_\_\_\_

A. Pletismografia basal Hora: \_\_\_:\_\_\_ (em anexo)

B. Admnistração da droga/placebo Hora: \_\_\_:\_\_\_

C. Pletismografia após 30 minutos da administração da droga

Hora:\_\_:\_\_ (em anexo) PA:\_\_\_\_\_ FC:\_\_\_\_\_

D. Pletismografia após 60 minutos da administração da droga

Hora:\_\_\_\_\_ (em anexo)

E. Pletismografia após 120 minutos da administração da droga

Hora:\_\_\_\_\_ (em anexo)

F. Pletismografia após 180 minutos da administração da droga

Hora:\_\_:\_\_(em anexo) PA:\_\_\_\_\_ FC:\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ 11 REFERÊNCIAS

1. Fischer GB, Sarria EE, Mattiello R, Mocelin HT, Castro-Rodriguez JA. Post Infectious Bronchiolitis obliterans in Children. *Paediatr Respir Reviews*.2010;11:233-9.
2. Chang AB, Masel JP, Masters B. Post-Infectious Bronchiolitis Obliterans: Clinical, Radiological and Pulmonary Function Sequeale. *Pediatr Radiol*.1998;28:23-9.
3. Kurland G, Michelson P. Bronchiolitis Obliterans in children. *Pediatr Pulmonol*. 2005;39:193-208.
4. Smith K L, FanLL. Insights into post-infectious bronchiolitis obliterans in children. *Thorax*. 2006;61:462-3.
5. Murtagh P, Kajon A. Chronic Pulmonary Sequelae of Adenovirus Infection. *Pediatr Pulmonol (Suppl)*.1997;16:150- 1.
6. Zhang L, Irion K, Kozakewich H, Reid L, Camargo JJ, Porto NS, Abreu e Silva F. Clinical Course of Postinfectious Bronchiolitis Obliterans. *Pediatr Pulmonol*.2000;29:341-50.
7. Teper AM, Kofman CD, Maffey AF, Vidaurreta SM. Lung Function In Infants With Chronic Pulmonary Disease After Severe Adenoviral Illness. *J Pediatr*.1999;134:730-3.
8. Champs NS, Lasmar LM, Camargos PA, Marguet C, Fischer GB, Mocelin HT. Post-infectious bronchiolitis obliterans in children. *J Pediatr (Rio J)*. 2011;87(3):187-98.
9. Kajon A, Mistchencko A, Videla C, Hortal M, Wadell G, Avendano LF. Molecular epidemiology of adenoviruses associated with acute lower

respiratory infections of children in the south cone of South America (1991-1994). *J Med Virol.*1996;48:151-6.

10. Teper AM, Marcos CY, Theiler G. Association between HLA and the incidence of bronchiolitis obliterans (BO) in Argentina. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;169:A382.
11. Walter JN, Fan LL, Bag R, Zhang H, Doan M, Mallory GB, Elidemir O. Serum KL-6 as a marker for bronchiolitis obliterans after lung transplantation. *Transplantation.* 2006; 82:709-711. Walter JN, Doan M, Zhang H, et al. Serum KL-6 as a marker for bronchiolitis obliterans after lung transplantation. *Chest.* 2005;128:211S .
12. Mistchenko AS, Koch ERR, KajonAE, et al. Lymphocyte subsets and cytokines in adenoviral infection in children. *Acta Paediatr.* 1998;87:933-9.
13. Castro-Rodriguez JA, Daszenies C, Garcia M, Meyer R, Gonzales R. Adenovirus pneumonia in infants and factors for developing bronchiolitis obliterans: a 5-year follow-up. *Pediatr Pulmonol.* 2006; 41:947-53.
14. Murtagh P, Giubergia V, Viale D, Bauer G, Pena HG. Lower Respiratory Infections by Adenovirus in Children: Clinical Features and Risk Factors for Bronchiolitis Obliterans and Mortality. *Pediatr Pulmonol.*2009;44:450-6.
15. Colom AJ, Teper AM, Vollmer WM, Diette GB. Risk factors for the development of bronchiolitis obliterans in children with bronchiolitis. *Thorax.* 2006;61:503-6.
16. Mattiello R, Sarria EE, Mallol J, Fischer GB, Mocelin H, Bello R, Flores JHM, Irion K, Jones Y. Post-Infectious Bronchiolitis Obliterans: Can CT Scan Findings at Early Age Anticipate Lung Function? *Pediatr Pulmonol.*2010;45:315-9.

17. Koh YY, Jung da E, Koh JY, Kim JY, Yoo Y, Kim CK. Chest. Bronchoalveolar cellularity and interleukin-8 levels in measles bronchiolitis obliterans. *Chest*. 2007;131:1454-60.
18. Mauad T, Dolhnikoff M. Histology of Childhood Bronchiolitis Obliterans. *Pediatr Pulmonol*. 2002;33:466-74.
19. Colom AJ, Teper AM. Clinical prediction rule to diagnose post-infectious bronchiolitis obliterans in children. *Pediatr Pulmonol*. 2009;44:1065-9.
20. Teper A, Fischer GB, Jones MH. Seqüelas Respiratórias de Doenças Virais: Do Diagnóstico Ao Tratamento. *J Pediatr*. 2002;78 (Suppl.2): S187-S194.
21. Dezateux C, Fletcher ME, Dundas I, Stocks J. Infant Respiratory Function After RSV-Proven Bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;155:1349-55.
22. Hardy KA, Schidlow DV, Zaeri N. Obliterative Bronchiolitis In Children. *Chest*. 1988;93:460-6.
23. Jones MH, Delfim ML, Kallfelz ML, Vitola L, Pitrez PMC, Stein R. Pulmonary Function In Infants With Post-Infectious Bronchiolitis Obliterans. In: *ATS International Conference 2002*; 2002; Atlanta; USA; 2002.p.A673.
24. Colom AJ, Maffey AF, Navarra F, Teper A. Pulmonary Function In Children With Post-Viral Chronic Pulmonary Disease (PCPD). In: *ATS International Conference 2002*; 2002; Atlanta; 2002.p.A 159.
25. Kim CK. Kim SW, Kim JS, Koh YY, Cohen AH, Deterding RR, et al. Bronchiolitis Obliterans in the 1990s In Korea And The United States. *Chest*. 2001;120:1101-6.

26. Bossa VL, Mello ED, Mocelin HT, Benedetti FJ, Fischer GB. Assesment of nutritional status in children and adolescents with post-infectious bronchiolitis obliterans. *J Pediatr (Rio J)*. 2008;84(4):323-30.
27. Aguerre V, Castanos C, Pena GH, Grenoville M, Murtagh P. Postinfectious Bronchiolitis Obliterans in Children: Clinical and Pulmonary Function Findings. *Pediatr Pulmonol*. 2010;45:1180-5.
28. Yoo Y, Yu J, Kim DK, Choi SH, Kim CK, Koh YY. Methacholine and adenosine 5'-monophosphate challenges in children with post-infectious bronchiolitis obliterans. *Eur Respir J*. 2006;27:36-41
29. Mattiello R, Sarria EE, Stein R, Fischer GB, Mocelin HT, Barreto SS, Lima JA, Brandenburg D. Functional capacity assessment in children and adolescents with post-infectious bronchiolitis obliterans. *J Pediatr (Rio J)*. 2008; 84:337-43.
30. Cazzato S, Poletti V, Bernardi F, Laroni L, Bertelli L, Colonna S, Zappulla F, Timoncini G, Cicognani A. Airway inflammation and lung function decline in childhood post-infectious bronchiolitis obliterans. *Pediatr Pulmonol*. 2008; 43:381-90.
31. Mattiello R, Mallol J, Fischer GB, Mocelin HT, Rueda B, Sarria EE. Pulmonary function in children and adolescents with postinfectious bronchiolitis obliterans. *J Bras Pneumol*. 2010;36:453-9.
32. Tomikawa, SO. Evolução de pacientes pediátricos com bronquiolite obliterante submetidos à pulsoterapia com metilprednisolona endovenosa [Dissertação de Mestrado]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2010.
33. Moonnumakal SP, Fan LL. Bronchiolitis obliterans in children. *Curr Opin Pediatr*. 2008;20:272-8.
34. Verleden GM, Vanaudenaerde BM, Dupont LJ, Van Raemdonck DE . Azitromycin reduces airway neutrophilia and IL8 in patients with



- bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174:566-70.
35. Fullmer JJ, Fan LL, Dishop MK, Rodgers C, Krance R. Successful treatment of bronchiolitis obliterans in a bone marrow transplant patient with tumor necrosis factor-alpha blockade. *Pediatrics.* 2005;116:767-70
  36. Brusasco V. Reducing cholinergic constriction: the major reversible mechanism in COPD. *Eur Respir Rev* 2006;15:99,32-36.
  37. Keating GM. Tiotropium Bromide Inhalation Powder. A Review of its Use in the Management of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Drugs.* 2012; 72:273-300.
  38. Barnes PJ. The Role of Anticholinergics In Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Med.* 2004;117 Suppl 12A: 24S-32S.
  39. Gross NJ. Tiotropium Bromide. *Chest.* 2004;126:1946-53.
  40. Donohue JF, Van Noord JA, Bateman ED, Langley SJ, Witck TJJr, Kesten S, Towse L. A 6-Month, Placebo-Controlled Study Comparing Lung Function And Health Status Changes In COPD Patients Treated With Tiotropium Or Salmeterol. *Chest.* 2002;122:47-55.
  41. Casaburi R, Mahler DA, Jones PW, Wanner A, San PG, Zuwallack RL, Menjoge SS, Serby CW, Witer TJr. A Long-Term Evaluation Of Once-Daily Inhaled Tiotropium In Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Eur Respir J.* 2002;19:217-24.
  42. Tashkin D, Kesten S. Long-Term Treatment Benefits With Tiotropium In COPD Patients With And Without Short-Term Bronchodilator Responses. *Chest.* 2003;123:1441-9.
  43. Anzueto A, Tashkin D, Menjoge S, Kesten S. One-Year Analysis of Longitudinal Changes In Spirometry In Patients With COPD Receiving Tiotropium. *Pulm Pharmacol Ther.* 2005;18:75-81.

44. Vincken W, Van Noord JA, Greefhorst APM et cols. Improved Health Outcomes In Patients With COPD During One Year's Treatment With Tiotropium. *Eur Respir J*.2002;19:209-16.
45. Casaburi R, Conoscenti CS. Lung Function Improvements With Once-Daily Tiotropium In Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Med*.2004;117 Suppl 12A:33S-40S.
46. Celli B, Zu Wallack R, Wang S, Kesten S. Improvement In Resting Inspiratory Capacity And Hyperinsufflation With Tiotropium In COPD Patients With Increased Static Lung Volumes. *Chest*.2003;124:1743-8.
47. O'Donnell DE, Fluge T, Gerken F, Hamilton A, Webb K, Aquilaniu B, Make B, Magnussen H. Effects of Tiotropium On Lung Hyperinflation, Dyspnea And Exercise Tolerance In COPD. *Eur Respir J*. 2004;23:832-40.
48. Casaburi R, Briggs DD, Dnohue JF, Serby CW, Menjoge SS, Witik TJJr. The Spirometric Efficacy Of Once-Daily Dosing With Tiotropium In Stable COPD. A 13- Week Multicenter Trial. *Chest*.2000;118:1294-302.
49. Tashkin DP, Celli B, Senn S. A Four-Year Trial of Tiotropium in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *N Engl J Med*. 2008;359:1543-54.
50. Rodrigo GJ, Castro-Rodriguez JA, Nannini LJ. Tiotropium and Risk for Fatal and Nonfatal Cardiovascular events in Patients with Chronic Obstrutive Pulmonary Disease: Systematic Review with meta-analysis. *Respir Med*. 2009;103:1421-9.
51. Kaplan A. Effect of tiotropium on quality of life in COPD: a systematic review. *Prim Care Respir J*. 2010;19:315-25.
52. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005;26:319-38.

53. Wanger J, Clausen JL, Coates A, Pedersen OF, Brusasco V, Burgos F, et al. Standardisation of the measurement of lung volumes. *Eur Respir J*. 2005;26:511-22.
54. Quanjer PH, Stocks J, Polgar G, Wise M, Karlberg J, Borsboom G. Compilation of reference values for lung function measurements in children. *Eur Respir J*. 1989;4: Suppl 184S-261S.
55. Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, et al. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J* 2005; 26: 948–68.
56. Barisione G, Bacigalupo A, Crimi E, Brusasco V. Acute Bronchodilator Responsiveness in Bronchiolitis Obliterans Syndrome Following Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Chest*. 2011;139:633-9.
57. Kaminsky DA. What does airway resistance tell us about lung function? *Respir. Care*. 2012;57:85-99.
58. Morice AH, Waterhouse JC, Peers EM, Parry-Billings M. Use of whole-body plethysmography to compare bronchodilator inhaler efficacy. *Respiration*. 1998;65:120-124.
59. Smith H, Irving C, Cherniac R. The utility of spirometry in the diagnosis of reversible airways obstruction. *Chest*. 1992;1577-1581.
60. Pera T, Zuidhof A, Valadas J, Smit M, Schoemaker RG, Gosens R, Maarsingh H, Zaagsma J, Meurs H. Tiotropium inhibits pulmonary inflammation and remodelling in a guinea pig model of COPD. *Eur Respir J*. 2011;38:789-96.
61. Pellegrino R, Brusasco V. Lung Hyperinflation and Flow Limitation in Chronic Airway Obstruction. *Eur Respir J*. 1997;10:543-9.
62. Troosters T, Weisman I, Dobbels F, Giardino N, Valluri SR. Assessing the Impact of Tiotropium on Lung Function and Physical Activity in

GOLD Stage II COPD Patients who are Naïve to Maintenance Respiratory Therapy: A Study Protocol. *Open Respir Med J.* 2011;5:1-9.