



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO E REABILITAÇÃO MULTIDISCIPLINAR DE PACIENTES PÓS-COVID-19: ASPECTOS FÍSICOS, NEUROFISIOLÓGICOS, IMUNOLÓGICOS, MICROBIOLÓGICOS, PSICOLÓGICOS E NUTRICIONAIS

Pesquisador: Julia Maria D'Andréa Greve

Área Temática: Equipamentos e dispositivos terapêuticos, novos ou não registrados no País;

Versão: 3

CAAE: 39115320.9.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.513.617

Apresentação do Projeto:

As informações contidas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram obtidas dos documentos contendo as Informações Básicas da Pesquisa ("PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1617814.pdf" postado na Plataforma Brasil em 14/01/2021) e do Projeto Detalhado intitulado "Projeto_Covid19.pdf", postado na Plataforma Brasil em 19/11/2020.

Introdução:

A COVID-19 é a doença causada pelo vírus SARS-CoV-2, que tem representado o maior desafio para a ciência dos últimos tempos. Uma força tarefa em todas as partes do mundo, em todos os campos de atuação, vem sendo realizada na tentativa de conhecer as várias nuances da COVID-19. A doença afeta principalmente os pulmões, causando pneumopatia intersticial e síndrome do desconforto respiratório agudo grave (SDRA) (Yu et al., 2020), mas também tem causado lesões em múltiplos órgãos e sistemas como o cardiovascular, neurológico e muscular (Li et al., 2020; Zheng et al., 2020). As complicações cardiovasculares mais comuns incluem arritmia (fibrilação atrial, taquiarritmia ventricular e fibrilação ventricular), miocardite, embolia pulmonar, insuficiência cardíaca e coagulação intravascular disseminada (CID) (Huang et al., 2020). O enfraquecimento muscular ocorre precoce e rapidamente em indivíduos com a doença, sobretudo na fase aguda, mas com repercussão no longo prazo após a alta hospitalar. Os processos inflamatórios locais e

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 4.513.617

sistêmicos em indivíduos gravemente enfermos prejudicam o equilíbrio entre a síntese e a quebra de proteínas musculares, levando à maior redução na massa muscular (Puthucherry et al., 2010). A disfunção muscular em pacientes críticos é categorizada em estágio inicial e tardio (Files et al., 2015). A fase inicial ocorre no início da doença, com acentuada degradação das proteínas musculares e atrofia muscular secundária à regulação positiva das vias da ubiquitina-proteassoma, autofagia e calpaína-caspase (Files et al., 2015). A fraqueza muscular da fase tardia refere-se ao comprometimento da função muscular devido ao desuso contínuo e à incapacidade de recuperar a homeostase muscular e os déficits neuromusculares subjacentes pré-existentes antes da admissão na unidade de terapia (Greve et al., 2020). Os músculos antigravitacionais, como extensores de pernas e musculatura do tronco, são afetados preferencialmente pela perda de carga mecânica em comparação com a musculatura dos membros superiores (Topp et al., 2002). O aumento de citocinas inflamatórias circulantes como o fator de necrose tumoral alfa (TNF-) e interleucina-1 beta (IL1-), comum em pacientes com COVID-19, também podem estimular o estresse oxidativo mitocondrial, aumentar os níveis de cálcio intracelular (Shang et al., 1997) e interferir na sinalização da insulina, levando à maior resistência anabólica (Rennie, 2009) e, contribuir para a diminuição da excitabilidade eletrofisiológica do músculo (Z'Graggen et al., 2011, 2006). Os pacientes internados podem perder diariamente até um quilo de massa e, portanto, uma imobilização prolongada pode resultar em grave depleção de massa muscular, força e resistência. A perda de massa corporal magra pode piorar a função imunológica já comprometida, causar fraqueza geral, induzir a formação de feridas e/ou úlceras por pressão e aumentar taxas de mortalidade. Os pacientes recebem alta hospitalar enfraquecidos, às vezes, quase incapazes de passar por programas de reabilitação e de realizar as atividades da vida diária, como higiene pessoal, alimentar-se e locomover-se (Mesquita and Gardenghi, 2016). A imobilidade aumenta a produção de citocinas pró-inflamatórias e espécies reativas de oxigênio potencializando a proteólise e perda muscular geral (Puthucherry et al., 2010; Winkelman, 2009). Até 40% da força muscular pode ser perdida na primeira semana de imobilidade (Topp et al., 2002), pela diminuição da massa muscular e da densidade mineral óssea, além do comprometimento de outros sistemas corporais, mais evidentes em indivíduos com doença crítica (Greve et al., 2020). As células endoteliais são responsáveis pelo sistema adaptável de suporte à vida, atuando em todas as regiões do corpo, remodelando a rede de vasos sanguíneos, favorecendo o crescimento e o reparo tecidual. A COVID-19, inicialmente, foi considerada uma doença do sistema respiratório, especificamente pulmonar, porém, atualmente, já se sabe que afeta de forma significativa o endotélio vascular, com acentuado efeito no suprimento sanguíneo tecidual sistêmico. Observa-se

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 4.513.617

a presença de um estado de hipercoagulabilidade intravascular decorrente do vírus (Panigada et al., 2020), sugerindo que a COVID-19 é uma doença dos vasos sanguíneos (Weitz et al., 2020). Notavelmente, 40% das mortes resultantes do COVID-19 foram consideradas relacionadas às doenças cardiovasculares, reforçando a hipótese de ser uma infecção vascular sistêmica, e não apenas respiratória (Varga et al., 2020). Nas autópsias humanas, foi verificada a presença de pequenos coágulos e células necróticas esparsas pelos capilares pulmonares, indicando que a inflamação havia distendido os vasos sanguíneos. O dano às células endoteliais também expõe a membrana abaixo delas, desencadeando uma coagulação descontrolada. As células endoteliais e imunológicas recrutadas sintetizam fatores de coagulação e plaquetas adicionais, que ajudam a formar coágulos. Esses coágulos degradam-se gerando níveis elevados do biomarcador D-dímero. Eventualmente, essa coagulação se espalha por todo o corpo e bloqueia o suprimento sanguíneo dos órgãos vitais. Foi descrito que pacientes autopsiados tinham coágulos sanguíneos ricos em plaquetas na microvasculatura pulmonar, hepática, renal e cardíaca, apesar de alguns terem recebido tratamento com anticoagulantes (Spyropoulos et al., 2020). Essas reações, em cadeia, culminam em uma fase final e destrutiva da inflamação sobre o organismo humano. Como a coagulação, a inflamação faz parte dos mecanismos de defesa essenciais, do qual participam células e citocinas (Matacic, 2020). As Diretrizes do Colégio Americano de Cardiologia recomendam a profilaxia continuada com heparina de baixo peso molecular ou um anticoagulante oral de ação direta por até 45 dias após a alta para a maioria dos pacientes curados da COVID-19 e até por mais tempo para aqueles com maior risco (Teuwen et al., 2020). Relevância: O presente projeto baseia-se na necessidade de gerar novos conhecimentos utilizando estratégias de avaliação, reconstrução musculoesquelética, cardiorrespiratória, metabólica e nutricional, necessárias para permitir a reabilitação e aumentar a qualidade de vida após alta hospitalar de pacientes curados da COVID-19. A abordagem sistemática das múltiplas incapacidades permitirá uma mudança do paradigma da qualidade de vida futura desses pacientes. 52. JUSTIFICATIVAS O processo de recuperação dos pacientes após COVID-19 não é similar entre todos e varia tanto nos sintomas como no tempo de persistência dos mesmos. Também, não se sabe, quais as repercussões da doença na capacidade funcional dos pacientes e de recuperação. A reabilitação será necessária para muitos pacientes pós-COVID-19, principalmente para pacientes graves, idosos, obesos e com comorbidades. Deve-se considerar também que os pacientes apresentam grande perda de condição física pelas restrições de movimento, isolamento social e incapacidade de acessar a assistência médica para doenças pré-existentes ou novas, mesmo não relacionadas ao COVID-19. O desconhecimento de todas as consequências da COVID-19 na funcionalidade,

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 4.513.617

independência e qualidade de vida e, também, das melhores estratégias de abordagem, tornam mandatórios estudos multidisciplinares com distintas linhas de ação para melhorar o entendimento e os resultados dos programas de reabilitação.

Hipótese:

Nossa hipótese é que após as intervenções os pacientes apresentem melhora em todos os parâmetros avaliados: ASPECTOS FÍSICOS, NEUROFISIOLÓGICOS, IMUNOLÓGICOS, MICROBIOLÓGICOS, PSICOLÓGICOS E NUTRICIONAIS.

Critério de Inclusão:

Serão incluídos no presente estudo todos os indivíduos de ambos os sexos, com idade igual ou superior a 18 anos, que aceitem participar da pesquisa e assinarem o TCLE e que não estiverem participando de outras pesquisas semelhantes. Todos os participantes deverão ter diagnóstico confirmado ou suspeita de COVID-19 com sintomas iniciados após 25/02/2020, segundo protocolo do Ministério da Saúde do Brasil (Ministério da Saúde, 2020) que tiveram alta hospitalar no máximo há três meses.

Critério de Exclusão:

Serão excluídos do presente estudo pacientes não consigam realizar as avaliações propostas, ou ter mais de três faltas consecutivas nos treinamentos.

Recrutamento

Os voluntários serão recrutados a partir dos registros do sistema HC (por e-mail e/ou telefone). Inicialmente, será realizado o levantamento dos prontuários de todo o histórico dos pacientes com COVID-19, e os considerados elegíveis e que cumprem os critérios de inclusão, receberão um telefonema do pesquisador a fim de explicar, de forma clara e detalhada, os objetivos da pesquisa e oferecer os programas de reabilitação.

Metodologia Proposta:

Trata-se um projeto tipo “guarda chuva” onde avaliaremos de maneira multidisciplinar 60 pacientes com suspeita ou com COVID-19 que receberam alta hospitalar do Instituto Central do HCFMUSP - SP, após abril de 2020. Os voluntários serão recrutados a partir dos registros do sistema HC e serão submetidos as seguintes avaliações no basal e após as intervenções físicas e de suplementação de diferentes programas de exercícios físicos: qualidade de vida, aspectos psicológicos e capacidade funcional; força muscular, flexibilidade, capacidade cardiorrespiratória e equilíbrio postural; por exame sanguíneo: Níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias (TNF-, IL-1, IL-6, IL-4, IL-10, IL-12, TGF-, IL-17, IL-23), adipocitocinas (adiponectina, leptina e inibidor do

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 4.513.617

ativador do plasminogênio 1), miostatina, cortisol e fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF); Expressão gênica de mRNA extraído de leucócitos de sangue periférico, associados ao processo inflamatório (TNF-, IL-1, IL-6, IL-4, IL-10, IL-12 TGF-, IL-17, IL- 23) ; Por biópsia muscular: Níveis de expressão gênica de mRNA de tecidos musculares envolvidos em sarcopenia (miostatina, fator de crescimento tipo insulina 1 (IGF-1), atrogin-1, MuRF-1, irisina) ; Por exame de fezes: Composição da microbiota intestinal dos pacientes (com suplementação proteica associada ou não a probióticos); análise ultrassonográfica da espessura muscular. Intervenções físicas: serão de 3 tipos em acordo com a condição física e/ou disponibilidade do paciente entrará em um protocolo de intervenção, são eles: Exercícios por teleatendimento ou exercícios resistidos associado a suplementação proteica com e sem suplemento probiótico; exercício com eletroestimulação com próprio peso corporal associado a suplementação proteica com e sem suplemento probiótico. Todos os treinamentos terão duração de três meses, duas sessões por semana por uma hora. CPK), D-dímero, proteína C-reativa, velocidade de hemossedimentação, troponina, ferritina, ureia e creatinina.

4.4 INSTRUMENTOS

4.4.1. AVALIAÇÃO DO PRONTUÁRIOS

Serão coletadas as seguintes informações: sintomas iniciais e evolutivos referentes a COVID-19, tempo de internação hospitalar (em unidade de terapia intensiva e enfermaria), comorbidades, exames laboratoriais iniciais e pré-alta hospitalar; exames de imagem (tomografia computadorizada de tórax), ecocardiograma; complicações sistêmicas e infecciosas, medicamentos utilizados, incluindo glicocorticóides.

4.4.2. CARACTERIZAÇÃO SOCIODEMOGRÁFICA (Anexo 2)

A caracterização sociodemográfica da amostra se dará por meio de questionário com informações sobre idade, escolaridade, profissão e estado civil, condições de saúde atuais. Também será investigado o acesso à internet, computadores, tablets ou celulares.

4.4.3. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE VIDA

Para a coleta da qualidade de vida será utilizado o WHOQOL bref composto por 26 questões avaliando quatro domínios: físico, psicológico, relações sociais e meio ambiente. Quanto mais elevada a pontuação obtida na aplicação do questionário, melhor é a avaliação da qualidade de vida (Fleck, 2000) (Anexo 3). Será utilizado também Health Assessment Questionnaire (HAQ) (Bruce and Fries, 2003) para avaliar a qualidade funcional e de qualidade de vida (Anexo 4).

4.4.4 AVALIAÇÃO DO NÍVEL DE INDEPENDÊNCIA (Anexos 5 e 6)

a) Escala de Lawton e Brody é um instrumento que avalia o nível de independência através de 8

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 4.513.617

atividades instrumentais de vida diária (AIVD): usar o telefone, se locomover, fazer compras, preparar as refeições, arrumar a casa, trabalhos domésticos, preparar medicação e cuidar das finanças. Os dois instrumentos avaliam funcionalidade, partindo do pressuposto que funcionalidade é a possibilidade de manter autonomia e independência, possibilitando a realização das atividades de vida diária (básicas e instrumentais) ((Lawton and Brody, 1969).

b) Índice de Katz é um instrumento que avalia o nível de independência através de 6 atividades básicas de vida diária (ABVD): alimentar-se, tomar banho, vestir-se, controle fecal e vesical, usar o banheiro e movimentar-se da cama para a cadeira (Lino et al., 2008).

4.4.5. AVALIAÇÃO PSICOLÓGICA E COGNITIVA E OUTROS ASPECTOS

a) Montreal Cognitive Assessment (MOCA) é um instrumento de rastreio cognitivo, sendo possível avaliar funções específicas, como: visuoespacial, executiva, nomeação, memória, atenção, linguagem, abstração e orientação, sua pontuação varia de 0 a 30 pontos. O desenho do relógio é um instrumento de avaliação cognitiva de fácil e rápida aplicação, pode ser empregado na investigação da presença de comprometimento cognitivo de algumas habilidades cognitivas, tais como funções visuoconstrutivas, funções visuoespaciais, representação simbólica e grafomotora, linguagem auditiva, memória semântica e funções executivas, sua pontuação varia de 0 a 4 pontos (Sarmiento, 2009) (anexo 7).

b) Teste de Fluência Verbal (FAS) avalia processos cognitivos complexos e sua pontuação refere-se à quantidade de palavras que o participante consegue evocar (Brucki et al., 1997) (anexo 8).

c) Teste de Trilhas avalia aspectos de atenção sustentada, atenção alternada, flexibilidade mental, velocidade de processamento visual e função motora (Montiel and Seabra, 2012) (Anexo 8).

d) Escala de Felicidade Subjetiva (SHS) avalia o grau de felicidade e sua pontuação varia de 0 a 7 pontos (Lyubomirsky and Lepper, 1999) (anexo 9).

e) Teste de Stroop- a hipótese subjacente é a de que os participantes ao expressarem a palavra e a dor de apresentação, mostram maior efeito de interferência do que quando expressam somente a cor com que a palavra está escrita. O Teste de Stroop tem passado por várias adaptações, mas esta expressão magnifica as respostas tradicionalmente manifestadas, quando não há interferência nos processos atencionais. O Teste de Stroop é uma tarefa em que são apresentados estímulos visuais e onde são computados os erros e acertos (Duncan, 2006).

f) Escala de Estresse Percebido é um instrumento auto reportado elaborado para avaliar o grau em que determinadas situações ocorridas nos últimos 30 dias são consideradas estressoras. É constituído de dez itens relacionados a situações estressoras (Luft et al., 2007) (Anexo 10).

g) Escala de Avaliação de Ansiedade de Hamilton consiste de 14 itens e quanto maior a pontuação,

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 4.513.617

maior é o grau de ansiedade (Hamilton, 1959) (Anexo 11).

h) Escala de Avaliação de Depressão de Hamilton consiste de 21 itens e quanto maior a pontuação, maior é o grau de depressão (Hamilton, 1960) (Anexo 12).

i) Escala Visual Analógica de Fadiga, The Fatigue Severity Scale (FSS) (Anexo 13) e Escala Modificada do Impacto da Fadiga (MIFS) (Anexo 14) (Hewlett et al., 2011).

j) Questionário de dor: McGill Pain Questionnaire, em língua portuguesa (Pimenta and Teixeira, 1996) (Anexo 15).

4.4.6 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL

Todos os participantes receberão orientação nutricional no intuito de acompanhar o padronizar a ingestão diária de proteína ao longo do período do protocolo experimental.

A orientação nutricional ocorrerá após a realização do primeiro recordatório alimentar de 24 horas (R24h) (Anexo 16) e do cálculo do gasto energético total diário. O R24h será (Anexo 16) realizado uma semana antes do início do estudo e

mais três cada uma das etapas de intervenção, conforme segue: 1o R24h: 1 semana antes do início do protocolo experimental

2o R24h: na 4a semana do protocolo experimental

3o R24h: na 8a semana do protocolo experimental

4o R24h: na 12a semana do protocolo experimental

Os pacientes serão orientados a ingerir 1,0 a 1,2 g de proteína/kg de peso por dia, após o primeiro recordatório alimentar de 24 horas (R24h) e do cálculo do gasto energético total diário. Todos os cálculos nutricionais e do gasto energético total diário serão realizadas por meio do programa Nutrition Data System for Research®.

A correlação positiva entre a maior ingestão de proteínas e aumento da densidade óssea, redução da perda de massa óssea e a manutenção da massa muscular é referida na literatura. As principais recomendações de ingestão de proteínas são (Houston et al., 2008; Moore, 2019; Rapuri et al., 2003):

- para manter ou obter de massa muscular: 1,0 a 1,2 g de proteínas/kg de peso/dia
- nas doenças agudas ou crônicas: 1,2 a 1,5 g de proteínas/kg de peso/dia
- nos treinos de endurance ou de força: 1,2 g de proteínas/kg de peso/dia

Em todas as consultas com nutricionistas, nas quais serão realizados o R24h, reafirmadas as orientações nutricionais para que se mantenha a ingestão

serão

adequada de de proteínas e energia.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 4.513.617

A avaliação da adesão à orientação nutricional será feita, pelo questionário de frequência alimentar (QFA) (Anexo 17), nos seguintes momentos:

- 1o QFA: uma semana antes do início do protocolo experimental
- 2o QFA: na 12a semana do protocolo experimental.

4.4.7. AVALIAÇÃO METABÓLICA E ENZIMÁTICA

Os participantes comparecerão ao LEM - HCFMUSP - SP, em jejum noturno de no 12 horas. Serão coletados 20 mL de sangue da veia basilica mediana ou cefálica, e imediatamente o material será centrifugado e armazenado à - 20oC para posterior análise de concentrações de colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), triglicérides, glicose, aspartato aminotransferase (TGO), alanina aminotransferase (TGP), desidrogenase láctica, aldolase, creatinofosfoquinase (CPK), D-dímero, proteína C-reativa, velocidade de hemossedimentação, troponina, ferritina, ureia e creatinina. Todas as amostras serão coletadas no tempo basal e após intervenção, serão processadas e analisadas no Laboratório Multiusuário de Pesquisa Básica (LamPeB) da Universidade São Judas Tadeu.

4.4.8. QUANTIFICAÇÃO DE MEDIADORES IMUNO-INFLAMATÓRIOS SÉRICOS

Amostras de soro coletadas antes e no término da intervenção fisioterápica em todos os participantes serão analisadas

As citocinas que atuam como reguladores da resposta imuno-inflamatória serão quantificadas no soro e assim podem auxiliar a esclarecer os mecanismos envolvidos na COVID-19, bem como na recuperação do paciente. Assim serão avaliados os níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias (TNF-, IL-1, IL-6, IFN-, IL-12, IL-4, IL-10, IL-12 TGF-, IL-17, IL-23), de adipocitocinas (adiponectina, leptina e inibidor do ativador do plasminogênio 1) e de fatores associado a sarcopenia (miostatina), cortisol e neurotróficos (BDNF) por ELISA.

Resumidamente, as amostras serão colocadas em placas previamente sensibilizadas com anticorpos específicos para cada uma das citocinas e incubadas. Após lavagem inicial, o anticorpo biotilado será adicionado e permanecerá incubado por tempo determinado. Em seguida será realizada a lavagem e a incubação com o conjugado de estreptavidina-fosfatase durante 60 minutos, seguida por nova lavagem e incubação com substrato. Após período de 30 minutos, 50 L de ácido sulfúrico será adicionado aos poços para paralisar a reação. Os valores de absorbância para cada amostra serão obtidos após leitura em espectrofotômetro a 450 nm. Uma curva padrão será elaborada a partir da absorbância obtida para os padrões fornecido pelo fabricante para obtenção de uma equação, que permitirá calcular a quantidade de cada mediador.

4.4.9. AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 4.513.617

As amostras de fezes antes e após a intervenção serão coletadas pelo próprio participante e serão congeladas em coletor universal em freezer -80oC até sua manipulação. O DNA será extraído e será realizado o sequenciamento paired-end da região V3-V4 do gene 16SrRNA com 50 mil leituras de cada amostra de acordo com protocolo da empresa de biotecnologia Neopropecta - Microbiome Technologies.

4.4.10. AVALIAÇÃO DA ESPESSURA MUSCULAR

A espessura muscular (EM) do bíceps braquial, tríceps braquial e vasto lateral será avaliada por meio de uma unidade de ultrassonografia (Mindray; DP10; Shenzhen, China) com frequência de onda de 7,5 a 10 MHz. A avaliação da EM será realizada seguindo procedimentos prévios de (Brigatto et al., 2019). A sonda de ultrassom será aplicada perpendicularmente à pele para medição. Um gel solúvel em água será utilizado no transdutor para auxiliar o acoplamento acústico e remover a necessidade de excesso de pressão de contato na pele. A EM será definida como a distância entre a interface do tecido muscular e a gordura subcutânea até os ossos.

A imagem será realizada no lado direito do corpo dos participantes que serão orientados a jejuar por 3 horas antes do teste, e as avaliações da MT serão realizadas na mesma hora do dia no pré e pós-teste. Para o bíceps e tríceps, as avaliações da EM serão realizadas a 60% distais entre o epicôndilo lateral do úmero e o processo acrómio da escápula. Para o vasto lateral, serão realizadas avaliações a 50% distais entre o côndilo lateral do fêmur e o trocânter maior. O ICC teste-reteste de nosso laboratório para bíceps, tríceps e vasto lateral são 0,996, 0,998 e 0,999, respectivamente, e o erro padrão da média é de 0,29, 0,42 e 0,41 mm, respectivamente.

4.4.11. TECIDOS MUSCULARES

Os participantes serão submetidos à biópsia muscular por agulha de sucção (agulha de Bergström: ANVISA - Registro 10287070068) da porção média do músculo vasto lateral da coxa, no HCFMUSP - SP. Esse procedimento será realizado pela manhã após 8 horas de jejum e permitirá obter uma amostra de aproximadamente 80 - 120 mg da porção média do músculo vasto lateral da coxa.

Os participantes serão orientados a deitar-se em uma maca, mantendo os joelhos estendidos e a musculatura relaxada. A seguir, será realizada antissepsia da coxa direita e será administrada 2 mL de xilocaína a 2%, sem vasoconstrictor, para anestesia local. A aplicação do anestésico será feita com agulhas hipodérmicas descartáveis, de forma subcutânea. Após anestesia local, será realizada uma incisão cutânea para a introdução da agulha de biópsia no tecido muscular. Para tanto, será utilizada lâmina de bisturi no 11, esterilizada, individual e descartável para realizar a incisão de aproximadamente 0,5 cm de extensão. A incisão cortará a pele e a fáscia muscular. A agulha de biópsia, esterilizada e de uso individual, será então inserida através do orifício gerado pela incisão. Após uma sucção, aplicada na extremidade superior externa da agulha por uma

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 4.513.617

seringa de 60 mL, uma pequena amostra de músculo será succionada para o interior da agulha e cortada pela lâmina interna da agulha.

Após a retirada da agulha, será aplicada pressão sobre o ponto de incisão para prevenir sangramento. A incisão será fechada com bandagem esterilizada e coberta com uma pequena atadura para prevenir o seu desprendimento. Os participantes serão instruídos a manter a bandagem limpa e seca pelo período de 24 horas. O procedimento será realizado no período basal e após a finalização da intervenção.

a) Análise histológica do músculo esquelético

Cerca de 20 mg de amostra de músculo esquelético (tempo basal e após a finalização da intervenção) será cuidadosamente dissecada, livre de sangue e tecido gorduroso visível, fixado em uma massa de montagem à base de Tissue-Tek e rapidamente congelada em nitrogênio líquido.

Técnicas padronizadas de rotina serão empregadas no manuseio de biópsias musculares. Serão realizados cortes histológicos transversais (espessura de 4 µm) que serão corados com hematoxilina-eosina (HE), citocromo C oxidase (COX), NADH- tetrazólio-redutase, succinato desidrogenase (SDH), adenosina trifosfatase (pH 4,3 e 9,4) e fosfatase ácida.

A captura de imagens será realizada em computador acoplado a um microscópio e conectado a um sistema fotográfico (magnificação de 200x). A quantificação da área de secção transversa dos diferentes tipos de fibras musculares será realizada por meio do programa Image-Pro Plus. Os resultados serão expressos em µm². As análises serão realizadas no Laboratório de Miopatias Inflamatórias da Disciplina de Reumatologia da FMUSP - SP.

4.4.12. ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA

A expressão gênica do mRNA extraído de leucócitos sanguíneos e codificante para (TNF-, IL-1, IL-6, IL-10, TGF-β) e do mRNA isolado do tecido muscular de fatores associados a sarcopenia: miostatina, IGF-1, atrogin-1, MuRF-1, irisin.

a) Extração do RNA leucócitos e tecido muscular. Sangue total será coletado e os PBMC separados e, tanto os leucócitos isolados como o tecido muscular biopsiado serão acondicionados em solução de RNeasy® (Ambion Inc.) para evitar a degradação do RNA. As amostras permanecerão incubadas a 4°C durante por 24 horas e em seguida serão armazenadas a -20°C até o momento da extração. A extração será realizada utilizando reagente TRIzol (Gibco BRL, Life Technologies, Rockville, MD, USA) de acordo com as recomendações do fabricante. As amostras de RNA serão subsequentemente ressuspensas em aproximadamente 30 µL de água tratada com dietilpirocarbonato (DEPC) e armazenadas a -70°C. A qualidade do RNA total será avaliada por meio de eletroforese em gel de agarose 1%.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 4.513.617

b) Tratamento com DNase e transcrição reversa. As amostras de RNA total serão tratadas para a eliminação de qualquer resíduo de DNA com DNase (DNA-free™, Ambion Inc.), conforme recomendação do fabricante. O RNA total será quantificado por meio de um espectrofotômetro e cerca de 2 µg da amostra de RNA total livre de DNA será utilizado para a síntese do cDNA. Para isto será utilizado o kit First-strand cDNA synthesis (Roche Diagnostic Co.), seguindo as recomendações do fabricante. Inicialmente, as amostras serão incubadas por 10 minutos a 25°C e, em seguida, por 60 minutos a 42°C. Concluída a segunda etapa de incubação, as amostras serão incubadas por 5 minutos a 95°C e então por 5 minutos a 40°C para resfriamento. Os reagentes utilizados e suas respectivas concentrações serão: solução tampão (1x), MgCl₂ (5mM), desoxirribonucleotídeos (1mM), primers randomizados (3,2µg), inibidor de RNase (50U), e transcriptase reversa AMV (20U).

c) Análise da expressão gênica por Real-time PCR (RT-PCR)

c1) Desenho dos Primers. Os primers para GAPDH (gene de referência) e para TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10, TGF- β e para miostatina, IGF-1, atrogin-1, MuRF-1 e irisina serão desenhados com o auxílio de um programa desenvolvido especificamente para elaboração de primers para o LightCycler (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Todos os primers serão verificados quanto a sua especificidade por meio da verificação da curva de Melting utilizando-se controles positivos e negativos.

c2) Reações de RT-PCR. As reações de RT-PCR serão realizadas com o sistema LightCycler (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany), utilizando o kit FastStart DNA Master SYBR Green I (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). O perfil das reações será determinado seguindo o protocolo sugerido pelo fabricante do equipamento. Para cada uma das análises, água será utilizada como controle negativo, e o produto das reações será quantificado utilizando-se o programa do próprio fabricante (LightCycler Relative Quantification Software - Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Os níveis de expressão do gene GAPDH será utilizado como referência para a normalização dos valores.

4.4.13. ANÁLISE DE EXPRESSÃO PROTEICA

A expressão das proteínas envolvidas nas vias Akt/mTOR (mammalian Target of Rapamycin) e regulação das AMPK (adenosine mono phosphate/AMP-activated protein kinase); regulação da miostatina; ubiquitina proteassoma ATP-dependente (UPS); FoxO (Forkhead box O); TNF; NFkB. Será avaliada em aproximadamente 30 mg de tecido muscular esquelético por meio da técnica de Western Blotting. Resumidamente, as amostras do tecido muscular biopsiado serão homogeneizadas em tampão de lise celular e coquetel inibidor de proteases. Em seguida, às

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 4.513.617

amostras serão quantificadas com reativo de Bradford e 30g das proteínas total será aplicado em gel de poliacrilamida 10% para separação do conteúdo protéico por eletroforese (SDS-PAGE). As proteínas serão transferidas para membrana de nitrocelulose, cuja eficácia será comprovada por solução Ponceau (0.5%) e subsequentemente, a membrana será bloqueada, lavada e incubada com anticorpo primário, secundário e revelação por coloração (método imunoenzimático).

4.4.14. AVALIAÇÃO FÍSICA

a) Avaliação cardiorespiratória

a1) Calorimetria indireta. Avalia a taxa metabólica de repouso (TMR). A TMR será mensurada pelos gases expirados, o consumo de oxigênio (VO_2) e pela produção de dióxido de carbono (VCO_2) utilizando analisador metabólico (CPX/Ultima, MedGraphics, St. Paul, Minnesota, USA) utilizando a equação de Weir (1949) para cálculo do gasto energético. O exame estima a quantidade de calorias diárias que o organismo gasta no estado de repouso, sendo determinado pela relação do VCO_2 e o VO_2 , ou seja, a razão de troca respiratória (RER). O exame é indolor e realizado com o participante sentado por 30 minutos respirando o mais calmamente possível através de um bocal de borracha e um prendedor de nariz. As condições de repouso para obter resultados precisos são. 1) não frequentar saunas 12h antes; 2) não consumir bebidas alcoólicas no dia do exame, elas têm consumo calórico alto; 3) evitar consumir bebidas à base de cafeína (café, chocolate, chá, bebidas energéticas, refrigerantes, dentre outros) até 4 horas antes, medicamentos que alteram o metabolismo no dia do exame; não fumar até 1 hora antes do exame; 4) realizar refeições ou ingerir líquidos até 4 horas antes; Não consumir suplementos nutricionais estimulantes por pelo menos 4 horas antes; 5) não fazer exercício físico cardiovascular ou com peso (musculação) no dia do exame por pelo menos 4 horas antes do procedimento e 6) vestimentas normais.

a2) Teste de caminhada de 6 minutos (TC6). Para a realização do TC6min na esteira, o participante deverá caminhar em uma esteira (h/p/cosmos®, Pulsar, Germany) sem aumento da inclinação. O teste deverá ser iniciado com uma velocidade de 2 km/h (33,33 m/min ou 0,55 m/s). A cada 30s, o participante deverá ser questionado, perguntado quanto à possibilidade de se aumentar, manter ou diminuir a velocidade sendo a permissão dada pelo participante. Portanto, a velocidade será aumentada em 1 km/h (16,66 m/min ou 0,28 m/s), não se permitindo que a velocidade máxima ultrapasse 8 km/h (133 m/min ou 2,22 m/s). O participante poderá manter ou diminuir em 0,5 km/h (8,3 m/min ou 0,138 m/s) a velocidade do teste. Previamente ao início, durante e após o

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 4.513.617

final do teste, serão verificados os valores de frequência cardíaca (FC). A pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) será medida antes e no final do teste pelo método auscultatório. Ao longo do teste, a monitoração da FC será realizada por eletrocardiograma computadorizado de 12 derivações (HeartWare®, 6,4, Belo Horizonte, MG, - Brasil). As variáveis metabólicas e ventilatórias (ventilação pulmonar, frequência respiratória, volume corrente, consumo de oxigênio, quociente respiratório, equivalente ventilatórios de O₂ e CO₂, as pressões expiradas finais em nível alveolar de O₂ e CO₂ e o espaço morto funcional) serão registrados respiração-a-respiração por meio de um analisador metabólico (CPX/Ultima, MedGraphics®, Paul, MN, USA). Ao término do teste, a distância percorrida será.

a3) Protocolo de espirometria. A espirometria será realizada por meio do aparelho (CPX/Ultima, MedGraphics, |St. Paul, USA). Para o teste da capacidade vital fForçada (CVF) os participantes farão uso do clipe nasal e serão orientados a realizarem uma inspiração oral máxima, seguida de uma expiração rápida e completa no bocal do aparelho sustentada por, pelo menos, seis segundos (Pascotini et al., 2013; Pereira and Neder, 2002). Durante a manobra, o estímulo verbal será vigoroso para que seja possível obter um esforço “explosivo” (“Standardization of Spirometry, 1994 Update. American Thoracic Society.”, 1995). Este teste será repetido no mínimo três vezes ou até que se obtenha três manobras aceitáveis e reprodutíveis, não excedendo mais do que oito tentativas (Pereira and Neder, 2002). O volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1) será derivado da manobra de CVF (Pereira e Neder, 2002). As pressões inspiratórias máximas (PI_{máx}) e as pressões expiratórias máximas (PE_{máx}) serão medidas através do pneumotacógrafo (CPX/Ultima, Saint Paul, MN, USA). Para a determinação da PI_{máx}, os participantes serão orientados a realizar um esforço inspiratório máximo a partir do volume residual (VR) e, para a determinação da PE_{máx}, os participantes serão orientados a realizar um esforço expiratório máximo a partir da capacidade pulmonar total (CPT) (Rocha and Araújo, 2010). Os esforços respiratórios serão efetuados através de um bocal de borracha rígido com orifício de 2 mm de diâmetro e uso de clipe nasal. Serão realizadas, cinco manobras máximas, mantidas por, no mínimo, um segundo, com intervalo de um minuto de descanso e, posteriormente, selecionadas três manobras aceitáveis e reprodutíveis (diferença de 10% ou menos entre os esforços), sendo registrado o valor mais alto (Costa et al., 2010) e comparado ao valor predito pela equação de (Neder et al., 1999), de acordo com idade e sexo.

b) Avaliação da força muscular

b1) Avaliação da força de preensão palmar (handgrip). Para o teste de força de preensão palmar será utilizado um dinamômetro manual Jamar®. Para o procedimento o participante permanecerá

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Continuação do Parecer: 4.513.617

sentado em uma cadeira sem apoio para os braços, com os pés apoiados no chão e os quadris e joelhos flexionados a 90º; os ombros posicionados aduzidos e em posição neutra para rotação, cotovelo em 90º de flexão, com antebraço e punho em posição neutra; as mãos serão alternadas a cada manobra respeitando um minuto de descanso entre os testes e a primeira manobra será realizada com o membro dominante. As duas primeiras manobras são realizadas para compreender o teste e em seguida outras três com cada mão. O desfecho desta análise se dá em kg/força pela média das três tentativas de cada membro avaliado (Alonso et al., 2018).

b2) Teste de subir escada. O teste de escada será marcado o tempo que as voluntárias levam para subir um lance de escada de 15 degraus (15 cm de altura e 30 cm profundidade) o mais rápido quanto possível.

b3) Prancha ventral. O teste de prancha ventral (Hodges et al., 2000) ou “core stability test”, avalia a estabilidade da coluna vertebral na posição prancha ventral em relação aos músculos do core, dentre eles o transverso abdominal. O participante deverá posicionar-se com os antebraços e a ponta dos metatarsos no solo, em decúbito ventral elevando o tronco do solo. Assim que a posição Inicial for assumida, um cronômetro será acionado para verificar por quanto tempo o participante consegue permanecer nesta posição com estabilidade do core. O teste tem duração máxima de 90 segundos, sendo classificado de acordo com o tempo da seguinte maneira: até 20 segundos: fraco; de 21 a 40 segundos: regular; entre 41 e 60 segundos: bom; entre 61 e 80 segundos: muito bom; acima de 80 segundos: excelente.

b4) Short Physical Performance Battery (SPPB). Composto por três testes que avaliam, na sequência, o equilíbrio estático em pé (0 a 4 pontos); a velocidade de marcha em passo habitual (0 a 4 pontos), medida em dois tempos em determinado percurso de ida e volta e, indiretamente, a força muscular dos membros inferiores por meio do movimento de levantar e sentar-se na cadeira cinco vezes consecutivas e sem o auxílio dos membros superiores (0 a 4 pontos). Variando então entre zero (pior desempenho) a 12 pontos (melhor desempenho), o resultado recebe a seguinte graduação: zero a 3 pontos - incapacidade ou desempenho muito ruim; 4 a 6 pontos - baixo desempenho; 7 a 9 pontos - moderado desempenho e 10 a 12 pontos - bom desempenho (Nakano, 2007) (anexo 18).

c) Avaliação da flexibilidade

c1) Avaliar a flexibilidade dos membros superiores (distância que as mãos podem atingir atrás das costas). Na posição de pé, o participante coloca a mão dominante por cima do mesmo e alcança o mais baixo possível em direção ao meio das costas, palma da mão para baixo e dedos estendidos (o cotovelo apontado para cima). A mão do outro braço é colocada por baixo e atrás, com a palma

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 4.513.617

virada para cima, tentando alcançar o mais longe possível numa tentativa de tocar (ou sobrepor) os dedos médios de ambas as mãos. A distância de sobreposição, ou a distância entre os médios é medida ao cm mais próximo. Os resultados negativos (-) representam a distância mais curta entre os dedos médios; os resultados positivos (+) representam a medida da sobreposição dos dedos médios. Registam-se duas medidas. O “melhor” valor é usado para medir o desempenho (Virtuoso and Guerra, 2011).

c2) Teste de sentar e alcançar. O teste de flexibilidade sentar e alcançar é definido como a capacidade de uma articulação se mover em uma grande amplitude de movimento. O teste é realizado numa caixa medindo 30,5 cm por 30,5 cm por 30,5 cm com uma escala de 26,0 cm em seu prolongamento, sendo que o ponto zero se encontra na extremidade mais próxima do avaliado e o 26°cm coincide com o ponto de apoio dos pés. O participante deve estar descalço e na posição sentada toca os pés na caixa com os joelhos estendidos. Com ombros flexionados, cotovelos estendidos e mãos sobrepostas executava a flexão do tronco à frente devendo este tocar o ponto máximo da escala com as mãos. Serão realizadas três tentativas sendo considerada apenas a melhor marca (Virtuoso and Guerra, 2011).

d) Avaliação do equilíbrio postural

d1) Time Up and Go Test (TUG). Avalia, principalmente, a mobilidade funcional. Será aplicado com os participantes sentados em uma cadeira (45 cm de altura), com apoio de braços e costas, usando calçados confortáveis e próprios, quando receberem o comando “vai”, devem levantar da cadeira, andar um percurso linear de 3 m, com passos seguros, retornar à cadeira e sentar-se. Será medido o tempo (segundos) de realização da tarefa (Podsiadlo D, 1991).

d2) MiniBESTest. Contém 14 itens organizados em seis seções correspondentes aos sistemas que contribuem para a manutenção do equilíbrio: restrições biomecânicas, limites de estabilidade, respostas posturais, ajustes posturais antecipatórios, orientação sensorial, e equilíbrio dinâmico durante o efeito da marcha, e cognitivos. Cada item é pontuado em uma escala ordinal de três pontos variando de zero a dois (melhor desempenho). O teste tem de 10 a 15 minutos de duração (Maia et al., 2013) (anexo 19).

4.4.16. AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA E COMPOSIÇÃO CORPORAL

a) Antropometria. Será aferido massa corporal, estatura e circunferência abdominal (CA) e da panturrilha. A massa será verificada utilizando uma balança digital (Tech Line TEC®, capacidade para 136 Kg), com o indivíduo descalço e com roupas leves. A estatura será verificada usando fita métrica inelástica com o indivíduo ereto e com os calcanhares alinhados. Será utilizado o Índice de Massa Corpórea (IMC) considerando a razão peso atual (Kg/m²). A CA será avaliada utilizando uma

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 4.513.617

fita métrica inelástica, sendo avaliada na região com maior deposição de gordura. A obesidade abdominal será definida conforme critérios do protocolo Associação Brasileira para o estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO, 2016). A circunferência da panturrilha será realizada na perna esquerda, com uma fita métrica inelástica, na sua parte mais protuberante, com o participante com a perna dobrada formando um ângulo de 90 graus com o joelho.

b) Composição corporal. Porcentagem de gordura (% gord); tecido (gr); gordura (gr); massa magra (gr) serão avaliadas por meio da balança de Bioimpedância da marca Biodynamics. Antes de realizar a avaliação os participantes serão instruídos em relação aos seguintes cuidados:

- (a) não ter feito uso de medicamentos diuréticos nos últimos 7 dias;
- (b) manter-se em jejum por pelo menos 4h;
- (c) não ter ingerido bebidas alcoólicas nas últimas 48h;
- (d) não realizar exercício físico intenso nas últimas 24h;
- (e) urinar pelo menos 30min antes da medida;
- (f) manter-se pelo menos 8-10min em repouso absoluto em posição supina antes de realizar a avaliação.

O participante deverá posicionar-se em pé para a realização das medidas, a balança Biodynamics contém em sua plataforma eletrodos para emissão e recepção da corrente elétrica. O avaliado coloca-se em pé sobre sua plataforma e permanece nessa posição por alguns segundos ao mesmo tempo deverá segurar o aparelho com os braços estendidos à frente, formando um ângulo de 90º com o tronco, com ambas as mãos sobre os eletrodos, para que a corrente elétrica possa percorrer os membros superiores e a região superior do tronco.

4.5. INTERVENÇÕES

Após todas as avaliações, os participantes elegíveis de acordo com diagnóstico/gravidade; comprometimento atual; disponibilidade de participação e as condições funcionais, serão encaminhados a apenas uma das três intervenções propostas (Figura 1).

4.6. RANDOMIZAÇÃO, ALOCAÇÃO, CEGAMENTO E PERDA DE SEGUIMENTO

A alocação para os grupos será feita segundo uma sequência numérica randomizada e estratificada gerada previamente à primeira alocação para os grupos. O estudo será composto por dois braços paralelos, sendo um grupo controle (placebo) e um grupo experimental. Ambos os grupos, farão os mesmos exercícios físicos associados a proteína, entretanto em grupo será suplementado com probióticos e o outro será placebo.

Uma sequência numérica aleatória será preparada por um pesquisador independente, que não conheça os códigos numéricos para os grupos controle e experimental. Essa sequência será

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 4.513.617

gerada em blocos de tamanhos aleatórios (de 1 a 8) e a ordem desses blocos será aleatorizada. A sequência numérica será mantida em envelopes opacos, numerados sequencialmente, seguindo a ordem gerada pelo software. Essa sequência será mantida em sigilo e guardada em um local onde os avaliadores cegos não terão acesso. Após a concordância do paciente em participar da pesquisa e assinatura do TCLE, a alocação para os grupos será feita por outro pesquisador independente, que também não conhecerá o código numérico que identifica os grupos. Somente o pesquisador que realizará a intervenção terá conhecimento do significado do código. O envelope será aberto, assinado e datado pelo pesquisador independente que fará a alocação.

O pesquisador que realizará as avaliações dos pacientes (pré e pós tratamento) será cego para as intervenções aplicadas. A tabulação dos dados de todas as fichas de avaliação, o tratamento matemático e estatístico dos dados também será feito por um pesquisador independente e cego para os grupos.

As perdas de seguimento serão tratadas pela “intenção-de-tratar” que é considerada a análise apropriada para testar “superioridade” em ensaios clínicos randomizados. Nesta abordagem, os indivíduos são analisados de acordo com o seu grupo de alocação original, independentemente do tratamento real recebido, evitando o viés de confusão causado pela exclusão de pacientes não aderentes (análise por-protocolo).

4.7. PROTOCOLO DA SUPLEMENTAÇÃO 4.7.1. PROTEÍNA

A suplementação de proteínas será realizada imediatamente após o treino de força, por meio da ingestão de 20 g de proteína do soro do leite diluído em água, conforme já descrito por outros (Caccialanza et al., 2020; Moore, 2019).

4.7.2. PLACEBO

Também, imediatamente, após o treino o grupo placebo receberá 20 g de maltodextrina diluída em água. A suplementação será em quantidade isocalóricas tanto no grupo controle como no grupo placebo.

4.7.3. PROBIÓTICO

Os participantes do grupo probiótico receberão cápsulas contendo probióticos comerciais e serão instruídos a tomar uma cápsula de probiótico uma vez ao dia por doze semanas. O grupo placebo também receberá as cápsulas, porém vazias, para serem ingeridas uma vez ao dia. Após a finalização das doze semanas, os participantes do grupo placebo receberão probióticos para doze semanas se desejarem.

4.8. PROTOCOLO DE TREINAMENTO COM PESO CORPORAL ASSOCIADO À ELETROESTIMULAÇÃO

As sessões de treinamento serão compostas por um aquecimento de 5 minutos seguido de 8

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Continuação do Parecer: 4.513.617

exercícios. Os exercícios aplicados serão: crucifixo em pé, agachamento, remada neutra, flexão de joelhos, elevação lateral, flexão de cotovelo, extensão de cotovelo e abdominal em pé. O treinamento respeitará a seguinte progressão: semana 1 a 4 uma série entre 8 a 12 repetições, semana 5 a 8 duas séries entre 8 a 12 repetições e semana 9 a 12 três séries entre 8 a 12 repetições.

Para prática de exercício associada à eletroestimulação será utilizado o X-body (Dorsten, Nordrhein-Westfalen, German; Figura 2) que permite ativação simultânea de até 20 regiões ou 8-12 grupos musculares como coxas, braços, glúteos, abdômen, peitoral, trapézio, deltóides e latíssimo do dorso com intensidade selecionável para cada região, com ativação simultânea. Para a realização do protocolo de eletroestimulação o equipamento liberará uma corrente elétrica bipolar com frequência de 85 Hz, amplitude de impulso de 350 s por intermitência por quatro segundos de estimulação com impulso direto e dois segundos de reposição.

Figura 3. Equipamento de eletroestimulação de corpo inteiro

O monitoramento da intensidade da corrente será realizado através da percepção subjetiva de esforço (Kemmler et al., 2016; Kemmler and von Stengel, 2013) registrado ao final de cada série. O esforço percebido será definido como a intensidade subjetiva de esforço/tensão durante o exercício ou eletroestimulação (Utter et al., 2004). A intensidade do estímulo atual será adaptada individualmente com manutenção da taxa de estímulo entre "um pouco difícil" e "difícil" da percepção de cada participante (Utter et al., 2004).

Após a intervenção com eletroestimulação os pacientes realizarão o treinamento aeróbio (item 4.8.1.) ao final será realizado a suplementação proteica como descrita no item 4.7.1.

4.8.1. PROTOCOLOS DO TREINAMENTO

a) Treinamento aeróbio. Será realizada atividade física predominantemente aeróbia. A captação máxima de oxigênio (VO₂max), tem o potencial de ser usada como parte dos critérios de triagem existentes para ajudar a estratificar os pacientes e o risco. Antes da intervenção propriamente dita, será realizada avaliação ergoespiométrica (análise dos gases expirados) pelo teste de caminhada de 6 minutos na esteira com comando do próprio paciente (Stevens et al., 1999). A intensidade será controlada pela resposta da frequência cardíaca (FC) com zona de treino inicial estabelecida em 60% (variação: 50% a 75%) da FC_{max} atingida; sensação de cansaço inicial pela escala de Borg de 10 pontos estabelecida em 2 (variação: zona: 1-3) e intensidade considerada baixa (Borg, 1982). A quantificação total de cada sessão de treino que terá duração de 30 min (máximo), subdividida em 5 min de aquecimento, 30 min de atividade controlada (principal) e 5 min de volta a calma. A frequência do treinamento será de 2 sessões por semana. O controle do volume, da

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Continuação do Parecer: 4.513.617

intensidade e da sensação de cansaço Borg servirão para gerar o método TRIMP, ou seja, o volume da sessão será quantificado pela equação: frequência cardíaca (FC) x tempo (min) x sensação de cansaço (Borg) Ex: 130 bpm x 30 min x 3 = 11700. O treinamento poderá ser realizado em esteira (caminhada, trote ou intermitência ou bicicleta ergométrica. A intensidade inicial a 60% da FCmax, representa 40% do VO2max e é considerada bem baixa (Swain et al., 1994; Swain and Leutholtz, 1997). As modificações da carga de treinamento serão alteradas de acordo com a sensação de cansaço como mostra a tabela abaixo. A tabela de Borg modificada de 0-10 pontos é intuitiva.

b) Treinamento resistido. As sessões de treinamento de força serão compostas por um aquecimento de 5 minutos seguido de 8 exercícios. Os exercícios aplicados serão: Crucifixo com halter, Agachamento, Remada na máquina, Flexão de Joelhos em pé, Elevação Lateral, Rosca direta, extensão de cotovelo na máquina e abdominal na máquina. O treinamento respeitará a seguinte progressão: semana 1 a 4 uma série entre 8 a 12 repetições, semana 5 a 8 duas séries entre 8 a 12 repetições e semana 9 a 12 três séries entre 8 a 12 repetições. A intensidade do estímulo atual será adaptada individualmente com manutenção da taxa de estímulo entre "um pouco difícil" e "difícil" da percepção de cada participante (Utter et al., 2004). A pausa entre as séries será de 1 minuto, o treinamento será realizado 2 vezes por semana. Em seguida ao treinamento de força será realizado o treinamento aeróbio e suplementação proteica como descrita no item 4.7.1.

c) Teleatendimento. Será agendado o teleatendimento duas vezes por semana com duração de aproximadamente 50 minutos por um período de três meses e, após este período será realizado a reavaliação.

A ferramenta utilizada para as salas virtuais serão o Meeting da Google, para o qual será feito um agendamento de acordo com a disponibilidade do participante. Será gerado um único link para o teleatendimento que será enviado ao participante por e-mail ou Whatsapp.

Todo o tratamento será conduzido pelos pesquisadores que é uma fisioterapeuta com treinamento em telereabilitação. Os exercícios propostos serão:

1. Exercícios respiratórios;
2. Exercícios metabólicos;
3. Flexão de quadril; Abdução e adução de quadril; (ortostase ou deitado)
4. Planti-flexão;
5. Agachamento na cadeira (senta e levanta);
6. Desenvolvimento de membros superiores;
7. Exercícios de equilíbrio - bipodal e unipodal;
8. Pontes;
9. Alongamentos de ísquios tibiais, adutores, abdutores e tríceps sural.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 4.513.617

4.6 DESFECHOS

Os desfechos são: qualidade de vida, nível de independência, cognição, estresse, ansiedade, dor, fadiga, análises laboratoriais de sangue, análise imunológica, análise da microbiota, nível sarcopênico, força muscular, flexibilidade, equilíbrio postural, condições cardio respiratório. Essas variáveis serão avaliadas pré e pós as intervenções.

Metodologia de Análise de Dados:

A análise descritiva envolverá todas as variáveis do estudo. As variáveis qualitativas serão apresentadas em termos de seus valores absolutos e relativos. As variáveis quantitativas serão apresentadas em termos de seus valores de tendência central (média ou mediana) e de dispersão (desvio- padrão). A normalidade e homogeneidade das variâncias e a aderência a curva de Gauss serão obtidas através dos testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, respectivamente. Para as variáveis que apresentarem essas duas qualificações satisfeitas serão utilizados testes paramétricos (teste t, ANOVA), em caso contrário serão utilizados testes não paramétricos (teste U de Mann-Whitney). Para verificar a associação entre as variáveis qualitativas será utilizado o teste de Qui-quadrado e/ou teste exato de Fisher. O nível de significância aceito será de 5% ($P < 0,05$). Todas as análises serão realizadas utilizando o programa estatístico SIGMA STAT, 3.11 (Systat Software, Inc., Richmond, California, USA).

Desfecho Primário:

melhora da capacidade funcional: melhora da sarcopenia; força muscular; equilíbrio, capacidade cardiorespiratório; melhora da sarcopenia.

Desfecho Secundário:

melhora do sistema imunológico, melhora da microbiota intestinal. melhora do estado de humor e psicológico. Tamanho da Amostra no Brasil: 60

Haverá uso de fontes secundárias de dados (prontuários, dados demográficos, etc)?

Sim

Detalhamento:

Serão coletadas as seguintes informações: sintomas iniciais e evolutivos referentes a COVID-19, tempo de internação hospitalar (em unidade de terapia intensiva e enfermagem), comorbidades, exames laboratoriais iniciais e pré-alta hospitalar; exames de imagem (tomografia computadorizada de tórax), ecocardiograma; complicações sistêmicas e infecciosas, medicamentos utilizados, incluindo glicocorticóides.

Informe o número de indivíduos abordados pessoalmente, recrutados, ou que sofrerão algum tipo

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 4.513.617

de intervenção neste centro de pesquisa: 60

Grupo teleatendimento: 20

Grupo exercício concorrente (exercício resistido e aeróbio associado a suplementação proteica, com e sem suplementação probiótica): 20

Grupo eletroestimulação (exercício com eletroestimulação associado a suplementação proteica e com ou sem suplementação probiótica): 20

Haverá retenção de amostras para armazenamento em banco?

Sim

Justificativa:

Será coletado amostra de sangue, fezes e biópsia muscular, para avaliar se a intervenção é adequada para os pacientes que foram infectados pelo Coronavírus. segue abaixo: Os participantes comparecerão ao LEM - HCFMUSP - SP, em jejum noturno de no 12 horas. Serão coletados 20 mL de sangue da veia basílica mediana ou cefálica, e imediatamente o material será centrifugado e armazenado à - 20°C para posterior análise de concentrações de colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), triglicérides, glicose, aspartato aminotransferase (TGO), alanina aminotransferase (TGP), desidrogenase láctica, 11aldolase, creatinofosfoquinase (CPK), D-dímero, proteína C-reativa, velocidade de hemossedimentação, troponina, ferritina, ureia e creatinina. Todas as amostras serão coletadas no tempo basal e após intervenção, serão processadas e analisadas no Laboratório Multiusuário de Pesquisa Básica (LamPeB) da Universidade São Judas Tadeu.

4.4.8. QUANTIFICAÇÃO DE MEDIADORES IMUNO-INFLAMATÓRIOS SÉRICOS

Amostras de soro coletadas antes e no término da intervenção fisioterápica em todos os participantes serão analisadas. As citocinas que atuam como reguladores da resposta imuno-inflamatória serão quantificadas no soro e assim podem auxiliar a esclarecer os mecanismos envolvidos na COVID-19, bem como na recuperação do paciente. Assim serão avaliados os níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias (TNF-, IL-1, IL-6, IFN-, IL-12, IL-4, IL-10, IL-12 TGF-, IL-17, IL-23), de adipocitocinas (adiponectina, leptina e inibidor do ativador do plasminogênio 1) e de fatores associado a sarcopenia (miostatina), cortisol e neurotróficos (BDNF) por ELISA. Resumidamente, as amostras serão colocadas em placas previamente sensibilizadas com anticorpos específicos para cada uma das citocinas e incubadas. Após lavagem inicial, o anticorpo biotinilado será adicionado e permanecerá incubado por tempo determinado. Em seguida será realizada a lavagem e a incubação com o conjugado de estreptavidina-fosfatase durante 60 minutos, seguida por nova lavagem e incubação com substrato. Após período de 30 minutos, 50 L de ácido sulfúrico será adicionado aos poços para paralisar a reação. Os valores de

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 4.513.617

absorbância para cada amostra serão obtidos após leitura em espectrofotômetro a 450 nm. Uma curva padrão será elaborada a partir da absorbância obtida para os padrões fornecido pelo fabricante para obtenção de uma equação, que permitirá calcular a quantidade de cada mediador.4.4.9. AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTAAs amostras de fezes antes e após a intervenção serão coletadas pelo próprio participante e serão congeladas em coletor universal em freezer -80oC até sua manipulação. O DNA será extraído e será realizado o sequenciamento paired-end da região V3-V4 do gene 16SrRNA com 50 mil leituras de cada amostra de acordo com protocolo da empresa de biotecnologia Neopropecta - Microbiome Technologies.124.4.10. AVALIAÇÃO DA ESPESSURA MUSCULARA espessura muscular (EM) do bíceps braquial, tríceps braquial e vasto lateral será avaliada por meio de uma unidade de ultrassonografia (Mindray; DP10; Shenzhen, China) com frequência de onda de 7,5 a 10 MHz. A avaliação da EM será realizada seguindo procedimentos prévios de (Brigatto et al., 2019). A sonda de ultrassom será aplicada perpendicularmente à pele para medição. Um gel solúvel em água será utilizado no transdutor para auxiliar o acoplamento acústico e remover a necessidade de excesso de pressão de contato na pele. A EM será definida como a distância entre a interface do tecido muscular e a gordura subcutânea até os ossos.A imagem será realizada no lado direito do corpo dos participantes que serão orientados a jejuar por 3 horas antes do teste, e as avaliações da MT serão realizadas na mesma hora do dia no pré e pós-teste. Para o bíceps e tríceps, as avaliações da EM serão realizadas a 60% distais entre o epicôndilo lateral do úmero e o processo acrômio da escápula. Para o vasto lateral, serão realizadas avaliações a 50% distais entre o côndilo lateral do fêmur e o trocânter maior. O ICC teste-reteste de nosso laboratório para bíceps, tríceps e vasto lateral são 0,996, 0,998 e 0,999, respectivamente, e o erro padrão da média é de 0,29, 0,42 e 0,41 mm, respectivamente.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar e tratar pacientes pós-COVID-19 de acordo com suas incapacidades temporárias ou permanentes relacionadas às variáveis de capacidade física, neurofisiológicas e características imunológicas, microbiológicas, psicológicas e nutricionais.

Objetivo Secundário:

Avaliar os seguintes parâmetros no basal e após a intervenção de diferentes programas de exercícios físicos: Qualidade de vida, capacidade funcional, aspectos psicológicos Capacidade cardiorrespiratória, função muscular, equilíbrio postural, flexibilidade, e composição corporal

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 4.513.617

Níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias (TNF-, IL-1, IL-6, IL-4, IL-10, IL-12, TGF-, IL-17, IL-23), adipocitocinas (adiponectina, leptina e inibidor do ativador do plasminogênio 1), miostatina, cortisol e fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) Expressão gênica de mRNA extraído de leucócitos de sangue periférico, associados ao processo inflamatório (TNF-, IL-1, IL-6, IL-4, IL-10, IL-12 TGF-, IL-17, IL-23) Níveis de expressão gênica de mRNA de tecidos musculares envolvidos em sarcopenia (miostatina, fator de crescimento tipo insulina 1 (IGF-1), atrogin-1, MuRF-1, irisin) Composição da microbiota intestinal dos pacientes (com suplementação proteica associada ou não a probióticos) Relevância de probióticos comerciais em parâmetros clínicos e laboratoriais Relevância da suplementação proteica em parâmetros clínicos e laboratoriais

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

O projeto apresenta riscos médios para os participantes. Tais riscos estão associados à possibilidade de constrangimento, cansaço, desconforto e estresse ao responder os questionários; desconforto, dor e hematoma no local da coleta de sangue e biópsia muscular; dores e lesões após os exercícios; mudanças do trânsito intestinal com a utilização de probióticos.

Benefícios:

Os pacientes serão tratados por uma equipe multiprofissional por três meses e indiretamente este estudo contribuirá com o conhecimento científico acerca dos efeitos das intervenções em pacientes pós COVID-19.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de estudo experimental, prospectivo, de série de 60 casos de pacientes pós COVID-19, nacional, em dois centros de pesquisa, prospectivo, com três braços paralelos, divididos de modo não devidamente esclarecido:

1. Grupo teleatendimento: 20 participantes. Intervenção a ser realizada: teleatendimento
2. Grupo exercício concorrente: 20 participantes. Intervenção a ser realizada: Exercício resistido e aeróbio associado a suplementação proteica e com ou sem suplementação probiótica
3. Grupo eletroestimulação: 20 participantes. Intervenção a ser realizada: Exercício com eletroestimulação associado a suplementação proteica e com ou sem suplementação probiótica.

Serão realizadas avaliações de caracterização sociodemográfica, qualidade de vida, nível de independência, capacidade funcional, condição psicológica e cognitiva, estresse percebido, felicidade subjetiva, fadiga, dor, avaliação nutricional, metabólica e enzimática, quantificação de

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 4.513.617

mediadores imuno- inflamatórios séricos, composição da microbiota, espessura muscular, biópsia muscular para análise histológica do músculo esquelético, análise da expressão gênica, análise da expressão proteica. Serão avaliados ainda a condição física por avaliação cardiorrespiratória, avaliação do equilíbrio postural, da força muscular, da flexibilidade.

Os pesquisadores avaliarão também a composição corporal e dados antropométricos.

As avaliações serão realizadas antes e após o início das intervenções, que tem previsão de duração de 3 meses, sendo realizadas duas vezes por semana.

Numero total de participantes no Brasil: 60

Centros participantes nacionais:

1. Laboratório do Estudo do Movimento (LEM), Hospital das Clínicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo – SP, sob a responsabilidade da pesquisadora responsável.
2. Laboratório Multiusuário de Pesquisa Básica (LamPeB) da Universidade São Judas Tadeu, SP; sob a responsabilidade de Sandra Regina Mota Ortiz, diretora de Pesquisa da USJT.

O material biológico excedente (soro) será armazenado em biorrepositorio devidamente registrado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Recomendações:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Trata-se da análise de respostas ao parecer consubstanciado pendente nº 4.489.454 emitido pelo CEP em 05/01/2021.

Para a versão 3 do projeto de pesquisa foram encaminhadas as novas versões das Informações Básicas da Pesquisa ("PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1617814.pdf" postado na Plataforma Brasil em 14/01/2021) e do Projeto Detalhado intitulado "Projeto_Covid19.pdf", postado na Plataforma Brasil em 19/11/2020, contendo as modificações devidamente demarcadas.

Em carta resposta "carta_resposta.pdf", postado na Plataforma Brasil em 14/01/2021, a pesquisadora responsável encaminha as respostas às pendências. Em documento intitulado "TCLE_versao2.pdf" postado na Plataforma Brasil em 14/01/2021 a pesquisadora responsável encaminha as modificações realizadas no TCLE, em versão com modificações demarcadas.

1. O método de avaliações e de intervenções está descrito de forma incompleta no documento

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 4.513.617

Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1617814.pdf postado na Plataforma Brasil em 08/10/2020). Solicita-se completar o documento.

RESPOSTA: "Foi realizado um resumo expandido de modo que conseguimos colocar toda a metodologia dentro dos 3512 caracteres permitido."

PENDENCIA ATENDIDA.

2. Quanto ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) – referente ao arquivo "TCLE_versao2.pdf", postado na Plataforma Brasil em 14/01/2021:

1.3. Na página 2 de 4, lê-se "Faremos também os seguintes procedimentos, no Laboratório do Estudo do Movimento (LEM) do HCMFUSP: - Entrevista para coleta de informações sobre o estado atual da doença, medicações em uso, qualidade de vida, funcionalidade. Testes para avaliar a capacidade cardiorrespiratória, força muscular, equilíbrio postural e flexibilidade e espessura do músculo. Ultrassonografia dos músculos da coxa para avaliar a espessura e grau de comprometimento do músculo pela COVID 19." Solicita-se que sejam ADICIONADAS as avaliações psicológicas e cognitivas, nutricional e como serão feitas. Solicita-se também que sejam ADICIONADOS o detalhamento dos métodos a serem utilizados (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens II.23 e IV.3.a).

RESPOSTA: "Foram feitas todas as adequações para uma linguagem mais simples. Primeiro dia:

- Entrevistas para a coleta de informações sobre o seu estado atual de saúde, as medicações que o(a) Sr(a) utiliza e sua rotina alimentar ao longo de 24 horas (Recordatório Alimentar Diário). A descrição da sua rotina alimentar será utilizada para o cálculo do gasto energético total diário. Esses dados serão usados para orientação nutricional realizada por uma nutricionista. Esse procedimento será repetido quatro vezes durante a pesquisa (incluindo no primeiro dia).

- Entrevistas para a coleta de informações sobre os aspectos da qualidade de vida e emoções, assim como de funcionalidade, através dos seguintes questionários e testes que listaremos a seguir. Todos eles serão detalhados e explicados antes de sua aplicação. O tempo total previsto para realizar essas avaliações é de aproximadamente 2 horas, com intervalo de descanso de 10 minutos entre cada bloco de testes e questionários:

a) Avaliação da qualidade de vida: questionário Quality of Life of the World Health Organization (WHOQOL);

b) Avaliação da cognição: questionário Montreal Cognitive Assessment (MOCA); Teste de Fluência Verbal; Teste de Trilhas; Escala de Felicidade Subjetiva; Teste de Stroop;

c) Avaliação do humor, dor e fadiga: Escala de Estresse Percebido; Escala de Avaliação de Ansiedade de Hamilton; Escala de Avaliação de Depressão de Hamilton; Escala Visual Analógica de

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 4.513.617

Fadiga; The Fatigue Severity Scale; Escala Modificada do Impacto da Fadiga e Questionário de dor: McGill Pain Questionnaire;

d) Avaliação da Funcionalidade: Teste de Equilíbrio, Marcha e Força; Avaliação da Capacidade Cardiorrespiratória em repouso e após caminhada de 6 minutos; Teste de Força de Pressão Manual; Teste de Sentar e Levantar; Teste de Equilíbrio e Avaliação de Flexibilidade.

- Um novo horário será agendado para coleta de sangue, ultrassonografia e biópsia muscular. Além disso, o(a) Sr(a) receberá um kit e orientações para coleta e armazenamento de fezes que deverá ser devolvido no dia da coleta de sangue.

- Este estudo terá duração de três meses, e os exercícios demoram em torno de uma hora e são realizados duas vezes por semana no LEM (HCFMUSP);

-Após a finalização das intervenções (físicas e de suplementação), será solicitado que o(a) Sr(a) compareça ao HCFMUSP para novas avaliações físicas e cognitivas e, numa outra data para coleta de sangue, fezes, ultrassonografia e biópsia muscular."

PENDENCIA ATENDIDA.

1.7. Na página 2 de 4, lê-se "Nessa etapa, avaliaremos como está a situação dos músculos, através de análise de proteínas e genes (material genético) envolvidos na reparação ou destruição dos seus músculos." Solicita-se que seja ADICIONADA a informação sobre o estudo genético de material coletado no sangue e nas fezes. Solicita-se a explicitação clara dos exames e testes que serão realizados, indicação dos genes/segmentos do DNA ou do RNA que serão estudados e a sua relação com eventual condição do participante da pesquisa (Resolução CNS nº 340, de 2004, item IV.1.b).

RESPOSTA: "Foram feitas todas as adequações para uma linguagem mais simples. Segundo dia:

- O tempo médio de duração das avaliações, neste dia, será de 1 hora;

- Para coleta de sangue será solicitado a(o) Sr(a) jejum de 8 horas. Serão coletados aproximadamente 20 ml de sangue da veia do seu braço para análises laboratoriais;

- No mesmo dia, o(a) Sr(a) devolverá o kit com a amostra das fezes congeladas, conforme orientações anteriormente realizadas;

- Também será realizada por um médico a ultrassonografia - será colocar um aparelho com gel sobre o seu braço e coxa para verificar a espessura dos músculos destes músculos. A biópsia muscular por punção com agulha de sucção no músculo da coxa: Para a biópsia muscular o(a) Sr(a) será orientado(a) a deitar-se em uma maca, com os joelhos esticados e o músculo da coxa relaxado. O médico fará então a limpeza do local e, em seguida, aplicará a anestesia no local da punção, onde fará a inserção da agulha para retirada de um pequeno fragmento do músculo. Após

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 4.513.617

o procedimento, será realizada aplicação de pressão sobre o ponto de punção para prevenir o sangramento e a colocação de uma bandagem limpa e seca no local que deverá ser mantida por três dias. O fragmento do músculo será utilizado para análises laboratoriais"

PENDENCIA ATENDIDA.

1.9. Na página 2 de 4, lê-se "Após a definição do grupo iremos sorteá-lo para um grupo que chamamos experimental que fará os exercícios, tomará proteína com orientação de nutricionista e uma substância chamada probiótico, que são bacilos que regulam sua flora intestinal ou para outro grupo que não tomará probiótico, que chamamos de grupo controle.". Nas páginas 22 e 23/71 do Projeto Detalhado intitulado "Projeto_Covid19_fmusp_USJT.pdf", postado na Plataforma Brasil em 24/08/2020 lê-se: "A alocação para os grupos será feita segundo uma sequência numérica randomizada e estratificada gerada previamente à primeira alocação para os grupos. O estudo será composto por dois braços paralelos, sendo um grupo controle (placebo) e um grupo experimental. Ambos os grupos, farão os mesmos exercícios físicos associados a proteína, entretanto em grupo será suplementado com probióticos e o outro será placebo." Solicita-se ESCLARECER o participante da pesquisa que fará uso de probiotico placebo (20 g de maltodextrina diluída em água em quantidades hipocalóricas) e qual a necessidade deste uso na justificativa do estudo.

RESPOSTA: "Foram feitas todas as adequações no TCLE. Após realizar todos os testes e exames, de acordo com sua disponibilidade e condições atuais de saúde, o(a) Sr(a) será encaminhado para um dos seguintes grupos: grupo tele-atendimento que será feito exercícios comandados a distância por fisioterapeutas, por meio de plataformas digitais como por exemplo meeting ou zoom. Grupo exercícios resistido + aeróbico que são exercícios com peso musculação) e treino em esteira ou Grupo eletroestimulação + aeróbico o (a) Sr(a), no dia, usará uma "roupa" que emitirá um "choque" (suportável) para estimular diferentes partes do corpo durante a realização do exercícios. Todos os participantes receberão proteína (20mg/dia) para consumo após o treino; - Após a inclusão do(a) Sr(a) em um dos grupos, haverá um sorteio para definir se o(a) Sr(a) vai receber as cápsulas de probióticos (cápsula com microrganismos ativos) ou o placebo (cápsula sem microrganismos ativos)"

PENDENCIA ATENDIDA.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado;b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c)apresentar dados

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 4.513.617

solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

O presente projeto, seguiu nesta data para análise da CONEP e só tem o seu início autorizado após a aprovação pela mesma.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1617814.pdf	14/01/2021 21:01:51		Aceito
Outros	carta_resposta.pdf	14/01/2021 20:54:52	Julia Maria D'Andréa Greve	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_versao2.pdf	14/01/2021 20:48:19	Julia Maria D'Andréa Greve	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Covid19.pdf	19/11/2020 17:22:48	Julia Maria D'Andréa Greve	Aceito
Outros	declaracao_custo.pdf	08/10/2020 13:24:29	Angelica Castilho Alonso	Aceito
Outros	APROVACAO_DOT_FMUSP_SGP15662.pdf	08/10/2020 13:17:33	Angelica Castilho Alonso	Aceito
Outros	questionario.pdf	08/10/2020 13:14:54	Angelica Castilho Alonso	Aceito
Outros	Parecer_Uso_de_dados_digitais.pdf	08/10/2020 13:08:05	Angelica Castilho Alonso	Aceito
Outros	PARECERIOT1451.pdf	08/10/2020 13:07:30	Angelica Castilho Alonso	Aceito
Cronograma	cronograma.pdf	08/10/2020 13:06:03	Angelica Castilho Alonso	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Sandra.pdf	08/10/2020 13:03:07	Angelica Castilho Alonso	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_SGP15662.pdf	01/10/2020 12:23:34	Angelica Castilho Alonso	Aceito
Declaração de concordância	Declaracao_do_Responsavel_Laboratorio do IOT.pdf	25/08/2020 17:48:28	Julia Maria D'Andréa Greve	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Samuel.pdf	25/08/2020 17:44:33	Julia Maria D'Andréa Greve	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Priscila.pdf	25/08/2020 17:44:23	Julia Maria D'Andréa Greve	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 4.513.617

Declaração de Pesquisadores	paulo.pdf	25/08/2020 17:44:03	Julia Maria D'Andréa Greve	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Montiel.pdf	25/08/2020 17:43:09	Julia Maria D'Andréa Greve	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Marta.pdf	25/08/2020 17:42:57	Julia Maria D'Andréa Greve	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Marilia.pdf	25/08/2020 17:42:05	Julia Maria D'Andréa Greve	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Guilherme.pdf	25/08/2020 17:41:47	Julia Maria D'Andréa Greve	Aceito
Declaração de Pesquisadores	CHRISTiane.pdf	25/08/2020 17:41:38	Julia Maria D'Andréa Greve	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Angelica.pdf	25/08/2020 17:41:28	Julia Maria D'Andréa Greve	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Alexandre.pdf	25/08/2020 17:41:19	Julia Maria D'Andréa Greve	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Adriana.pdf	25/08/2020 17:41:01	Julia Maria D'Andréa Greve	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Biorrepositorio.pdf	25/08/2020 17:01:02	Julia Maria D'Andréa Greve	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	instituicao_externa.pdf	24/08/2020 16:12:41	Julia Maria D'Andréa Greve	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Sim

SAO PAULO, 28 de Janeiro de 2021

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br