

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina - Pneumologia

EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A LIBERAÇÃO DE
INTERLEUCINA-1 β , INTERLEUCINA-6 E FATOR DE NECROSE TUMORAL- α EM
HOMENS PORTADORES DE DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA

Daniela Chiesa
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marli Maria Knorst

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Medicina – Pneumologia da
Universidade Federal do Rio Grande do Sul,
para obtenção do Título de Doutor

Porto Alegre, RS
2005

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

C533e Chiesa, Daniela

Efeito do exercício físico sobre a liberação de interleucina-1 β , interleucina-6 e fator de necrose tumoral alfa em homens portadores de doença pulmonar obstrutiva crônica / Daniela Chiesa ; orient. Marli Maria Knorst . – 2005.

87 f. : il. color.

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Pneumologia. Porto Alegre, BR-RS, 2005.

1. Doença pulmonar 2. Fator de necrose tumoral 3. Interleucina-1 4. Interleucina-6 5. Exercício físico I. Knorst, Marli Maria II. Título.

NLM: WF 600

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

Ao meu esposo André, pelo seu amor e
companheirismo, e pelo estímulo para a
conclusão desta etapa.

Aos meus pais, Sueli e Almir (in memoriam),
pelo incentivo incondicional.

AGRADECIMENTOS

À Professora Marli Maria Knorst, pela oportunidade de ser sua orientanda e de integrar a equipe de reabilitação pulmonar do Hospital de Clínicas de Porto Alegre; pelo aprendizado, pela presença constante e dedicação na orientação deste trabalho, pelo incentivo, pelo exemplo pessoal e profissional, pelo carinho e amizade. Muito obrigada.

Ao Prof. Sérgio Saldanha Menna Barreto, pelo apoio e oportunidade de participar do Serviço de Pneumologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Aos professores, médicos contratados, colegas de residência médica e funcionários do Serviço de Pneumologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo apoio e amizade.

À Candice Krummel, Jéssica Mesquita, Kelin Mezzomo e Renata Pinto (in memoriam) pela contribuição na avaliação dos pacientes.

Ao Dr. Ricardo Aurinho Pinho, pelo incentivo e colaboração na execução do projeto.

Ao Dr. Ricardo Stein, pela execução e interpretação dos testes de exercício cardiopulmonar.

À Vânia Hirakata, consultora em estatística do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pela orientação na análise estatística.

Aos pacientes e seus familiares, pela colaboração e consentimento na participação deste projeto.

Aos amigos Patrícia e Sérgio, Cristina e Eduardo, Berenice e Jorge, Márcia, Margareth, Michele, Angélica, Carla, Gustavo, Florence e Alexandre, pelo incentivo e carinho.

Aos colegas e amigos do Hospital Geral de Fortaleza e das UTI Cardiopulmonar e UTI Respiratória do Hospital de Messejana, que tão bem me acolheram e me apoiaram durante a finalização deste projeto.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
ABREVIATURAS.....	viii
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1.INTRODUÇÃO.....	1
1.1Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica	1
Definição.....	1
Epidemiologia.....	1
Fatores de risco.....	2
Diagnóstico e classificação de severidade... ..	3
Tratamento e fatores prognósticos.....	4
Exacerbações.....	6
1.2 DPOC e limitação ao exercício	7
Dispnéia.....	8
Hiperinsuflação dinâmica.....	8
Alterações musculares.....	9
1.3 Reabilitação Pulmonar na DPOC.....	11
Treinamento físico na RP.....	13
1.4 Inflamação na DPOC	14
1.5 Citocinas.....	16
Interleucina-1 β (IL-1 β).....	17
Interleucina-6 (IL-6).....	17
Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α).....	18
1.6 Efeitos do exercício físico sobre a produção de citocinas.....	19
2. JUSTIFICATIVA	22
3. OBJETIVOS.....	23
4. MATERIAL E MÉTODOS	24
5. RESULTADOS	33
6. DISCUSSÃO.....	52
7.CONCLUSÕES.....	59
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação da severidade da Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

Tabela 2 - Características antropométricas e funcionais pulmonares dos 18 pacientes que participaram do protocolo

Tabela 3 - Valores no primeiro teste de exercício cardiopulmonar

Tabela 4 - Valores no segundo teste de exercício cardiopulmonar

Tabela 5 - Resultados do primeiro teste de *endurance*

Tabela 6 - Resultados do segundo teste de *endurance*

Tabela 7 - Liberação de IL-1 β após os TE1 e TE2

Tabela 8 - Liberação de IL-6 após TE1 e TE2

Tabela 9 - Liberação de TNF- α após os TE1 e TE2

Tabela 10 - Liberação de citocinas nos pacientes exacerbados e estáveis após o teste de *endurance 2*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - **Protocolo do estudo.**

Figura 2 - **Liberação de IL-1 β nos pacientes participantes da reabilitação no primeiro teste de *endurance***

Figura 3 - **Liberação de IL-1 β nos pacientes participantes da reabilitação no segundo teste de *endurance***

Figura 4 - **Variação na liberação de IL-1 β nos pacientes participantes da reabilitação entre os testes de *endurance* 1 e 2**

Figura 5 - **Liberação de IL-1 β nos pacientes do grupo controle no primeiro teste de *endurance***

Figura 6 - **Liberação de IL-1 β nos pacientes do grupo controle no segundo teste de *endurance***

Figura 7 - **Variação na liberação de IL-1 β nos pacientes do grupo controle entre os testes de *endurance* 1 e 2**

Figura 8 - **Análise de variância da liberação de IL-1 β após o primeiro e o segundo teste de *endurance***

Figura 9 - **Análise de variância da Δ IL-1 β nos testes de *endurance* 1 e 2**

Figura 10 - **Liberação de IL-6 nos pacientes participantes da reabilitação no primeiro teste de *endurance***

Figura 11 - **Liberação de IL-6 nos pacientes participantes da reabilitação no segundo teste de *endurance***

Figura 12 - Variação na liberação de IL-6 nos pacientes participantes da reabilitação entre os testes de *endurance* 1 e 2

Figura 13 - Liberação de IL-6 nos pacientes do grupo controle no primeiro teste de *endurance*

Figura 14 - Liberação de IL-6 nos pacientes do grupo controle no segundo teste de *endurance*

Figura 15 - Variação na liberação de IL-6 nos pacientes do grupo controle entre os testes de *endurance* 1 e 2

Figura 16 - Análise de variância da liberação de IL-6 após o primeiro e o segundo teste de *endurance*

Figura 17 - Análise de variância da Δ IL-6 nos teste de *endurance* 1 e 2

Figura 18 - Liberação de TNF- α nos pacientes participantes da reabilitação no primeiro teste de *endurance*

Figura 19 - Liberação de TNF- α nos pacientes participantes da reabilitação no segundo teste de *endurance*

Figura 20 - Variação na liberação de TNF- α nos pacientes participantes da reabilitação entre os testes de *endurance* 1 e 2

Figura 21 - Correlação entre carga e IL-1 β

Figura 22 - Correlação entre carga e IL-6

ABREVIATURAS

AACVPR	<i>American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation</i>
ACCP	<i>American College of Chest Physicians</i>
ALAT	Associação Latino-Americana de Tórax
ATS	<i>American Thoracic Society</i>
BDI	<i>Basal dyspnea index</i>
bpm	Batimentos por minuto
cmH ₂ O	Centímetros de água
CNPq	Conselho Nacional de Pesquisa
CK	Creatininoquinase
CRF	Capacidade residual funcional
CVF	Capacidade vital forçada
CO ₂	Gás carbônico
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DP	Desvio padrão
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
EAO ₂	Espécies ativas do oxigênio
ELISA	<i>Sandwich enzyme-linked immunoassay</i>
ERS	<i>European Respiratory Society</i>
FC	Freqüência cardíaca
FIPE	Fundo de Incentivo à Pesquisa
GOLD	<i>Global Initiative for Chronic Obstrutive Lung Disease</i>
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HO	Hemeoxigenase
IC	Intervalo de confiança
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corporal
kDa	<i>Kilodalton</i>
kg	Quilograma
km/h	Quilômetros por hora
kpm.min ⁻¹	Kilopounds por minuto
m	Metros
mcg	Microgramas

ml	Mililitros
mm	Milímetros
mmHg	Milímetros de mercúrio
min	Minutos
MMII	Membros inferiores
MRC	<i>Medical Research Council</i>
mRNA	Ácido ribonucléico mensageiro
Mrpm	Movimentos respiratórios por minuto
nm	Nanômetros
OMS	Organização Mundial da Saúde
PA	Pressão arterial
PA diast	Pressão arterial diastólica
PA sist	Pressão arterial sistólica
PCR	Proteína C reativa
pg	Picogramas
Prev	Previsto
RER	Quociente respiratório
RP	Reabilitação pulmonar
SBPT	Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia
SpO ₂	Saturação de oxigênio
SpO ₂ mín	Saturação de oxigênio mínima
TC6min	Teste de caminhada de seis minutos
TE	Teste de <i>endurance</i>
TECP	Teste de exercício cardiopulmonar
TNF	Fator de necrose tumoral
VE	Ventilação máxima
VEF ₁	Volume expiratório forçado no primeiro segundo
VEF ₁ /CVF	Coeficiente expiratório forçado no primeiro segundo (índice de <i>Tiffenau</i>)
VO ₂	Consumo de oxigênio
VO ₂ máx	Consumo de oxigênio máximo

RESUMO

A atividade física intensa pode induzir resposta inflamatória subclínica e aumento nos níveis plasmáticos de citocinas pró-inflamatórias. O objetivo deste estudo foi avaliar a relação entre a liberação de citocinas (IL-1 β , IL-6, e TNF- α), o exercício físico agudo e o exercício regular em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC). Foram estudados 18 pacientes do sexo masculino com DPOC moderada a muito grave, divididos em dois grupos: 11 pacientes foram incluídos em programa de reabilitação pulmonar (RP) durante 8 semanas e 7 pacientes sem atividade física regular foram incluídos como grupo controle (C). Todos os pacientes realizaram espirometria, teste de exercício cardiopulmonar incremental máximo e teste de *endurance* em cicloergômetro com carga constante (60% da carga máxima do teste incremental) no início do projeto e após oito semanas. Foi coletado sangue venoso periférico para dosagem de citocinas, antes e 15 minutos após os testes de *endurance* (TE1 e TE2). IL-1 β , IL-6, e TNF- α foram dosadas com kits ELISA específicos (Quantikine[®], R&D Systems). Os pacientes submetidos à RP liberaram menos IL-1 β que os controles após o treinamento (RP: TE1 0,96 \pm 0,66; TE2 -0,24 \pm 0,27 pg/ml; grupo C: TE1 -1,48 \pm 1,14; TE2 0,66 \pm 0,61 pg/ml; $p=0,03$). Não houve diferença significativa na liberação de IL-6 quando comparados os dois testes de *endurance* (RP: TE1 0,44 \pm 1,21; TE2 0,80 \pm 1,24 pg/ml; grupo C: TE1 0,88 \pm 0,85; TE2 0,78 \pm 0,95 pg/ml; $p=0,68$). Não foi observada diferença na liberação de IL-6 entre os dois grupos. Apenas cinco pacientes (quatro no grupo da RP) liberaram TNF- α e o exercício não modificou o seu padrão de liberação (RP: TE1 2,86 \pm 1,18; TE2 2,57 \pm 1,37pg/ml; grupo C: TE1 4,98; TE2 6,84 pg/ml; $p=0,14$). Não houve associação significativa entre intensidade de exercício e liberação de citocinas (IL-1 β $r=0,10$; IL-6 $r=-0,23$). Houve maior liberação de IL-6 após o TE2 nos pacientes que apresentaram exacerbação da DPOC (exacerbados 9,59 \pm 1,32; estáveis 6,31 \pm 0,92 pg/ml; $p=0,03$) e não houve diferença nos níveis de IL-1 β . Apenas pacientes com exacerbação da DPOC liberaram TNF- α (2,82 \pm 1,48 pg/ml). Concluiu-se que o exercício físico regular reduz a liberação de IL-1 β e as exacerbações estimulam a liberação de IL-6 e TNF- α em pacientes com DPOC.

ABSTRACT

Intense physical activity is able to induce subclinical inflammatory response with elevated plasma levels of pro inflammatory cytokines. The purpose of this study was to evaluate the relationship between cytokine release (IL-1 β , IL-6, and TNF- α) and short-term exercise or long-term exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). We included eighteen male patients with moderate to very severe COPD: eleven patients were enrolled in an eight-week pulmonary rehabilitation (PR) program and seven sedentary patients were included as control group (C). All patients performed spirometry, maximal incremental exercise test and endurance cycle test (60% of maximal load of incremental cycle test) before and after PR. Blood samples were obtained at baseline and fifteen minutes after the endurance tests (ET1 and ET2). Plasma IL-1 β , IL-6 and TNF- α concentrations were measured by ELISA (Quantikine[®], R&D Systems). IL-1 β release was significantly lower in PR group after training (PR: ET1 0.96 \pm 0.66; ET2 -0.24 \pm 0.27 pg/ml; control group: ET1 -1.48 \pm 1.14; ET2 0.66 \pm 0.61; mean \pm SE; p=0.03). There were no differences in IL-6 release after training and comparing the two groups of patients (PR: ET1 0.44 \pm 1.21; ET2 0.80 \pm 1.24 pg/ml; control group: ET1 0.88 \pm 0.85; ET2 0.78 \pm 0.95; p=0.68). Only five patients (four in PR group) released TNF- α and exercise did not change TNF- α plasma concentrations (PR: ET1 2.86 \pm 1.18, ET2 2.57 \pm 1.37pg/ml; C: ET1 4.98, ET2 6.84 pg/ml; p=0.14). Exercise intensity was not associated with cytokine release (IL-1 β r=0.10; IL-6 r=-0.23). After training, patients with COPD exacerbation had higher significant IL-6 plasma levels (exacerbated 9.59 \pm 1.32, stable patients 6.31 \pm 0.92 pg/ml; p=0.03) and no differences in IL-1 β levels were observed. Only patients with COPD exacerbation released TNF- α (2.82 \pm 1.48 pg/ml). We concluded that regular exercise decreases IL-1 β release and COPD exacerbation stimulates IL-6 and TNF- α release.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

Definição

A Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) abrange pacientes portadores de bronquite crônica obstrutiva e enfisema pulmonar e se caracteriza pela presença de obstrução crônica ao fluxo aéreo, não totalmente reversível. Considera-se o tabagismo como causa primária da DPOC, sendo uma doença prevenível e tratável. A redução progressiva da capacidade ventilatória, relacionada à limitação ao fluxo aéreo, está associada a uma resposta inflamatória anormal dos pulmões a partículas ou gases inalados. A DPOC afeta, de maneira primária, os pulmões, com conseqüentes manifestações sistêmicas¹⁻⁴.

Epidemiologia

Nos últimos anos, observa-se um aumento na prevalência, morbidade e mortalidade por DPOC no mundo. A prevalência mundial varia bastante entre os países, de acordo com os critérios diagnósticos utilizados⁵⁻⁷. Os dados da Organização Mundial de Saúde e do Banco Mundial demonstram que a mortalidade por DPOC no sexo feminino dobrou nos últimos 20 anos^{3,5}.

A prevalência real da DPOC no Brasil não é conhecida. Estima-se que 12% dos adultos maiores de 40 anos sejam portadores da doença no nosso meio⁴. O estudo PLATINO estimou a prevalência de DPOC entre 6 e 15,8% na população adulta acima de 40 anos na cidade de São Paulo, dependendo do critério espirométrico utilizado, com maior prevalência observada se considerarmos a relação entre o volume expiratório forçado no primeiro segundo e a capacidade vital forçada menor que 70% do previsto ($VEF_1/CVF < 0,70$)⁸⁻¹¹. No Rio Grande do Sul existem poucos dados sobre prevalência geral da DPOC. No estudo de base

populacional de Menezes et al ¹², a prevalência de bronquite crônica na população adulta da cidade de Pelotas foi 12,5%, considerando o diagnóstico clínico.

A DPOC foi responsável por mais de 33.800 óbitos no Brasil em 2001, sendo a sexta causa de morte e atualmente ocupa entre a quarta e a sétima colocação. Nos últimos 20 anos, houve progressivo aumento na mortalidade por DPOC em ambos os sexos ¹³. A doença foi, em 2003, a quinta maior causa de internação de adultos com mais de 40 anos no sistema público de saúde, com gasto aproximado de 72 milhões de reais ^{1,13}. Não há estimativa confiável sobre as internações na rede hospitalar privada, bem como não há estimativa real sobre os gastos com o tratamento ambulatorial e os custos sociais relacionados à incapacidade e à mortalidade precoce no Brasil ¹³.

Fatores de risco

Os fatores de risco para o desenvolvimento da doença incluem fatores ambientais e relacionados ao hospedeiro. Os fatores de risco ambiental são o tabagismo e a inalação de poeiras e produtos químicos (irritantes e fumaças), através de exposição ocupacional ou à poluição intra e extradomiciliar ^{3-5,14,15}.

O maior fator de risco isolado para DPOC é a exposição à fumaça do tabaco. Os fumantes de cigarros têm maior morbimortalidade pela DPOC quando comparados com fumantes de charuto e cachimbo ¹⁶⁻¹⁹. A exposição passiva à fumaça do cigarro também aumenta o risco para o desenvolvimento da doença, pelo aumento do impacto de partículas e de gases inalados pelos pulmões ^{20,21}. A associação entre tabagismo e fatores genéticos modifica o risco individual para o desenvolvimento de DPOC, uma vez que nem todos os tabagistas manifestam a doença clinicamente ^{21,22}.

Os fatores relacionados ao hospedeiro incluem o fator genético, onde a deficiência hereditária de alfa-1-antitripsina é o mais conhecido e estudado ^{1-4,22,23}. Outros fatores genéticos também podem estar implicados na gênese da doença ²⁴. A hiperresponsividade brônquica é considerada fator de risco, porém a sua implicação no desenvolvimento da doença ainda não está bem estabelecida ²⁵. Acredita-se que ela se relacione com a exposição ambiental ^{13,14,18}. O crescimento pulmonar reduzido, pela exposição intra-uterina ao tabagismo, pela redução do peso ao

nascer e pelas exposições ambientais na infância, afeta a função pulmonar máxima medida pela espirometria e pode identificar indivíduos em risco para desenvolver a doença ^{22,23,26}. Infecções pulmonares graves na infância estão associadas com redução na função pulmonar ²². Não está claro o papel do padrão socioeconômico como fator de risco para DPOC. Acredita-se que o risco de desenvolvimento da doença seja inversamente proporcional à situação socioeconômica, provavelmente relacionado às condições do ambiente domiciliar e de nutrição do indivíduo ^{3,4, 8,27}.

O gênero não está bem estabelecido como fator de risco isolado para a doença. No estudo Platino, a prevalência de DPOC na cidade de São Paulo foi 14% em mulheres e 18% em homens ⁸, o que não era observado em décadas passadas, onde os homens sempre foram mais acometidos. O aumento no consumo de tabaco pelas mulheres após a década de 70 pode explicar em parte este fenômeno ¹⁸. Também é sugerido que as mulheres sejam mais suscetíveis ao efeito nocivo da fumaça do tabaco ^{17,18}, porém a real implicação deste fator na gênese da doença permanece desconhecida. No Chile, México e Uruguai, a prevalência no sexo masculino é em média duas vezes maior que a prevalência no sexo feminino ^{9,10}.

No estudo Platino foi observado que a DPOC é mais prevalente em homens, idosos, com menor grau de escolaridade, menor índice de massa corpórea, maior exposição à fumaça do cigarro e na população de cor branca ^{8,9}.

Diagnóstico e classificação de severidade

A tosse crônica é o primeiro e o mais freqüente sintoma naqueles pacientes com predomínio de bronquite crônica. Alguns fumantes subestimam a tosse como sintoma da doença. A tosse, no início, manifesta-se de maneira intermitente, tornando-se diária e podendo vir acompanhada de expectoração em pequena quantidade, principalmente no período matinal ¹⁻⁴. A dispnéia é o principal sintoma que leva o indivíduo ao médico e pode ser a primeira manifestação clínica da doença nos casos com predomínio de enfisema pulmonar. É o sintoma relacionado com a limitação da capacidade física e das atividades da vida diária, com a redução da qualidade de vida e com a incapacidade relacionada à doença ²⁷⁻³⁰. A dispnéia é progressiva, persistente, piora com a atividade física e com as exacerbações infecciosas ³¹. A limitação da atividade física leva a um menor condicionamento

muscular e anaerobiose cada vez mais precoce^{1,32-34}. Outros sintomas inespecíficos são a sibilância e a opressão torácica¹⁻⁴.

Suspeita-se da doença na existência de fator de risco, associado ou não a sintomas, sendo o diagnóstico confirmado pela medida objetiva da obstrução ao fluxo aéreo através da espirometria com prova farmacodinâmica³⁵. O diagnóstico baseia-se na observação da relação do volume expiratório forçado no primeiro segundo sobre a capacidade vital forçada (VEF₁/CVF) menor ou igual a 0,70 e a classificação da severidade da doença é feita através do VEF₁, ambos obtidos através da espirometria após administração de broncodilatador inalatório (Tabela 1)¹⁻⁴.

Tabela 1 – Classificação da severidade da Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

SEVERIDADE	ATS/ERS ¹		GOLD ³		SBPT ⁴	
	VEF1	VEF1/CVF	VEF1	VEF1/CVF	VEF1	VEF1/CVF
em risco	≥ 80	>0,7	≥ 80	>0,7	≥ 80	>0,7
Leve / estágio I	≥ 80	≤ 0,7	≥ 80	< 0,7	≥ 80	< 0,7
Moderado /estágio II	50-80	≤ 0,7	30-80	< 0,7	50-80	< 0,7
Grave / estágio III	30-50	≤ 0,7	<30	< 0,7	30-50	< 0,7
Muito grave / est. IV	< 30	≤ 0,7	-	-	< 30	< 0,7

ATS: American Thoracic Society; ERS: European Respiratory Society; GOLD: Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease; SBPT: Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia; VEF₁: % do valor previsto; VEF₁/CVF: relação entre valor do VEF₁ e CVF

Tratamento e fatores prognósticos

O tratamento fundamental da DPOC consiste em reduzir a exposição à fumaça do tabaco e à poluição ambiental. A cessação do tabagismo é uma medida efetiva em reduzir o risco e a progressão da doença^{1-4,19,36}.

O tratamento farmacológico da DPOC visa o controle sintomático, já que nenhuma das medicações atualmente utilizadas de rotina para o controle da doença mostrou-se capaz de impedir o declínio funcional pulmonar a longo prazo¹⁻⁴. O principal mecanismo de ação dos fármacos para DPOC é a broncodilatação, e a via inalatória é a preferida. Os principais broncodilatadores são os beta₂ agonistas inalatórios de curta ou longa ação, os anticolinérgicos inalatórios de curta ou longa ação e as xantinas (uso oral ou intravenoso)³⁷⁻⁴³.

O uso de antiinflamatórios como os corticóides inalatórios não modifica o declínio da função pulmonar ao longo prazo e está indicado apenas em casos selecionados. Os pacientes que se beneficiam são pacientes sintomáticos que apresentam resposta espirométrica ao uso do corticóide, com documentação espirométrica antes e após curso de corticóide inalatório ou oral, com melhora significativa dos valores do VEF₁ após o corticóide (> 200ml e 15% do valor inicial)^{1,3,4}, e os pacientes com DPOC grave (VEF₁ < 50% previsto) e exacerbações freqüentes⁴⁴⁻⁴⁹. O tratamento com corticóides orais está indicado apenas por curtos períodos durante as exacerbações, não sendo recomendado por tempo prolongado^{1,3,4,50-52}.

Os pacientes com DPOC grave ou estágio III (GOLD)³ e com insuficiência respiratória crônica, estabelecida pela mensuração dos gases arteriais através de gasometria arterial, beneficiam-se com o uso de oxigenoterapia prolongada (mais de 15 horas por dia, diariamente), uma intervenção capaz de prolongar a sobrevida^{53,54}. O tratamento cirúrgico da DPOC está reservado para casos selecionados e inclui a bulectomia, a redução de volume pulmonar através de broncoscopia ou cirurgia e o transplante pulmonar⁵⁵⁻⁵⁷.

A avaliação e o acompanhamento nutricional são recomendados na DPOC. O estado nutricional pode ser avaliado através de medidas simples como o peso corporal, o cálculo do índice de massa corpórea (IMC), a determinação da espessura da prega cutânea braquial (reflete a massa magra, relacionada à porcentagem de massa muscular) ou através da utilização de métodos e equipamentos mais complexos. A perda de peso e a depleção da massa muscular podem ser observadas mesmo em pacientes com DPOC estável e associam-se com aumento da morbidade e da incapacidade e com risco aumentado de mortalidade^{33,58,59}. O mecanismo da perda ponderal (perda de tecido adiposo) sugere a liberação de mediadores inflamatórios e está relacionado com balanço negativo entre a ingestão e o gasto calórico (hipermetabolismo). A perda de massa muscular relaciona-se com o desequilíbrio entre a síntese e o consumo protéico⁵⁸⁻⁶⁰. A terapia nutricional isolada não mostrou benefício e deve ser combinada com programas de exercícios físicos para fortalecimento muscular^{1,3,4,61}.

A piora sintomática e funcional leva ao prejuízo da qualidade de vida e à incapacidade, com repercussão nas atividades da vida diária e no trabalho. Celli et al³³ elaboraram um escore prognóstico para DPOC chamado índice BODE, que

avalia o aspecto nutricional (IMC), o grau de obstrução ao fluxo aéreo (VEF₁), a dispnéia (escala *Medical Research Council* - MRC) e a capacidade de exercício (distância caminhada no teste de caminhada de seis minutos – TC6min). Este índice mostrou uma melhor correlação com a sobrevida em relação à medida isolada do VEF₁, predizendo o risco de morte por causas respiratórias e não respiratórias nos pacientes com DPOC.

Todos os pacientes sintomáticos com DPOC têm benefício com programas de treinamento físico e de reabilitação pulmonar. Os benefícios da reabilitação pulmonar estão bem determinados e seus principais resultados são a melhora na qualidade de vida e na tolerância ao exercício e a diminuição dos sintomas^{1-4, 62-71}.

Recentemente, Casanova et al⁷² sugeriram que a hiperinsuflação pulmonar, medida através da relação da capacidade inspiratória com a capacidade pulmonar total (CI/CPT), é um preditor de mortalidade por causas respiratórias e não respiratórias na DPOC. Esta relação foi comparada com o índice de BODE³³ e mostrou-se um fator de risco independente para óbito na DPOC. Os pacientes que morreram apresentavam maior índice de BODE, idade mais avançada, mais dispnéia, comorbidades, menores IMC, VEF₁ e CI/CPT e caminhavam menos no TC6min.

Exacerbações

Considera-se exacerbação da DPOC quando ocorre intensificação na sintomatologia durante o curso natural da doença^{1,3,4}. A exacerbação é caracterizada por uma piora sintomática capaz de modificar o manejo da DPOC.

As exacerbações podem ser infecciosas (virais ou bacterianas) e não infecciosas (tromboembolismo pulmonar; pneumotórax; isquemia, arritmia ou insuficiência cardíaca; uso de sedativos ou outros fármacos). A infecção respiratória é a causa mais comum de exacerbação da DPOC e o sintoma principal da exacerbação é a intensificação da dispnéia. Pode ocorrer sibilância, opressão torácica e aumento da tosse e da expectoração. A exacerbação usualmente se acompanha de diminuição na tolerância ao exercício. A alteração no volume e na coloração do escarro, assim como febre podem indicar infecção bacteriana associada^{1,3,4}. As bactérias mais prevalentes são *Haemophilus influenzae*,

Streptococcus pneumoniae e *Moraxella catarrhalis*. A *Pseudomonas aeruginosa* deve ser considerada nos pacientes com DPOC grave ou muito grave. Existe correlação entre o estágio da doença e o agente etiológico da infecção ⁴.

Vários fatores devem ser considerados na avaliação do paciente com exacerbação, como a severidade da DPOC, a presença de co-morbidades e o histórico de exacerbações anteriores. A avaliação clínica e os exames complementares a serem realizados dependerão da gravidade da exacerbação. Não existe uma classificação de consenso para as exacerbações. Uma classificação operacional de severidade, descrita no consenso da ATS/ERS ¹, pode ajudar a estabelecer a relevância clínica e o manejo da exacerbação. No nível I, os pacientes poderiam ser tratados em casa. No nível II estariam as exacerbações que requerem admissão hospitalar e no nível III, as mais graves, que determinam insuficiência respiratória.

Para o alívio da dispnéia durante as exacerbações são utilizadas as mesmas medicações usadas na DPOC estável. Entretanto, o uso do broncodilatador deve ser intensificado, preferentemente por via inalatória. O tratamento com antibióticos pode ser necessário e o agente etiológico da infecção deve ser pesquisado sempre que possível. Antibióticos sempre são recomendados nos pacientes com coloração purulenta do escarro e na DPOC estágio III e IV (GOLD) ³, exceto se houver causa identificada de exacerbação não infecciosa ^{1,3,4}. O uso de corticóides orais pode ser necessário por curtos períodos, não mais do que 14 dias, reduzindo a falha terapêutica, o tempo de hospitalização e determinando melhora mais rápida no VEF₁ e na gasometria arterial ⁵⁰⁻⁵².

O paciente deve ser reavaliado, no máximo em 4 a 6 semanas, após a exacerbação. Devem ser revistos os sintomas, a avaliação clínica e o tratamento, o plano de vacinação contra gripe e contra pneumococo, os aspectos psicossociais e a prevenção de exacerbações futuras.

1.2 DPOC e limitação ao exercício

Os pacientes portadores de DPOC limitam, de maneira progressiva, as suas atividades físicas. A dispnéia é o principal sintoma limitante e correlaciona-se com a

perda da função pulmonar. Os mecanismos da limitação funcional são complexos e incluem a disfunção na mecânica pulmonar e o aumento da resistência da via aérea, a fraqueza dos músculos respiratórios e da musculatura esquelética, a posição do diafragma, o uso da musculatura acessória da respiração, as alterações nas trocas gasosas e a inflamação sistêmica. O comprometimento nutricional e as manifestações sistêmicas da doença (principalmente o cor pulmonale) também contribuem para o descondicionamento físico e a progressiva inatividade⁶²⁻⁶⁴.

Dispneia

A dispnéia durante o exercício está associada com a redução da capacidade difusional pulmonar, as trocas gasosas alteradas, o aumento do espaço morto e a redução do volume de ar corrente^{73,74}. A diminuição da capacidade de exercício leva à inatividade e conseqüente perda de condicionamento físico, gerando um ciclo vicioso de sedentarismo (quanto menor a atividade, menor o condicionamento, maior é a dispnéia durante o esforço, favorecendo a inatividade). A dispnéia é progressiva, levando a limitação das atividades de vida diária e piora na qualidade de vida^{27,75}.

A percepção da dispnéia varia entre pacientes com o mesmo grau de obstrução e é influenciada por fatores psicossociais^{75,76}. Pode ser medida através de questionários padronizados, como o *Medical Research Council (MRC)* ou o *Basal Dyspnea Index (BDI)*, ou de escalas, como a escala de Borg modificada⁷⁷⁻⁷⁹. A dispnéia é um fator prognóstico independente e sua medida sistemática auxilia no acompanhamento dos pacientes portadores de DPOC²⁸.

Hiperinsuflação dinâmica

As alterações na mecânica pulmonar ocorrem com a progressão da doença, causando aumento do espaço morto e redução do volume de ar corrente, com aumento da capacidade residual funcional (CRF)⁷². Os mecanismos fisiopatológicos envolvidos estão relacionados com a limitação ao fluxo aéreo.

É bem estabelecido o processo de inflamação crônica nas vias aéreas centrais e periféricas^{80,81}. Nas pequenas vias aéreas (brônquios com diâmetro

interno menor que 2 mm e bronquíolos), a inflamação crônica desencadeia ciclos repetidos de lesão e cicatrização da parede destas vias, com conseqüente remodelamento estrutural por formação de colágeno e tecido cicatricial, com redução da luz brônquica. O remodelamento brônquico causa obstrução fixa e aumento da resistência da via aérea ⁸¹. A destruição das paredes alveolares, como o enfisema centro-lobular, ocasiona perda da retração elástica pulmonar e altera a permeabilidade das pequenas vias aéreas ⁸². A perda da retração elástica ocasiona aumento nos volumes pulmonares e na CRF. O esvaziamento pulmonar é retardado e a expiração é incompleta, ocasionando a hiperinsuflação dinâmica ^{82,83}.

A CRF aumentada prejudica a função normal do diafragma e da musculatura respiratória acessória, causando aumento do trabalho muscular por incoordenação mecânica. Isto gera um maior gasto energético e uma diminuição da eficiência do trabalho muscular ⁸³. O resultado é o aparecimento da dispnéia.

Alterações musculares

A disfunção muscular esquelética contribui para a intolerância ao exercício na DPOC. A inatividade prolongada ocasiona diminuição da capacidade aeróbica por alterações bioquímicas da musculatura esquelética, redução do volume cardíaco sistólico, modificações bioquímicas sanguíneas e musculares e alterações na função endócrina. A acidose láctica pode ocorrer com esforços muito pequenos nos pacientes com DPOC ^{72-74,84}.

Estudos descrevem diminuição das fibras musculares de tipo I e aumento nas fibras tipo II do quadríceps de portadores de DPOC quando comparados com indivíduos saudáveis ⁸⁵. O mesmo não foi observado nos membros superiores, porém os portadores de DPOC apresentaram fibras musculares tipo I e II do bíceps com diâmetro menor em relação ao grupo controle e houve correlação com a perda ponderal e diminuição no VEF₁ ^{86,87}. Estes achados estão relacionados com prejuízo à função aeróbica muscular. A redução da massa muscular (massa magra) contribui para a menor tolerância ao exercício e é decorrência da perda de peso, porém também pode ser observada em pacientes com o peso estável ^{58,88}. A diminuição da massa muscular causa fraqueza da musculatura de membros inferiores, documentada por diminuição de 20 a 30% da força do quadríceps em portadores de

DPOC quando comparados aos controles. Não há modificação significativa em relação aos membros superiores, o que pode estar relacionado a maior utilização da musculatura dos braços e da cintura escapular no desempenho das atividades da vida diária ⁸⁹⁻⁹¹.

Portadores de DPOC moderada e grave apresentam um limiar de fadiga muscular reduzido, devido à diminuição da capacidade dos músculos respiratórios em manter um nível de ventilação suficiente para assegurar o transporte de oxigênio e uma ventilação alveolar normal, a qual pode comprometer a eliminação adequada do CO₂ e acidose láctica. Maltais et al ^{92,93} descreveram aumento na concentração sérica de ácido láctico durante exercícios com carga submáxima. A acidose láctica não altera o transporte de oxigênio para a musculatura dos membros inferiores ⁹³.

A relação entre o consumo máximo de oxigênio para um treinamento com carga submáxima em portadores de DPOC foi semelhante ao observado nos indivíduos sedentários saudáveis. Ocorreu diminuição no consumo máximo de oxigênio em exercícios com carga menor, resultando num pior desempenho ao exercício ^{94,95}. A extração do oxigênio no sistema capilar muscular é retardada em relação ao seu consumo aumentado na fase inicial do exercício aeróbico, demonstrando um retardo da oferta de O₂ causada pela função aeróbica prejudicada ⁹⁶.

A fraqueza da musculatura esquelética e respiratória pode estar relacionada a mecanismos hormonais como redução nos níveis de testosterona e seus derivados ⁹⁷. O balanço eletrolítico, com diminuição dos níveis séricos de potássio e fosfato contribuem para a miopatia do DPOC ⁹⁸.

O estresse oxidativo é definido como uma alteração no equilíbrio entre fatores pró-oxidantes e antioxidantes, favorecendo os primeiros e formando espécies ativas do oxigênio (EAO₂ ou radicais livres do oxigênio). As EAO₂ são substâncias reativas que atacam as estruturas protéicas, lipídicas e o DNA, resultando em danos na membrana celular, modificação de proteínas, desativação de atividades enzimáticas, quebra do DNA e modificação de bases. Evidências sugerem um aumento do estresse oxidativo na DPOC estável ⁹⁸. Alterações inflamatórias podem estar envolvidas neste processo ⁹⁹. O estresse oxidativo pode induzir disfunção muscular esquelética e é implicado como um dos fatores responsáveis pela intolerância ao esforço no DPOC ^{94,100,101}. Por outro lado, Couillard et al ¹⁰² sugeriram que o

exercício físico na DPOC resulta em aumento no estresse oxidativo muscular esquelético.

A hipótese de que o estresse oxidativo induzido pelo exercício pode, por sua vez, desencadear uma resposta inflamatória anormal ao exercício na DPOC não foi confirmada. Em um estudo comparando a liberação de mediadores inflamatórios (citocinas) e marcadores de estresse oxidativo (EAO₂) em repouso e após o exercício de *endurance* de quadríceps em pacientes portadores de DPOC e controles, foi observado um aumento destas substâncias em repouso nos pacientes com DPOC, sugerindo estresse oxidativo e inflamação sistêmica. Houve aumento nos níveis de EAO₂ plasmáticas nos dois grupos seis horas após o exercício, demonstrando estresse oxidativo induzido pelo exercício. Porém, os níveis de mediadores inflamatórios após o exercício permaneceram constantes em ambos os grupos, sugerindo que o exercício não induz a piora da inflamação na DPOC ¹⁰³. Portanto, a interação entre a inflamação sistêmica e o estresse oxidativo contribui, de maneira ainda não bem estabelecida, para a intolerância ao exercício, inatividade e descondicionamento físico nos pacientes com DPOC.

1.3 Reabilitação pulmonar na DPOC

Embora os benefícios do exercício físico sobre a função pulmonar nos pacientes com DPOC sejam limitados, os estudos mostram que a reabilitação pulmonar bem sucedida exerce efeitos positivos e profundos sobre a capacidade física, aprimoramento funcional dos músculos respiratórios, disposição psicológica, melhora da auto-estima e melhora em inúmeras variáveis relacionadas à qualidade de vida. Com a reabilitação é possível melhorar os sintomas, principalmente a dispnéia, e reduzir a frequência e a gravidade das exacerbações nesses pacientes. Os benefícios da reabilitação pulmonar são mantidos mesmo após um único programa ^{1,62-70}.

De acordo com o consenso de reabilitação pulmonar da American Thoracic Society (ATS 1999) ⁶³, a reabilitação pulmonar é definida como um programa multidisciplinar de cuidados para pacientes com comprometimento respiratório crônico, que deve ser individualizado para otimizar a performance física e social e a

autonomia. O *National Institute of Health (NIH)* ⁶⁸ define a RP como um serviço contínuo multidisciplinar para portadores de doença respiratória e seus familiares, aplicado por um grupo de especialistas, com objetivo de atingir e manter o nível máximo de independência e atividade na comunidade.

Troosters et al ⁶² publicaram recentemente uma revisão sobre reabilitação pulmonar na DPOC, afirmando que os efeitos na melhora da qualidade de vida e da tolerância ao exercício após a RP são superiores aos observados em qualquer outra intervenção disponível atualmente para a DPOC. É recomendado que a RP faça parte de um programa terapêutico amplo, que inclui otimização do tratamento médico e opções de terapias não-farmacológicas. Os objetivos da RP são a redução de sintomas, a melhora na realização das atividades da vida diária e na qualidade de vida, recuperando o melhor nível de autonomia possível neste grupo de pacientes. Os programas de RP devem ser organizados para atendimento individualizado e multidisciplinar. Os diferentes componentes dos programas visam melhora física e psicológica dos pacientes e de sua interação com o meio em que vivem; aquisição de conhecimentos sobre a doença e melhora no auto cuidado.

Os programas de reabilitação pulmonar incluem treinamento físico, educação sobre a doença, avaliação e acompanhamento psicológico e comportamental e avaliação e terapia nutricional. Existem inúmeros centros de referência para reabilitação pulmonar e os programas diferem na duração, na intensidade dos exercícios e nos critérios para avaliação dos resultados ^{64,104-110}. Os programas de reabilitação pulmonar podem incluir pacientes ambulatoriais, hospitalizados ou ambos. A duração do treinamento físico é variada (dias a meses) e programas com pacientes ambulatoriais, de 6 a 12 semanas são os que demonstraram melhores resultados ^{62,106-109}. O exercício físico deve incluir treinamento aeróbico e de resistência, para extremidades inferiores e superiores. Após o término do programa, os pacientes são reavaliados de acordo com os critérios definidos em cada centro ^{62-71,104-110}.

A reabilitação pulmonar deve ser considerada para pacientes sintomáticos, com tolerância reduzida ao exercício e com limitação das atividades de vida diária pela doença (principalmente dispnéia e fadiga ao esforço) ^{1-4,62-69}. Não há um critério específico de função pulmonar para indicar a inclusão no programa. Os pacientes candidatos à reabilitação pulmonar devem passar por avaliação médica detalhada, que inclui exame clínico, espirometria, avaliação da capacidade de exercício,

avaliação do estado de saúde e qualidade de vida. Os critérios de exclusão são condições que interfiram no processo de reabilitação ou que apresentem risco ou limitem a prática de exercício. O paciente deve estar com a DPOC estável, sem exacerbação e com tratamento farmacológico adequado e otimizado. Co-morbidades como doenças articulares ou ortopédicas avançadas, déficits neurológicos de extremidades que impeçam o movimento, doença psiquiátrica grave e incapacidade cognitiva são contra-indicações formais. Doenças cardíacas agudas ou não controladas, como angina instável, infarto agudo do miocárdio recente ou hipertensão arterial sistêmica grave devem inicialmente ser compensadas para posterior inclusão do paciente no programa. Pacientes pouco motivados não são bons candidatos ao programa, embora o grau de motivação possa mudar durante as sessões. A inclusão de pacientes tabagistas ativos é controversa, alguns autores sugerem a inclusão do paciente em programas de cessação do tabagismo antes de serem reabilitados ^{62-69,104-110}.

Alguns centros mantêm um programa de seguimento pós-reabilitação, com acompanhamento dos pacientes a longo prazo ^{104,105,109,110}. Podem ser realizadas reavaliações periódicas e sessões educacionais para reforço das orientações e encontro dos pacientes que já realizaram o programa. Os pacientes são estimulados a manter atividade física regular após a reabilitação, prescrita de acordo com a necessidade e rotina de cada indivíduo ^{62-68,70}.

Treinamento físico na reabilitação pulmonar

O treinamento físico faz parte de todos os programas de RP e é a intervenção mais validada, determinando melhora na capacidade de exercício e redução da dispnéia e da fadiga (evidência A) ^{62-71,104-110}. São utilizados testes incremental ⁸⁷ ou de *endurance* (carga constante) em cicloergômetro ou em esteira para avaliar a tolerância ao exercício ^{62,105,106,109}. Diversos parâmetros são avaliados, incluindo frequência cardíaca máxima, carga de trabalho, o consumo de oxigênio máximo (VO₂ máx) e o limiar anaeróbio (LA) ^{62,105-106}. Outro instrumento validado para determinar a capacidade de exercício é o teste da caminhada de seis minutos (TC6min), de fácil execução e com boa correlação com a habilidade do paciente para executar as atividades de vida diária ^{62,111,112}. O *shuttle test* (teste de

caminhada graduada) é considerado um teste incremental, com excelente reprodutibilidade ¹¹³. É aplicada uma escala de dispnéia (Borg modificado) para avaliar a dispnéia ou a fadiga de membros inferiores, determinando a intensidade de exercício ^{79,114}.

O treinamento de *endurance*, onde os períodos de exercício são sustentados durante 20 a 30 minutos, faz parte da maioria dos programas de reabilitação pulmonar. Os exercícios com moderada a alta intensidade (60-80% da carga máxima de trabalho, acima do LA) são mais efetivos que os executados com baixa intensidade (30% da carga máxima de trabalho) ^{84,93}. A frequência cardíaca (FC) é outro parâmetro que avalia a intensidade do treinamento, sendo mais utilizada uma FC alvo entre 60-90% da FC máxima ^{54,93,115}. Entretanto, muitas vezes a intensidade do treinamento nos pacientes com DPOC é determinada pela presença de sintomas.

Alguns programas de RP incluem treinamento de membros superiores, com uso de halteres ou cicloergômetro para braço, já que estes grupos musculares são utilizadas em várias atividades da vida diária, determinando melhora na tolerância ao exercício com os braços por aumento da resistência muscular dos mesmos ^{64,116,117}. Também são bem tolerados testes de força e potência muscular periférica. A combinação dos exercícios é uma estratégia válida para a melhora da capacidade de exercício e diminuição dos sintomas ¹¹⁸. O treinamento dos músculos respiratórios está indicado nos pacientes que apresentam fraqueza muscular respiratória (pressão inspiratória máxima ≤ 60 cmH₂O) e deve ser incluído na reabilitação pulmonar, para melhorar força e *endurance* dos mesmos, reduzindo a dispnéia e aumentando a tolerância ao exercício ¹¹⁹.

1.4 Inflamação na DPOC

O mecanismo fisiopatológico principal da DPOC é a inflamação crônica das vias aéreas, parênquima e sistema vascular pulmonar. Uma hipótese defendida é que a inflamação pode ser causada diretamente pela agressão do tabagismo ao epitélio da via aérea ou pela liberação exagerada de espécies ativas do oxigênio (EAO₂) pelos leucócitos presentes no espaço aéreo. O aumento nas substâncias oxidantes não é contrabalanceado de maneira adequada pelas defesas

antioxidantes pulmonares, resultando em estresse oxidativo. O aumento de produtos da peroxidação lipídica ativa a expressão de genes pró-inflamatórios, a liberação de proteínas (principalmente a proteína C reativa), a inativação de antiproteases e a liberação de novas EAO₂ causando lesão tecidual. A glutatona e suas enzimas redutoras são o principal sistema de proteção antioxidante presente no pulmão^{99,103,120-122}. Estudos *in vitro* mostraram diminuição dessa substância em células pulmonares expostas à fumaça do cigarro¹²³. As alterações nos níveis de glutatona decorrem da inibição, pelo tabaco, da enzima para sua produção, a gamaglutamilcisteína sintetase. A regulação do gene desta enzima tem relação com o fator ativador da proteína 1¹²⁴.

As células implicadas na inflamação crônica da DPOC são linfócitos T (predominando o linfócito CD8+), macrófagos e neutrófilos. A ativação destas células desencadeia a liberação de mediadores inflamatórios, principalmente leucotrieno LTB₄, interleucina-6, interleucina-8 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)¹²⁵⁻¹²⁹. Os pacientes com DPOC estável apresentam concentrações pulmonares aumentadas de IL-8 e TNF- α , que atraem um número aumentado de neutrófilos ativados para as vias aéreas¹²¹. Os fatores de transcrição para os genes destas citocinas, como o fator ativador da proteína 1 e o fator nuclear KB, são sensíveis à oxidação¹³⁰.

O aumento de citocinas e de células inflamatórias, no lavado broncoalveolar (LBA) e em fragmentos teciduais obtidos através de biópsias transbrônquicas, foi observado nas exacerbações da doença^{120,131}. Em adicional, a frequência das exacerbações está diretamente relacionada com a severidade da doença e, em consequência, com a inflamação crônica persistente das vias aéreas^{132,133}. Hurst e colaboradores¹³² descreveram que o grau de inflamação sistêmica durante uma exacerbação da DPOC está relacionado com o grau de inflamação celular do trato respiratório inferior e a presença de bactérias potencialmente patogênicas no escarro. No mesmo estudo foi demonstrado que na exacerbação da DPOC ocorre inflamação de toda a via aérea (superior e inferior). Foi descrita associação entre a inflamação neutrofílica da via respiratória inferior e a resposta inflamatória sistêmica à exacerbação da DPOC, isto é, foi observada correlação significativa entre contagem de leucócitos e nível de IL-8 no escarro e as concentrações séricas de IL-6 e da proteína C reativa (PCR). A concentração sérica de IL-6 foi maior nos pacientes que apresentaram exacerbação da DPOC quando comparados com os

pacientes estáveis e associou-se positivamente com o grau de inflamação do trato respiratório inferior ¹³².

Vários autores pesquisaram os mediadores inflamatórios no sangue, escarro, LBA e fragmentos de tecido para compreensão dos mecanismos da inflamação na DPOC ^{125,126,134-138}. Uma das hipóteses atualmente aceita para a patogênese da DPOC sugere que o estresse oxidativo e a inflamação crônica estão interligados, porém esta relação ainda não é conhecida ^{120,127-136}. O TNF- α reduz os níveis intracelulares de glutathiona e junto com a IL-6 e a IL-8, estimula a produção mitocondrial de espécies ativas do oxigênio. Os neutrófilos também são fontes de EAO₂ ^{120,132}.

Sabe-se que os portadores de DPOC apresentam níveis elevados de PCR, porém seu mecanismo ainda não está estabelecido, podendo estar relacionado diretamente à inflamação sistêmica da doença ou ser secundário a outros fatores ^{132,137,138}. Celli et al ¹³⁸, em recente estudo, não encontraram correlação entre níveis elevados de PCR na DPOC e doença isquêmica do coração ou tabagismo. Acredita-se atualmente que esta proteína seja um marcador sistêmico do processo inflamatório da doença ^{137,138}.

1.5 Citocinas

As citocinas são proteínas solúveis, secretadas por células do sistema imunológico, com função de atuar na regulação da resposta imune. Algumas citocinas e proteínas de fase aguda séricas servem como marcadores sistêmicos de inflamação ¹³⁹. As citocinas podem ter ação pró ou antiinflamatórias.

As citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), participam da resposta inflamatória através de reações em cascata, pelo estímulo ao eixo hipotálamo-hipófise–adrenal. A secreção de hormônio glicocorticóide pela adrenal em situações de estresse, por sua vez, inibe o processo inflamatório e a produção de citocinas, por um mecanismo auto limitado de retroregulação neuroendócrina e imune ¹⁴⁰.

Interleucina-1

A interleucina-1 inclui duas proteínas distintas – a IL-1 α e a IL-1 β . A IL-1 β humana é sintetizada como uma proteína precursora, com cadeia de 269 aminoácidos e 31kDa (pré pró IL-1 β), clivada por uma enzima conversora de IL-1 β em IL-1 β madura, com 153 aminoácidos e 17 kDa e um pró segmento¹⁴⁰. A IL-1 β é produzida, de maneira primária, por monócitos e macrófagos, mas também por células nervosas da glia e neurônios, células adrenais, células endoteliais, megacariócitos e plaquetas, linfócitos T, neutrófilos, osteoblastos e fibroblastos. A sua função mais conhecida é o início do processo inflamatório e sua liberação é induzida pela presença de endotoxinas bacterianas ou substâncias inflamatórias não microbianas^{141,142}. A IL-1 induz secreção de quimiotáticos pelas células do endotélio capilar e aumenta a expressão de moléculas de adesão celular, facilitando o recrutamento de mononucleares e estimulando a secreção de interferon gama e a ativação de macrófagos¹⁴³. Outra função é a expressão de metaloproteinases, causando degradação da matriz extracelular e migração de monócitos. Em adicional, a IL-1 está associada à formação e remodelamento ósseo, regulação do apetite, secreção de insulina, indução de febre e à fisiologia do hormônio do crescimento. A ação da IL-1 β é mediada por receptores proteicos específicos, com expressão na superfície celular^{143,144}.

Interleucina-6

A IL-6 é considerada uma citocina endócrina, com secreção durante o sono e regulação pelo ciclo circadiano. É uma proteína multifuncional, com 184 aminoácidos e 21 kDa, produzida por células T, monócitos e macrófagos, fibroblastos, hepatócitos, células endoteliais e por algumas células tumorais¹⁴⁵. A produção de IL-6 é regulada por estimulação antigênica, IL-1, fator de necrose tumoral, vírus e outros^{140,145}. É um dos principais estímulos ao eixo hipotalâmico durante o processo inflamatório e a resposta imune e influencia o metabolismo intermediário¹⁴⁶⁻¹⁴⁸. A IL-6 age estimulando a secreção de anticorpos pelas células B e a produção de IL-2 pelas células T. Exibe atividade como fator de crescimento para células tímicas maduras e linfócitos T periféricos. Também estimula a produção

de proteínas de fase aguda da inflamação pelos hepatócitos e tem atividade estimuladora de colônias das células tronco hematopoiéticas. A IL-6 tem atividade como fator de crescimento de células de alguns tumores (mieloma e leucemia mielóide). Níveis séricos aumentados de IL-6 foram descritos em associação a várias doenças autoimunes e neoplasias ¹⁴⁶⁻¹⁴⁹.

Fator de necrose tumoral alfa

O fator de necrose tumoral alfa e o fator de necrose tumoral beta são duas proteínas com íntima relação, que se ligam aos mesmos receptores da superfície celular e produzem efeitos similares, porém não idênticos. Apesar da semelhança nas ações, a regulação da expressão dos dois fatores é diferente. O TNF- α , composto por 157 aminoácidos, com 17 kDa, é produzido por neutrófilos, linfócitos T e B ativados, células *natural killers*, células endoteliais e células musculares ^{140,141,148,150,151}. O TNF- β é produzido por linfócitos. Foram identificados dois receptores específicos, distintos de maneira imunológica, com alta afinidade para TNF- α e TNF- β . Acredita-se que os domínios intracelulares de cada receptor não se correlacionam e que cada um dos receptores utilize uma via distinta de transdução de sinal ^{150,151}. Os dois fatores de necrose tumoral são pleiotróficos, sendo capazes de ativarem múltiplas vias de transdução de sinal, induzir ou suprimir a expressão de vários genes, fatores de transcrição, receptores, mediadores inflamatórios e proteínas de fase aguda ¹⁵². Atuam na resistência do hospedeiro à infecção e ao desenvolvimento de tumores malignos, servindo como imunoestimulantes e mediadores da resposta inflamatória. Muitas de suas ações têm funções semelhantes aos efeitos da IL-1 ¹⁴¹. A superprodução de TNF é implicada em várias condições patológicas, como caquexia, choque séptico secundário a infecção por bactéria gram-negativa, doenças autoimunes, meningococcemia e esclerose múltipla ^{140,141,148}.

1.6 Efeitos do exercício físico sobre a produção de citocinas

O exercício físico submáximo e regular é recomendado para a manutenção da saúde e prevenção de doenças. Em indivíduos saudáveis, o treinamento aeróbico é atingido na faixa entre 60 a 90% de frequência cardíaca máxima para a idade e 50 a 80% de faixa de consumo máximo de oxigênio (VO_2), sustentando por 20 a 45 minutos, com frequência de três a quatro vezes por semana ^{153,154}. Nesta intensidade, acima do limiar anaeróbico, obtem-se adaptações fisiológicas nos músculos periféricos e melhora na função cardíaca ¹⁵⁵. Porém, em determinadas intensidades, o exercício pode ser capaz de estimular a formação de EAO_2 que atacam as estruturas protéicas, lipídicas e DNA, resultando em danos celulares. Estudos mostram que o exercício físico, principalmente o mais intenso, está associado com danos musculares e produção aumentada de radicais livres ^{99,149,150,156,157}. Por outro lado, sabe-se que o exercício físico pode induzir um aumento das defesas antioxidantes no organismo de pessoas saudáveis ¹⁵⁶.

A atividade física interfere na liberação de outros mediadores como as citocinas, que regulam o contato intercelular, sendo que a expressão, a produção e a liberação de citocinas podem estar associadas aos níveis de estresse oxidativo ¹⁵⁶. Os efeitos do exercício sobre a produção de citocinas têm sido recentemente estudados ¹⁵⁸⁻¹⁸⁰.

Exercícios extenuantes podem aumentar os níveis de inúmeras citocinas pró e antiinflamatórias ou causar inibição da secreção de outras citocinas. Aumentos nos níveis plasmáticos de fator de necrose tumoral alfa ($\text{TNF-}\alpha$) e interleucinas ($\text{IL-1}\beta$, IL-6 e IL-8) foram encontrados após exercícios extenuantes ^{162-166,169}. A IL-6 é produzida na contração de músculos esqueléticos em resposta ao exercício e é conhecida por induzir a saída de glicose da célula hepática e a lipólise ^{160,176}. Seu aumento nas fibras musculares pode colaborar para o aumento na concentração sérica desta citocina induzido pelo exercício ¹⁵⁸. Os níveis plasmáticos de IL-6 são aumentados em resposta ao exercício prolongado ¹⁵⁸⁻¹⁶⁰.

A intensidade de exercício e os níveis de catecolaminas circulantes correlacionam-se com a liberação de IL-6 no exercício. Foi estudada a relação entre hipóxia, que, como se sabe, altera a atividade simpática, intensidade do esforço e liberação plasmática de IL-6 após o exercício e foi observado que a concentração de IL-6 correlacionou-se com a intensidade do exercício, sem apresentar modificação

em condições de hipóxia aguda ou crônica ¹⁶¹. Exercícios prolongados elevaram as concentrações plasmáticas de IL-1 β , IL-6 e TNF- α sem modificar o gene de transcrição da citocina nas células mononucleares. Concluiu-se que é possível que esse aumento no sangue possa ser devido à liberação de citocinas pré-sintetizadas em resposta ao esforço ou à sua produção por outras células que não do sistema imunológico.¹⁶² Ostrowski ¹⁶⁹ estudou três maratonistas e mediu a concentração plasmática de IL-6 e creatininoquinase (CK). A CK é liberada na corrente sanguínea em resposta à lesão muscular. A concentração de IL-6 aumentou até cem vezes após a maratona e não houve correlação positiva com o aumento da enzima muscular. Foi observada uma relação direta entre o nível plasmático de IL-6 e a intensidade da corrida e uma relação inversa com a duração da mesma. Em outro estudo, foi detectada elevação nos níveis plasmáticos de IL-6 e no número de neutrófilos no sangue periférico após o exercício. Este efeito não foi mimetizado pela infusão de epinefrina durante o repouso ¹⁷⁰.

A ativação imune após exercícios anaeróbicos simples ou repetitivos foi comparada antes e após o término do exercício. Foram mensuradas as concentrações plasmáticas de neutrófilos, IL-6 e IL-8 e proteína C-reativa. Os neutrófilos e a IL-6 aumentaram mais nos exercícios repetitivos do que no simples. Não houve alterações na IL-8. A proteína C-reativa manteve-se elevada 24h após os dois tipos de exercício. Foi concluído que os exercícios anaeróbicos repetitivos levam a um aumento mais pronunciado na fase aguda da resposta imune que os exercícios simples ¹⁷¹.

A relação entre exercício, espécies ativas de oxigênio (EAO₂) e produção de citocinas foi pesquisada por Niess et al ¹⁷². Os autores estudaram a expressão celular de hemeoxigenase (HO-1), uma proteína do estresse antioxidativo, e os níveis plasmáticos de TNF- α , IL-8 e mieloperoxidase em indivíduos após uma corrida de maratona. Houve elevação nos níveis de mieloperoxidase, TNF- α e IL-8, sugerindo resposta inflamatória secundária ao dano muscular. Detectou-se uma correlação significativa entre a IL-8 e HO-1 logo após o exercício. As rotas regulatórias que levam ao aumento da expressão de HO-1 após exercício vigoroso não estão bem esclarecidas, porém um envolvimento mediado por citocinas na geração de espécies ativas de oxigênio deve ser discutido. É possível que a redução da expressão basal de HO-1 em atletas reflita um mecanismo adaptativo a exercícios regulares. Em outro estudo, foi demonstrado que o treinamento físico em

idosos causou diminuição na expressão para o gen de transcrição de TNF- α , causando redução nos níveis musculares desta citocina ¹⁷³.

Starkie et al ¹⁷⁴ analisaram os efeitos do exercício e a ingestão de carboidratos na expressão do gene da IL-6 em músculos esqueléticos e na concentração plasmática da IL-6. Os autores observaram um aumento na expressão de IL-6 mRNA e uma elevação na concentração plasmática de IL-6 após exercício, sendo esta última atenuada pela ingestão de carboidratos.

2. JUSTIFICATIVA

A interação entre a inflamação sistêmica e o estresse oxidativo contribui para a intolerância ao exercício na DPOC ¹⁷⁵⁻¹⁸⁰. O aumento do estresse oxidativo durante o exercício em portadores de DPOC foi previamente descrito ⁹⁹⁻¹⁰³. Entretanto, os mecanismos relacionados com a resposta inflamatória induzida pelo exercício nestes pacientes ainda não estão bem estabelecidos. É possível que uma resposta inflamatória anormal ocorra durante o exercício. Estes pacientes podem não apresentar as alterações adaptativas induzidas pelo exercício devido à diminuição na capacidade de aumentar a atividade antioxidante muscular com a atividade física ^{179,180}.

Rabinovich et al ¹⁷⁵, utilizando exercício em cicloergômetro e medida de consumo máximo de O₂ por cateterização arterial, demonstraram aumento anormal nos níveis circulantes de TNF- α durante exercícios moderados em portadores de DPOC, não sendo acompanhado pelo aumento da IL-6, como é comum ser observado em indivíduos normais. Também não houve influência do treinamento na expressão do gene desta citocina.

Em outro estudo, Koechlin ¹⁰³ não demonstrou modificação nos níveis de TNF- α e IL-6 após o exercício em pacientes com DPOC submetidos a exercícios de endurance de quadríceps.

Este estudo pretende avaliar a relação entre a liberação de citocinas pró-inflamatórias e o exercício físico regular em portadores de DPOC, avaliando a influência do condicionamento físico sobre este processo.

3. OBJETIVOS

Objetivo geral:

Estudar a relação entre a produção de citocinas e os efeitos fisiológicos induzidos pelo exercício físico regular em pacientes com DPOC moderada e grave.

Objetivos específicos:

- Determinar a liberação de citocinas (IL-1 β , IL-6 e TNF- α) no exercício, antes e após o programa de reabilitação pulmonar.
- Relacionar os níveis de citocinas liberadas com a intensidade submáxima de exercício utilizada no teste de *endurance*.
- Estudar a associação entre liberação de citocinas e exacerbação da DPOC durante reabilitação pulmonar.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento

Estudo prospectivo, controlado, não randomizado, com intervenção.

4.2 Período de realização do protocolo

Novembro de 2001 à fevereiro de 2004.

4.3 Pacientes

Foram incluídos, no grupo intervenção (Grupo I), onze pacientes ambulatoriais, estáveis, portadores de DPOC moderada a muito grave^{3,4}, candidatos a participar do programa multidisciplinar de reabilitação pulmonar (RP) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Os pacientes estavam sintomáticos, apesar da terapia medicamentosa adequada, e foram selecionados de modo sequencial de acordo com o atendimento ambulatorial. Como critérios adicionais de inclusão foram considerados: sexo masculino, condições de realizar exercício físico em cicloergômetro e concordância em participar do estudo através da assinatura do termo de consentimento pós-informação. Pacientes com idade acima de 80 anos, tabagismo ativo, exacerbação da DPOC nas quatro semanas anteriores à entrada no protocolo, doenças cardiovasculares (cardiopatia isquêmica e hipertensão arterial sistêmica não controlada) que contra-indicassem a realização de exercício físico, doenças osteomusculares que impedissem a participação na RP ou ausência de condições para participar plenamente do protocolo de estudo foram excluídos.

No grupo controle (Grupo C), foram incluídos sete pacientes, com os mesmos critérios de inclusão e exclusão acima citados, que não estavam realizando atividade física regular e sem previsão de participar da reabilitação pulmonar nos seis meses subseqüentes ao início do protocolo de pesquisa.

4.4 Protocolo do estudo

O protocolo foi constituído de avaliação inicial, intervenção ou controle e reavaliação final (Figura 1). O grupo I foi submetido à RP durante oito semanas após a avaliação inicial. O grupo C foi orientado a manter suas atividades habituais entre as duas avaliações. Na avaliação inicial e no término do protocolo os pacientes selecionados para o estudo realizaram espirometria com prova farmacodinâmica e teste de *endurance* em cicloergômetro (teste de exercício com carga constante e tempo limitado por sintomas) com coleta de sangue venoso antes do início e logo após este teste. A carga utilizada no teste de *endurance* foi estabelecida a partir de um teste de exercício cardiopulmonar (TECP) realizado após inclusão dos pacientes no protocolo.

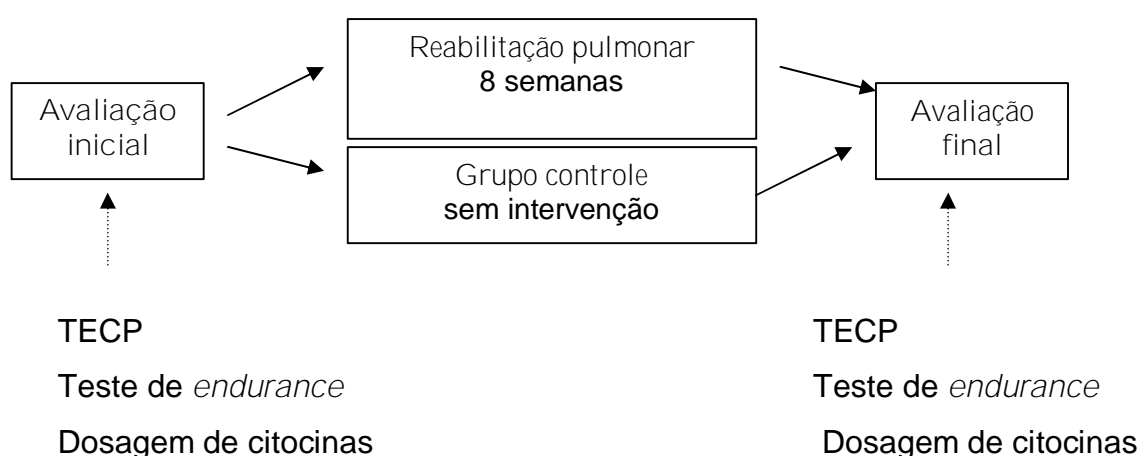


Figura 1 - Protocolo do estudo.

O teste de exercício cardiopulmonar (TECP) foi realizado para determinação da carga. As citocinas foram coletadas antes e quinze minutos após o teste de *endurance*.

4.5 Testes e avaliações

Espirometria

Todos os pacientes realizaram espirometria com curva fluxo volume e prova farmacodinâmica (Espirômetro Masterscreen, Jäeger™, Alemanha). Os pacientes foram orientados a suspender os broncodilatadores inalatórios de ação curta (beta-adrenérgicos e/ou anticolinérgicos) 6 horas antes e broncodilatadores de ação prolongada (formoterol ou salmeterol) 12 horas antes do exame e a não tomar chá, café ou álcool seis horas antes do teste funcional. Nenhum paciente estava usando anticolinérgico de ação prolongada. Todos os exames foram realizados com pelo menos três manobras reprodutíveis e duas manobras aceitáveis, de acordo com as normas da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia ¹⁸¹. Os parâmetros mensurados foram: capacidade vital forçada (CVF), volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF₁) e a relação VEF₁/CVF, antes e após a administração de 400mcg de salbutamol por nebulímetro. Na análise dos resultados foram considerados os valores obtidos após broncodilatação. Os valores previstos foram determinados pela tabela de valores de referência de Knudson et al ¹⁸².

Teste de exercício cardiopulmonar

O teste de exercício cardiopulmonar (TECP) incremental, limitado por sintomas, foi realizado em cicloergômetro marca Monark® no Serviço de Cardiologia do HCPA ^{183,184}. Todos os pacientes utilizaram broncodilatador – 400mcg de salbutamol por nebulímetro - 15 minutos antes do TECP e receberam instruções sobre o mesmo. Após ajuste da altura do banco do cicloergômetro, o paciente se posicionava no mesmo para registro das variáveis no repouso. Durante o exercício, os pacientes eram orientados a pedalar com velocidade constante (20 km/h) inicialmente sem carga (2 minutos) sendo a carga aumentada gradativamente a cada 2 minutos. O incremento da carga entre dois e dez watts foi determinado pela reserva funcional do paciente, estimando-se uma duração do teste entre 8 e 12 minutos. Os parâmetros avaliados antes, a cada 2 minutos durante o exercício e após o teste foram: pressão arterial (PA), frequência cardíaca (FC), saturação de

oxigênio por oximetria digital (SpO_2) e escala de Borg modificada para quantificação da dispnéia e dor ou desconforto de membros inferiores. Durante o teste, o paciente foi monitorizado continuamente com eletrocardiograma de 12 derivações (Nikon Kohden Corporation, Tóquio, Japão) ^{153,154}.

Durante todo o teste, os pacientes respiravam através de uma peça bucal, as narinas estando obstruídas por um clipe nasal. Os gases expirados foram monitorados continuamente, quantificados através de alíquotas médias de 20 segundos durante o exercício e analisados pelo computador (*Total Metabolic Analysis System*, TEE 100, Aerosport, Ann Arbor, EUA), para determinação do consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx), consumo máximo de gás carbônico (VCO_2 máx), ventilação máxima (VE), equivalentes respiratórios (VE/VO_2 , VE/VCO_2) e quociente respiratório (RER). O VO_2 de pico foi identificado como o VO_2 máximo que o indivíduo conseguiu atingir antes da interrupção do teste de exercício. A carga máxima correspondeu à maior carga que o indivíduo conseguiu manter por no mínimo um minuto antes da interrupção do TECP. A pressão arterial sistêmica foi aferida através de um esfigmomanômetro padrão em repouso e a cada dois minutos durante o exercício. Os pacientes foram incluídos na análise independente da existência de esforço submáximo e da causa da limitação ao exercício. Os pacientes eram encorajados a cada minuto a continuar o teste com uma frase padrão – o Senhor está indo bem, continue pedalando. O teste era interrompido por sintomas (dor precordial, fadiga e dispnéia acentuada) ou alterações eletrocardiográficas (arritmia cardíaca grave, sinais de isquemia miocárdica), aumento nos níveis tensionais (PA sistólica > 220 mmHg) ou da frequência cardíaca acima da máxima durante o esforço. Em nenhum paciente o teste foi interrompido por dor precordial ou sinais eletrocardiográficos de isquemia miocárdica. Todos os testes foram acompanhados por um cardiologista.

A frequência cardíaca máxima prevista utilizada como indicação para interrupção do esforço foi calculada através da fórmula (220 – idade em anos). A frequência cardíaca submáxima (85% da FC máxima esperada para a idade) foi utilizada como indicativa de esforço adequado ^{153,154,183,184}.

Teste de *endurance* em cicloergômetro

Após o TECP, todos os pacientes realizaram teste de *endurance* em cicloergômetro marca Monark®. Os pacientes eram orientados a pedalar com velocidade constante (20 km/h) e carga constante (60% da carga máxima do teste incremental), por até 35 minutos (5 minutos de aquecimento sem carga e 30 minutos com carga). Os parâmetros avaliados antes, a cada 2 minutos durante o exercício e após o teste foram: pressão arterial, frequência cardíaca, saturação de oxigênio por oximetria digital e escala de Borg modificada para avaliar dispnéia e fadiga de membros inferiores. Os pacientes eram encorajados a cada minuto a continuar o teste com uma frase padrão – o Senhor está indo bem, continue pedalando. Os mesmos critérios usados para a interrupção do TECP foram utilizados para a interrupção do teste de *endurance*. Um critério adicional para interrupção do teste era atingir o tempo máximo previsto para o mesmo. Todos os testes foram realizados pelo mesmo examinador^{183,184}.

4.6 Intervenção

Reabilitação Pulmonar

A RP constou de exercícios físicos, realizados três vezes por semana, com duração de 120 minutos por sessão, durante oito semanas. Os exercícios aeróbicos foram realizados em bicicleta ergométrica com carga graduada durante 45 a 60 minutos. Exercícios para membros superiores foram realizados durante 15 minutos utilizando pesos graduados. A pressão arterial, a frequência cardíaca, a saturação de oxigênio por oximetria digital e a escala de Borg para quantificar dispnéia e fadiga de membros inferiores foram monitorizadas durante o exercício. Foi realizado alongamento muscular antes e exercícios de relaxamento muscular após cada sessão de RP. A prescrição de exercício foi feita com base nos dados obtidos no teste incremental, utilizando-se como parâmetro o consumo máximo de oxigênio e a carga máxima atingida no mesmo. A carga foi aumentada progressivamente a cada sessão de acordo com a tolerância do paciente (foram valorizados os sintomas como dispnéia, dor torácica e fadiga de membros inferiores)^{63,64}.

4.7 Coleta de sangue e dosagem dos mediadores

Coleta de sangue

Antes e 15 minutos após o teste de *endurance*, no início e no final do estudo, foram coletados oito ml de sangue, por punção venosa periférica no antebraço. As amostras foram colhidas em frascos de vidro sem conservante ou anticoagulante, centrifugadas para separação do soro e armazenadas em alíquotas de 1 ml a -20°C para posterior dosagem de citocinas. Cada amostra foi identificada com o número do paciente e do teste. Foram coletadas quatro amostras de cada paciente, identificadas como teste 1 antes (A1), teste 1 depois (P1), teste 2 antes (A2), teste 2 depois (P2).

Dosagem de citocinas

A interleucina-1 β (IL-1 β), a interleucina-6 (IL-6), e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) foram dosados com kits específicos adquiridos para o projeto, da marca Quantikine[®] (R&D Systems, Minneapolis, USA), no laboratório de pesquisa do HCPA. A determinação das referidas citocinas foi realizada no soro, descongelado em ar ambiente no momento da dosagem.

A técnica utilizada foi imunoenensaio enzimático quantitativo, tipo sanduíche (ELISA), utilizando anticorpo monoclonal específico para a citocina a ser dosada, reagente enzimático e substrato. Todas as amostras foram dosadas em duplicata. A unidade utilizada foi picograma por mililitro (pg/ml). A curva padrão para IL-1 β variou entre 3,9 pg/ml e 250 pg/ml (mínima concentração detectável menor que 1,0 pg/ml, conforme especificação do fabricante), para IL-6 variou entre 3,12 pg/ml e 300 pg/ml (mínima concentração detectável de 0,7 pg/ml, conforme especificação do fabricante) e para TNF- α variou entre 15,6 pg/ml e 1000 pg/ml (mínima concentração detectável menor que 4,4 pg/ml, conforme especificação do fabricante). Foi medida a intensidade da cor gerada em uma leitora específica (Leitora de ELISA Elgin[®]). Após, foi calculada a concentração da citocina, através de uma fórmula matemática polinomial incorporada a um *software* criado para este fim pela Engenharia Biomédica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Em descrição sumária, a técnica de imunoenensaio enzimático quantitativo, tipo “sanduíche”, utilizada neste estudo, obedeceu os seguintes procedimentos:

1. As amostras e reagentes foram colocados à temperatura ambiente.
2. Foram preparados todos os reagentes e diluições da solução padrão. O anticorpo monoclonal para a citocina específica já se encontrava na placa.
4. Foram acrescentadas as amostras e as diferentes diluições da solução padrão à placa de ELISA.
5. Foi acrescentado o conjugado, isto é, o reagente enzimático (anticorpo policlonal específico ligado à enzima)
6. Foi adicionado o substrato a cada uma das lacunas da placa que após ser bloqueado apresentava uma cor proporcional à quantidade de citocina presente na lacuna.
7. A placa foi lida em leitora ELISA com filtro de 450 nm e correção para 540 nm em 30 min.

4.8 Exacerbação

Exacerbação da DPOC foi definida como surgimento ou piora dos sintomas como dispnéia, broncoespasmo, tosse e expectoração, impedindo ou dificultando as atividades rotineiras, com necessidade de aumento na frequência de uso de broncodilatador de ação curta ou início de antibioticoterapia e/ou corticosteróide oral

132-134

4.9 Análise estatística

Os dados foram digitados em microcomputador no programa Microsoft Excel 2000™. Foi utilizada a assessoria estatística do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG) do HCPA. Os dados foram submetidos à análise estatística pelo programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS versão 10.0).

As características da amostra foram descritas através de média e desvio padrão e/ou erro padrão. Para avaliar o efeito agudo do exercício, foram consideradas as diferenças entre as dosagens no repouso e após o esforço, sendo estabelecidos dois Δ IL, um para cada TE (Δ IL TE1 = IL P1–IL A1: [IL pós TE1] – [IL pré TE1]; Δ IL TE2 = IL P2–IL A2: [IL pós TE2] – [IL pré TE2]). Para comparar a liberação de citocinas após o treinamento físico (reabilitação pulmonar), foi consideradas a variação nos Δ IL entre os grupos.

Para estudar os dados obtidos de cada paciente antes e após o *teste de endurance*, para variáveis de distribuição normal, foi utilizado o teste T pareado e para variáveis de distribuição assimétrica, foi utilizado o teste de Wilcoxon. Dados obtidos nos momentos diferentes do estudo foram estudados através da análise de variância de medidas repetidas, para as variáveis de distribuição normal e através do teste de Kruskal-Wallis para as variáveis de distribuição assimétrica. Nas comparações da liberação de citocinas entre os dois testes os dados foram controlados para a presença de exacerbação.

A comparação dos valores basais e após teste de esforço entre os dois grupos foi realizada utilizando-se, para variáveis de distribuição normal, o teste T para amostras independentes e para variáveis de distribuição assimétrica, o teste de Mann-Whitney.

Para estudar a associação entre variáveis quantitativas foi usado o coeficiente de correlação de Pearson (se variáveis de distribuição normal) ou o coeficiente de correlação de Spearman (se variáveis de distribuição assimétrica). Na avaliação entre liberação de citocinas e intensidade do exercício foi utilizada a carga empregada no teste de *endurance*.

O nível considerado para significância estatística foi 5% (bilateral), com intervalo de confiança de 95%.

4.10 Questões éticas

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, sob o número 01-215. Os autores responsabilizaram-se por manter o anonimato das informações

dos pacientes estudados. Todos os pacientes assinaram o termo de consentimento pós-informação para participação no estudo.

4.10 Financiamento

Foi obtido financiamento junto ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) para compra dos kits de citocinas e junto ao Fundo de Incentivo à Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE/HCPA) para realização dos exames de avaliação.

5. RESULTADOS

5.1 Características gerais

Foram incluídos no estudo dezoito pacientes portadores de DPOC, todos do sexo masculino, ex-tabagistas, divididos em dois grupos:

- Grupo intervenção: onze pacientes que participaram, durante a realização do protocolo, de reabilitação pulmonar.
- Grupo controle: sete pacientes que não realizavam atividade física regular.

As características dos pacientes dos dois grupos foram semelhantes, conforme descrito na tabela 2.

Tabela 2 – Características antropométricas e funcionais pulmonares dos 18 pacientes que participaram do protocolo

Variável	Grupo I n=11 Média ± DP	Grupo C n=7 Média ± DP	p	IC 95%
Idade (anos)	65,4 ± 7,5	65,7 ± 8,1	0,945	-8,24 – 7,72
Peso (kg)	75,3 ± 16,1	78,6 ± 12,1	0,649	-18,37 – 11,77
Altura (cm)	167,7 ± 7,61	171,3 ± 11,8	0,447	-0,132 – 0,06
IMC (kg/m ²)	26,6 ± 4,80	26,7 ± 2,79	0,972	-4,34 – 4,19
CVF (l)	2,00 ± 0,51	2,53 ± 0,43	0,038*	-1,02 – -0,03
CVF (% prev)	50 ± 11	62 ± 11	0,047*	-23,35 – -0,12
VEF ₁ (l)	0,97 ± 0,22	1,14 ± 0,27	0,179	-0,41 – 0,08
VEF ₁ (% prev)	31 ± 7	36 ± 10	0,319	-13,64 – 4,73
VEF ₁ /CVF	49 ± 9	44 ± 8	0,317	-4,85 – 14,04

Grupo I – grupo intervenção, submetido à reabilitação pulmonar

Grupo C – grupo controle

CVF – capacidade vital forçada

VEF₁ – Volume expiratório forçado no primeiro segundo

IMC – Índice de massa corporal

*p < 0,050

5.2 Avaliação nutricional

O IMC médio dos pacientes na avaliação inicial para participação no protocolo foi $26,49 \text{ kg/m}^2$, sendo $26,71 \pm 4,33 \text{ kg/m}^2$ no grupo intervenção e $26,12 \pm 3,53 \text{ kg/m}^2$ no grupo controle, sem diferença significativa entre os grupos ($p=0,766$). Após nove semanas, na reavaliação antes da realização do segundo teste de exercício cardiopulmonar, o IMC médio foi $26,20 \pm 4,11 \text{ kg/m}^2$, sendo $26,32 \pm 4,47 \text{ kg/m}^2$ no grupo I e $26,00 \pm 3,77 \text{ kg/m}^2$ no grupo C ($p = 0,879$). Não houve variação significativa no peso dos pacientes entre os dois testes ($p = 0,541$; IC 95% -1,28 - 2,36).

5.3 Teste de exercício cardiopulmonar

Não houve variação significativa entre os grupos nos valores de frequência cardíaca, oximetria de pulso (SpO_2), carga máxima, consumo máximo de oxigênio e dispnéia no primeiro teste de exercício cardiopulmonar. Os pacientes do grupo intervenção apresentaram mais dor em membros inferiores ao final do primeiro teste, conforme descrito na tabela 3.

No segundo teste, também não houve variação significativa entre os grupos nos valores de frequência cardíaca, oximetria digital, carga máxima e consumo máximo de O_2 . Os pacientes que participaram da RP apresentaram menos dispnéia e dor em membros inferiores, porém esta diferença mostrou-se estatisticamente significativa apenas para a dor em membros inferiores, conforme descrito na tabela 4.

Os pacientes que participaram da RP apresentaram valores maiores de carga ($p=0,003$), menos dispnéia ($p=0,03$) e desconforto de membros inferiores ($p<0,01$) no segundo TECP. Nos pacientes do grupo controle, houve diferença significativa nos valores da carga ($p=0,03$), quando comparado o primeiro e o segundo TECP.

Tabela 3 - Valores no primeiro teste de exercício cardiopulmonar

Variável	Grupo I – RP n=11 Média ± DP	Grupo C n=7 Média ± DP	p	IC 95%
FC máx(bpm)	131 ± 21	140 ± 16	0,379	-28,633 - 11,516
SpO ₂ min (%)	95 ± 2	94 ± 2	0,805	-2,137 - 2,708
Carga (kpm.min ⁻¹)	518 ± 325	714 ± 296	0,215	-0,518 - 0,126
VO ₂ máx (ml.min ⁻¹)	975 ± 387	1227 ± 415	0,209	-658,9 - 155,9
Borg dispnéia	5,0 ± 3,1	4,4 ± 2,6	0,652	-2,397 - 3,722
Borg MMII	5,1 ± 2,6	2,0 ± 1,9	< 0,01*	-0,296 - 0,010

Grupo I – grupo intervenção, submetido à reabilitação pulmonar Grupo C – grupo controle

FC – frequência cardíaca SpO₂ min – saturação de oxigênio mínima

VO₂ max – consumo máximo de oxigênio MMII – membros inferiores *p < 0,050

Tabela 4 - Valores no segundo teste de exercício cardiopulmonar

Variável	Grupo I – RP n=11 Média ± DP	Grupo C n=7 Média ± DP	p	IC 95%
FC máx (bpm)	128 ± 16	140 ± 19	0,166	-31,244 - 5,874
SpO ₂ mín (%)	93 ± 2	95 ± 2	0,143	-4,476 - 0,710
Carga (kpm.min ⁻¹)	736 ± 410	871 ± 314	0,470	-0,521 - 0,251
VO ₂ máx (ml.Kg.min)	1048 ± 397	1167 ± 301	0,512	-490,9 - 254,9
Borg dispnéia	2,7 ± 2,0	4,4 ± 1,6	0,082	-3,651 - 0,248
Borg MMII	1,5 ± 1,7	3,5 ± 2,2	0,046*	-4,018 - -0,338

Grupo I – grupo intervenção, submetido à reabilitação pulmonar Grupo C – grupo controle

FC – frequência cardíaca SpO₂ min – saturação de oxigênio mínima

VO₂ max – consumo máximo de oxigênio MMII – membros inferiores *p<0,050

5.4 Teste de *endurance* em cicloergômetro

No primeiro teste, não houve diferença entre os grupos na frequência cardíaca basal e máxima, pressão arterial, frequência respiratória, oximetria de pulso em repouso e exercício, carga máxima, dispnéia e dor em membros inferiores. Os pacientes do grupo intervenção toleraram menos tempo de exercício quando comparados com o grupo controle, conforme descrito na tabela 5.

Tabela 5 - Resultados do primeiro teste de *endurance*

Variável	Grupo I – RP n=11 Média ± DP	Grupo C n=7 Média ± DP	p	IC 95%
FC basal (bpm)	87 ± 9	83 ± 12	0,386	-6,185 - 15,146
FC máx (bpm)	119 ± 12	123 ± 13	0,494	-17,745 - 8,940
PA sist máx (mmHg)	155 ± 34	155 ± 24	0,994	-3,169 - 32,377
PA diast máx (mmHg)	93 ± 18	97 ± 4	0,619	-18,920 - 11,622
FR (mrpm)	19 ± 2	18 ± 2	0,385	-1,484 - 3,639
SpO ₂ basal (%)	95 ± 1	96 ± 2	0,604	-2,731 - 1,640
SpO ₂ mín (%)	93 ± 1	94 ± 2	0,551	-2,270 - 1,257
Carga (kpm.min ⁻¹)	281 ± 176	371 ± 125	0,261	-0,252 - 0,073
Tempo (min)	10,5 ± 6,3	27,1 ± 5,9	<0,001*	-22,954 - -10,239
Borg dispnéia	5,5 ± 3,1	4,4 ± 2,9	0,459	-2,005 - 4,238
Borg MMII	5,5 ± 2,4	3,7 ± 2,6	0,153	-0,758 - 4,421

Grupo I – grupo intervenção, submetido à reabilitação pulmonar

Grupo C – grupo controle

FC – frequência cardíaca

PA sist – pressão arterial sistólica

PA diast – pressão arterial diastólica

FR – frequência respiratória

SpO₂ min – saturação de oxigênio mínimaVO₂ max – consumo máximo de oxigênio

MMII – membros inferiores

*p < 0,050

No segundo teste, não houve diferença significativa entre os grupos nos parâmetros avaliados, conforme descrito na tabela 6.

Com relação aos testes de *endurance*, houve diferença significativa nos valores da carga (p<0,002), tempo (p<0,0001), dispnéia (p=0,03) e Borg MMII (p=0,03) no segundo em comparação com o primeiro teste de exercício nos

pacientes submetidos à RP. Nos pacientes do grupo controle, houve diferença significativa nos valores da carga ($p=0,03$) no segundo teste de endurance.

Tabela 6- Resultados do segundo teste de *endurance*

Variável	Grupo 1 – RP n=11 Média ± DP	Grupo 2 n=7 Média ± DP	p	IC 95%
FC basal (bpm)	81 ± 7	83 ± 14	0,673	-13,417 - 8,898
FC máx (bpm)	119 ± 12	126 ± 19	0,343	-23,303 - 8,602
PA sist máx (mmHg)	154 ± 31	163 ± 13	0,491	-36,014 - 18,066
PA diast máx (mmHg)	89 ± 11	96 ± 11	0,249	-18,453 - 5,154
FR (mrpm)	20 ± 4	19 ± 3	0,411	-2,393 - 5,562
SpO ₂ basal (%)	95 ± 1	96 ± 1	0,701	-2,850 - 1,932
SpO ₂ mín (%)	94 ± 2	94 ± 3	1,000	-2,587 - 2,587
Carga (kpm.min ⁻¹)	404 ± 241	442 ± 159	0,716	-0,257 - 0,181
Tempo (min)	23,2 ± 8,7	27,4 ± 5,2	0,277	-11,994 - 3,683
Borg dispnéia	2,9 ± 2,3	3,5 ± 2,5	0,616	-3,040 - 1,858
Borg MMII	3,2 ± 3,1	2,8 ± 2,7	0,801	-2,699 - 3,440

Grupo I – grupo intervenção, submetido à reabilitação pulmonar Grupo C – grupo controle

FC – frequência cardíaca PA sist – pressão arterial sistólica PA diast – pressão arterial diastólica

FR – frequência respiratória SpO₂ min – saturação de oxigênio mínima

VO₂ max – consumo máximo de oxigênio MMII – membros inferiores

5.5 Liberação de citocinas

As citocinas – IL-1 β , IL-6 e TNF- α foram dosadas nas amostras de sangue coletadas antes e após os dois testes de *endurance*, no início e no final do protocolo, para avaliar o efeito agudo e a longo prazo do exercício físico no paciente portador de DPOC. Foram comparados os resultados das amostras coletadas antes e após o exercício no cicloergômetro, entre os pacientes individualmente e entre os grupos (efeito agudo). Também foram comparados os resultados das amostras colhidas após o primeiro e segundo teste de *endurance* (efeitos a longo prazo).

Liberação de IL-1 β

Para comparar a liberação de citocinas no exercício entre os grupos, foi considerada a variação na diferença entre as medidas após e antes do teste de endurance – Δ IL-1 β TE2 - Δ IL-1 β TE1 (Δ IL-1 β : IL-1 β pós - IL-1 β pré). Os pacientes que participaram da RP liberaram menos IL-1 β (média \pm erro padrão), na comparação do primeiro ($0,96 \pm 0,66$ pg/ml) com o segundo TE ($-0,24 \pm 0,27$ pg/m) que os pacientes não treinados (TE1 $-1,48 \pm 1,14$; TE2 $0,66 \pm 0,61$ pg/m); $p=0,035$.

Os valores dos grupos são mostrados na tabela 7 e os valores individuais são detalhados nas figuras 2 a 7. A análise de variância é mostrada nas figuras 8 e 9.

Tabela 7 – Liberação de IL-1 β após os TE1 e TE2

Variável	Grupo I – RP n=11 Média \pm EP	Grupo C n=7 Média \pm EP	p	IC 95%
IL-1 β pós TE1 (pg/ml)	3,45 \pm 0,85	3,65 \pm 0,75	0,871	-2,793 - 2,390
IL-1 β pós TE2 (pg/ml)	2,30 \pm 0,62	2,87 \pm 0,54	0,531	-2,445 - 1,310

Grupo I – grupo intervenção, submetido à reabilitação pulmonar

Grupo C – grupo controle

TE – teste de endurance

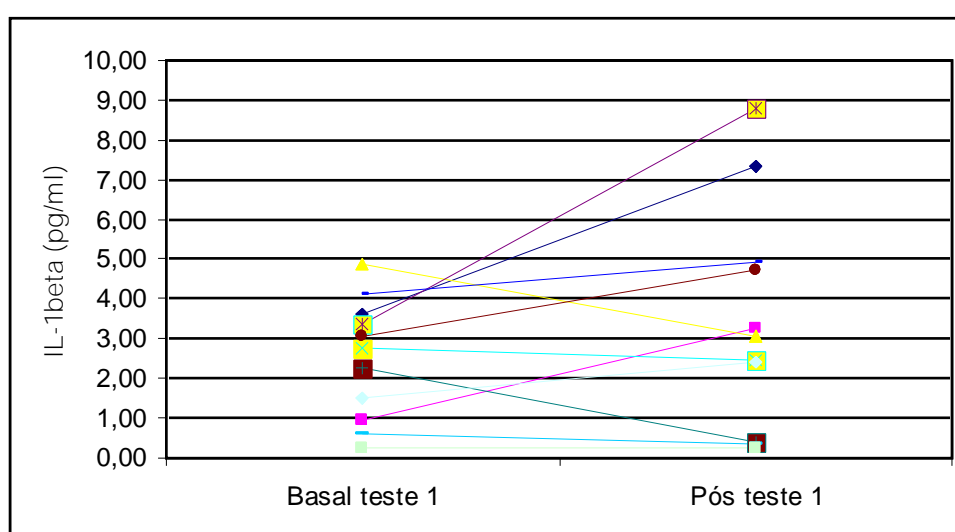


Figura 2 - Liberação de IL-1 β nos pacientes participantes da reabilitação no primeiro teste de *endurance*

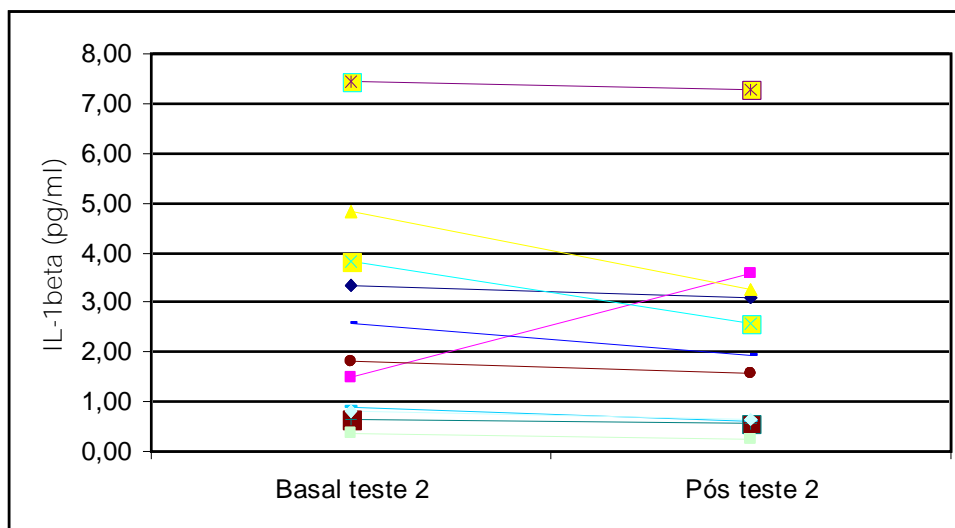


Figura 3 - Liberação de IL-1 β nos pacientes participantes da reabilitação no segundo teste de *endurance*

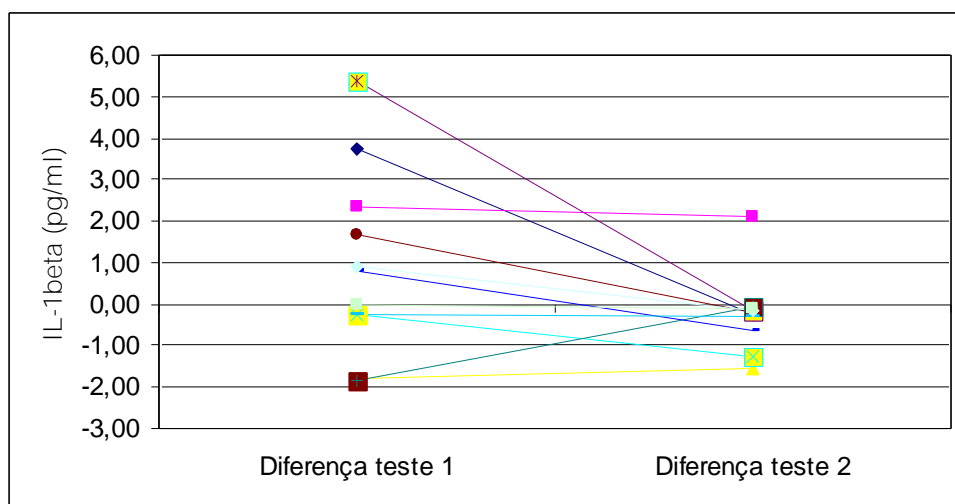


Figura 4 - Variação na liberação de IL-1 β nos pacientes participantes da reabilitação entre os testes de *endurance* 1 e 2

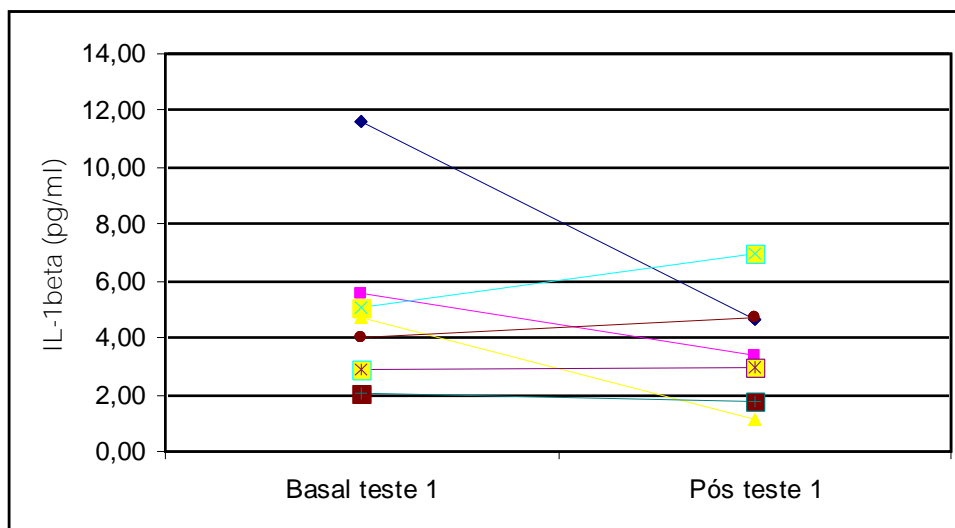


Figura 5 - Liberação de IL-1 β nos pacientes do grupo controle no primeiro teste de *endurance*

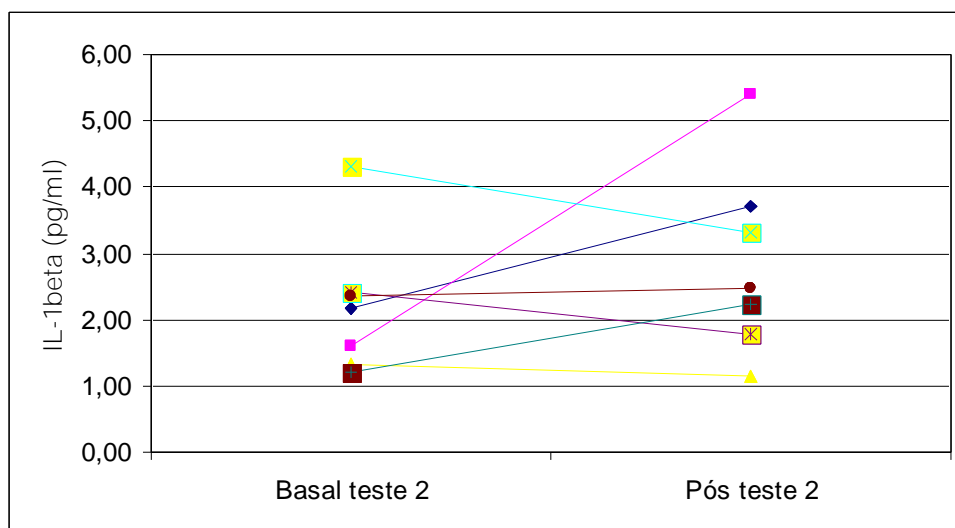


Figura 6 - Liberação de IL-1 β nos pacientes do grupo controle no segundo teste de *endurance*

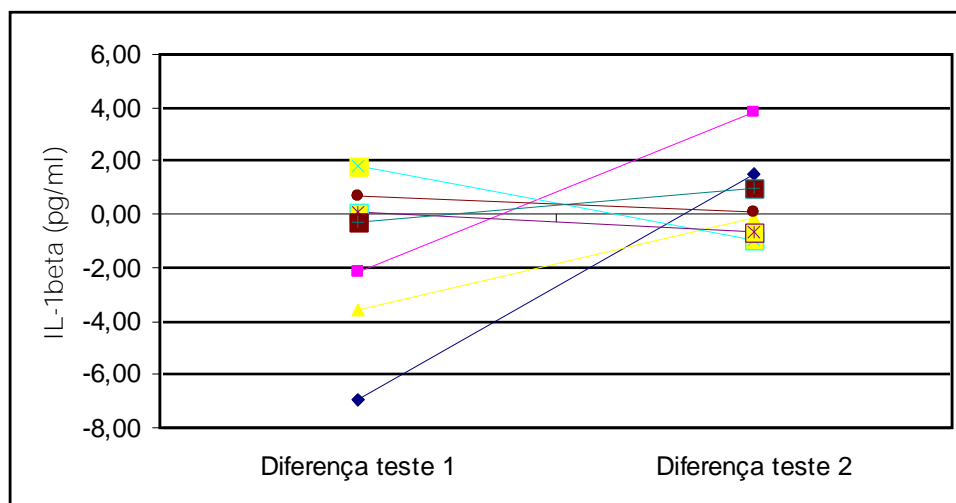


Figura 7 - Variação na liberação de IL-1 β nos pacientes do grupo controle entre os testes de *endurance* 1 e 2

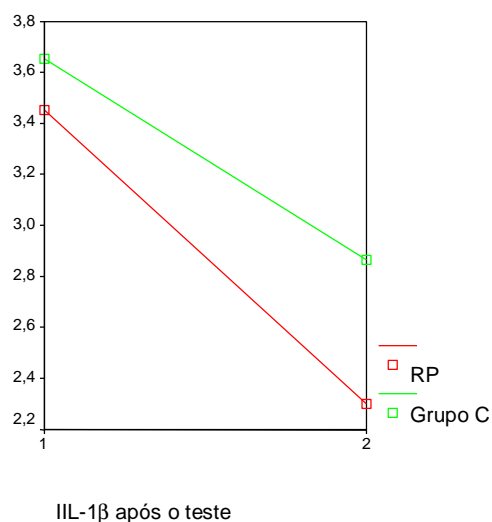


Figura 8 - Análise de variância da liberação de IL-1 β após o primeiro e o segundo teste de *endurance*

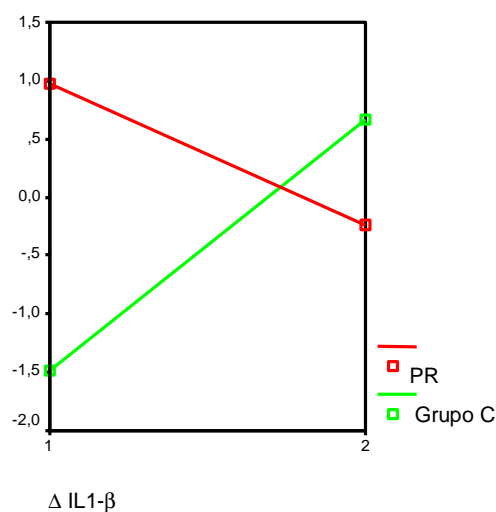


Figura 9 - Análise de variância da $\Delta IL-1\beta$ nos testes de *endurance* 1 e 2

Liberação de IL-6

Para comparar a liberação de citocinas no exercício entre os grupos, foi considerada a variação na diferença entre as medidas após e antes do teste de *endurance* – $\Delta IL-6$ TE2 - $\Delta IL-6$ TE1 ($\Delta IL-6$: IL-6 pós - IL-6 pré). Não houve diferença significativa na liberação de IL-6 (média \pm erro padrão) entre os grupos após o exercício e nos dois TE. O grupo da RP liberou $0,44 \pm 1,21$ pg/ml no TE1 e $0,80 \pm 1,24$ pg/ml no TE2 e o grupo não treinado $0,88 \pm 0,85$ pg/ml no TE1 e $0,78 \pm 0,95$ pg/ml no TE2; $p=0,687$.

Os valores dos grupos são mostrados na tabela 8 e os valores individuais são detalhados nas figuras 10 a 15. A análise de variância é mostrada nas figuras 16 e 17.

Tabela 8 – Liberação de IL-6 após TE1 e TE2

Variável	Grupo I – RP n=11 Média ± EP	Grupo C n=7 Média ± EP	p	IC 95%
IL- 6 pós TE1 (pg/ml)	9,58±1,10	7,42±1,86	0,301	-2,124 – 6,444
IL- 6 pós TE2 (pg/ml)	8,83±1,10	7,05±0,97	0,358	-2,203 – 5,572

Grupo I – grupo intervenção, submetido à reabilitação pulmonar Grupo C – grupo controle

TE – teste de endurance

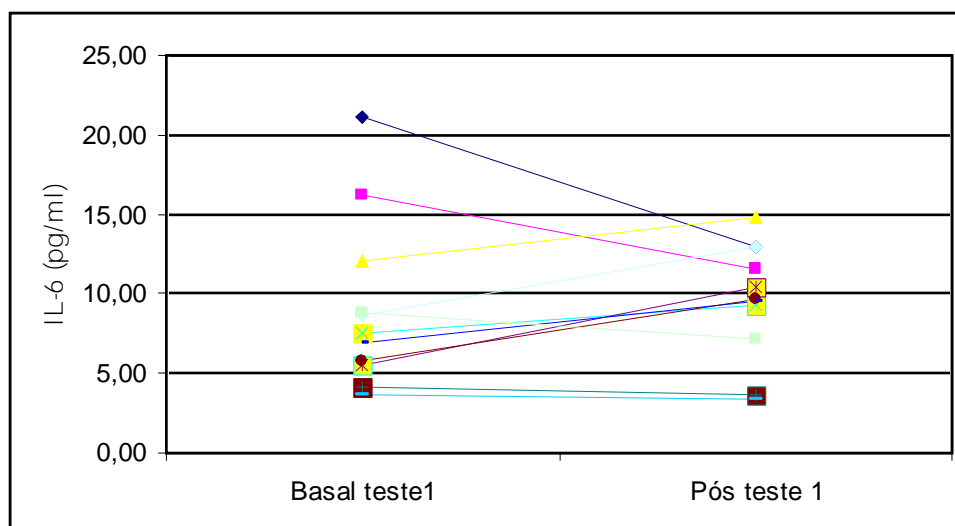


Figura 10 - Liberação de IL-6 nos pacientes participantes da reabilitação no primeiro teste de *endurance*

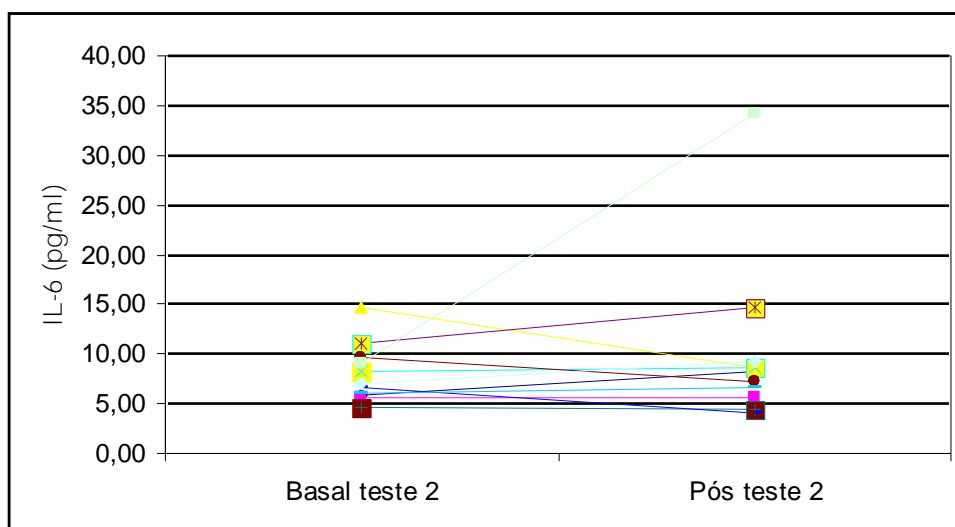


Figura 11 - Liberação de IL-6 nos pacientes participantes da reabilitação no segundo teste de *endurance*

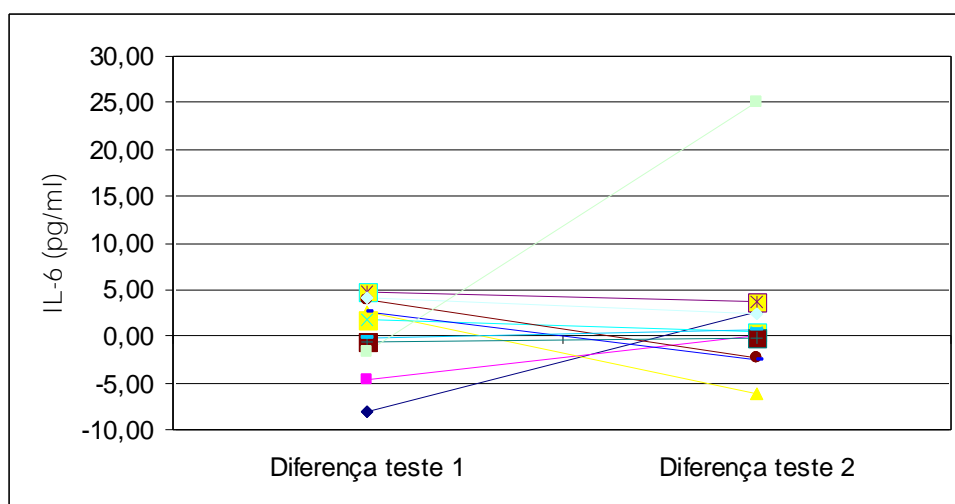


Figura 12 - Variação na liberação de IL-6 nos pacientes participantes da reabilitação entre os testes de *endurance* 1 e 2

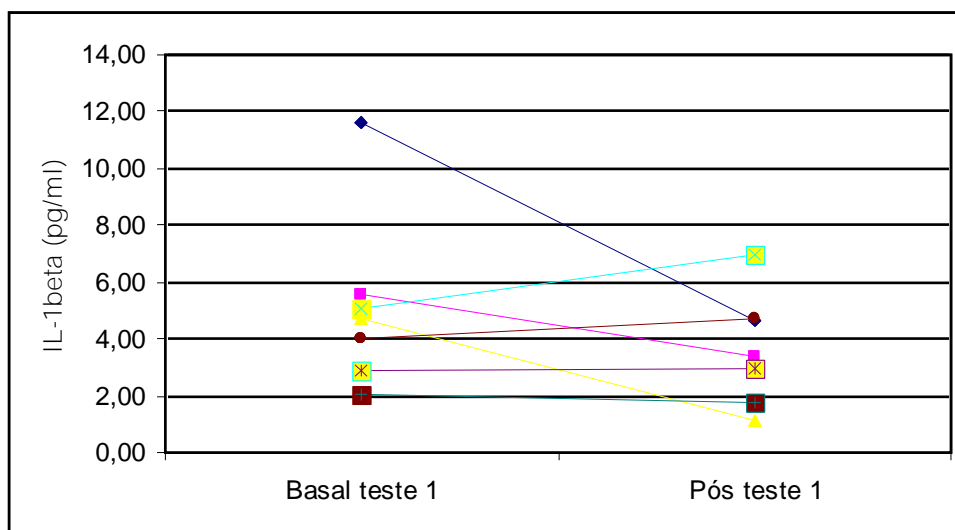


Figura 13 - Liberação de IL-6 nos pacientes do grupo controle no primeiro teste de *endurance*

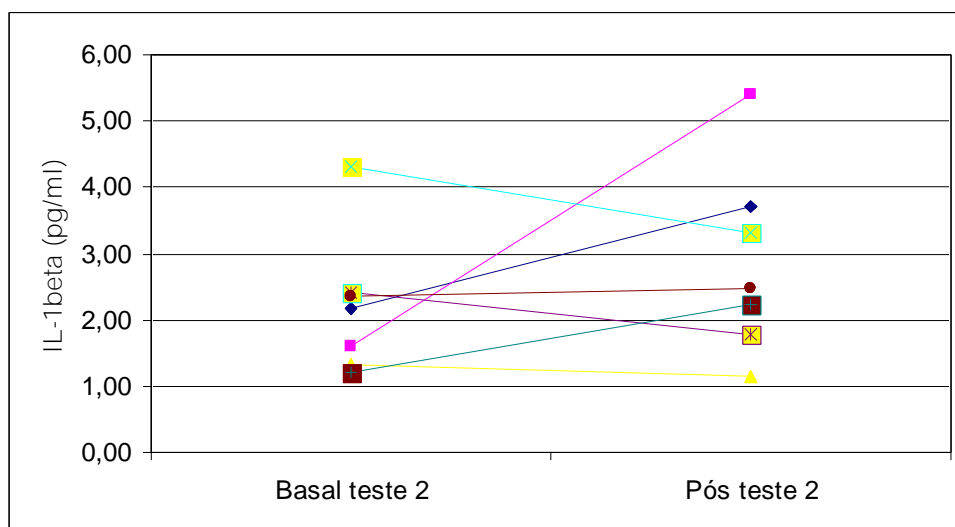


Figura 14 - Liberação de IL-6 nos pacientes do grupo controle no segundo teste de *endurance*

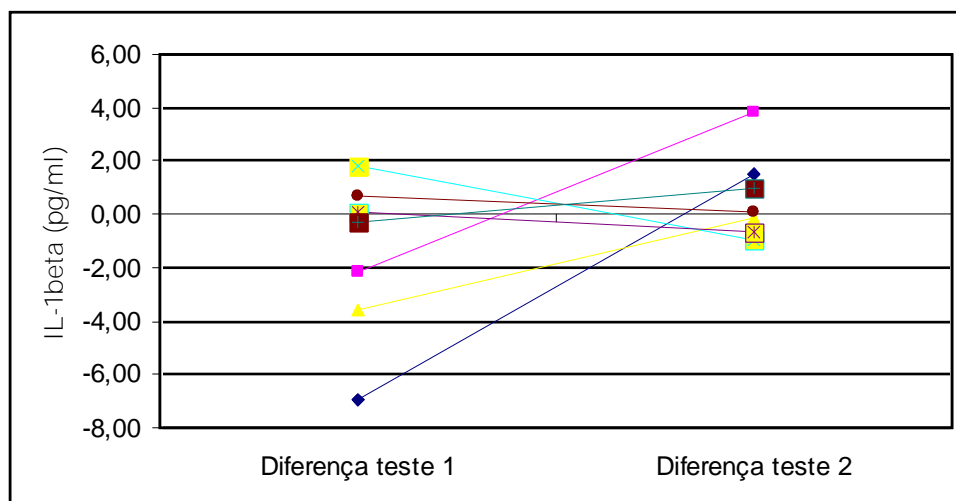


Figura 15 - Variação na liberação de IL-6 nos pacientes do grupo controle entre os testes de *endurance* 1 e 2

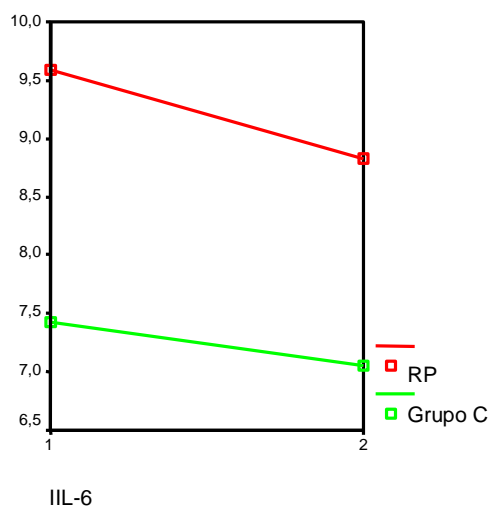


Figura 16 - Análise de variância da liberação de IL-6 após o primeiro e o segundo teste de *endurance*

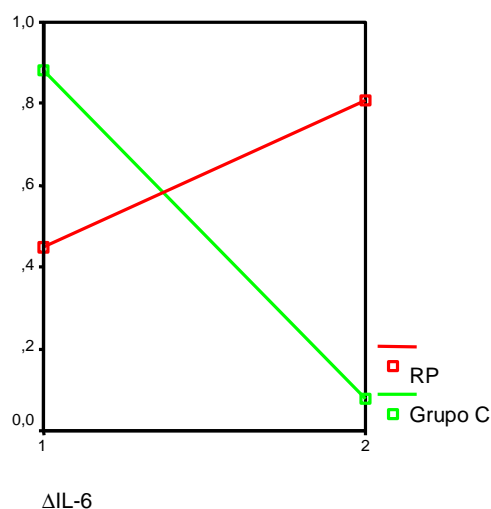


Figura 17 - Análise de variância da Δ IL-6 nos teste de *endurance* 1 e 2

Liberação de TNF- α

Apenas 5 pacientes liberaram concentrações mensuráveis de TNF- α , sendo quatro pacientes do grupo I. O exercício físico não modificou o padrão de liberação de TNF- α ($p=0,14$). Os valores dos grupos são mostrados na tabela 9 e os valores individuais são detalhados nas figuras 18 a 20.

Tabela 9 – Liberação de TNF- α após TE1 e TE2

Variável	Grupo I – RP n=4 Média \pm EP	Grupo C n=1
TNF- α TE1 (pg/ml)	2,86 \pm 1,18	4,98
TNF- α TE2 (pg/ml)	2,57 \pm 1,37	6,84

Grupo I – grupo intervenção, submetido à reabilitação pulmonar

Grupo C – grupo controle

TE – teste de endurance

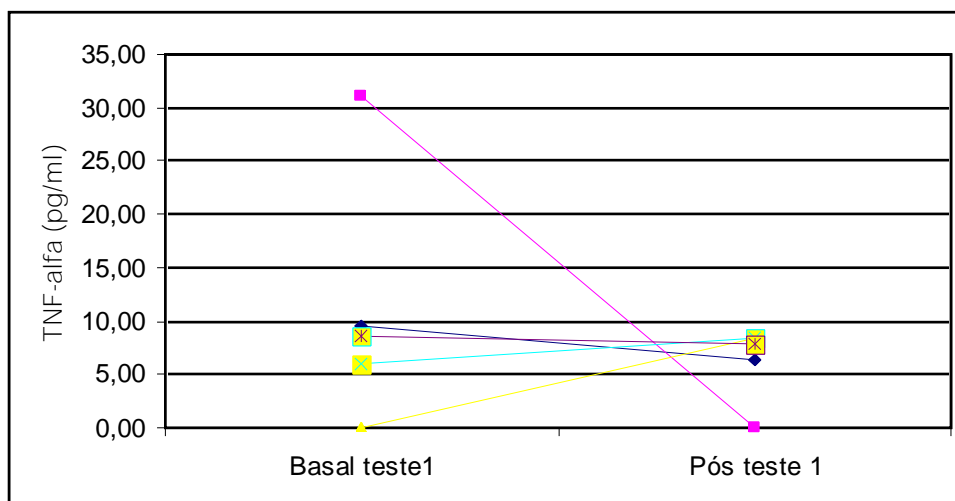


Figura 18 - Liberação de TNF- α nos pacientes participantes da reabilitação no primeiro teste de *endurance*

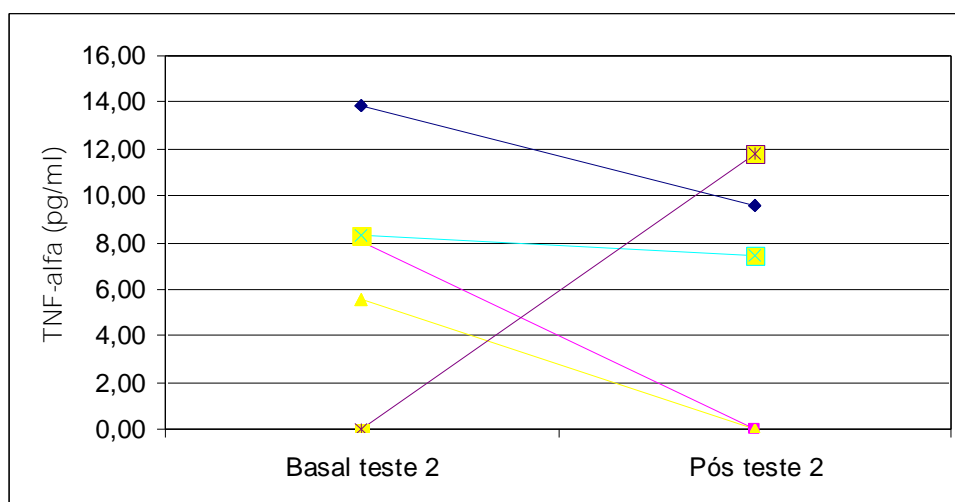


Figura 19 - Liberação de TNF- α nos pacientes participantes da reabilitação no segundo teste de *endurance*

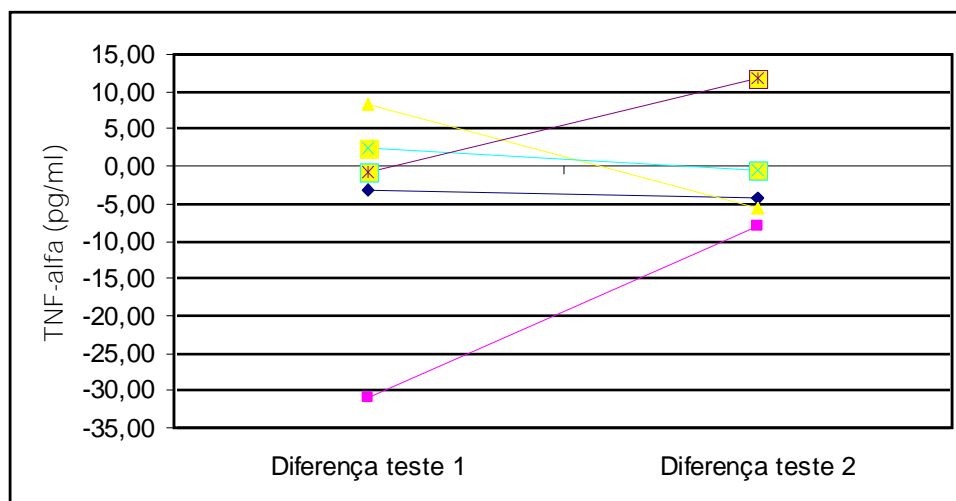


Figura 20 - Variação na liberação de TNF- α nos pacientes participantes da reabilitação entre os testes de *endurance* 1 e 2

5.6 Intensidade de exercício e liberação de citocinas

Não houve associação significativa entre a intensidade de exercício (carga utilizada no teste de *endurance*) e liberação de citocinas (IL-1 β $r=0,10$; IL-6 $r=-0,23$), conforme mostrado nas figuras 21 e 22.

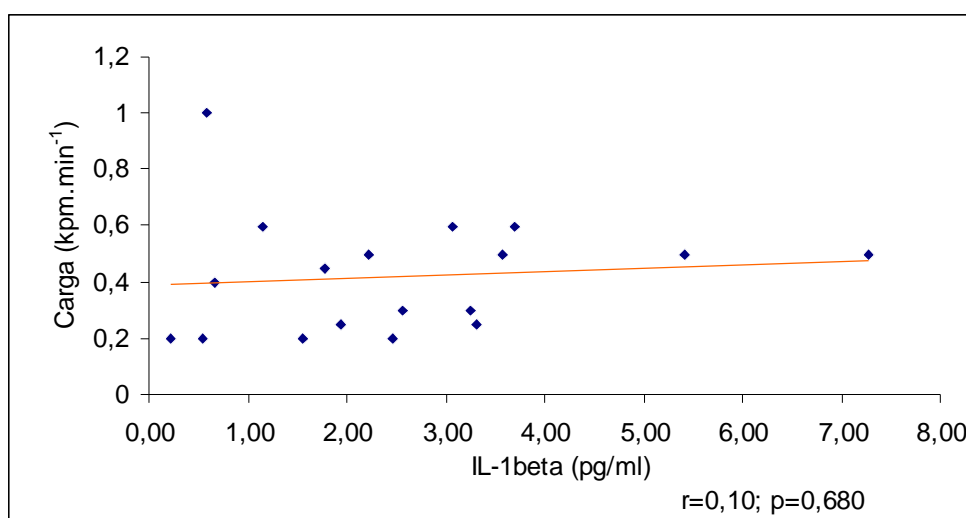


Figura 21 - Correlação entre carga e IL-1 β

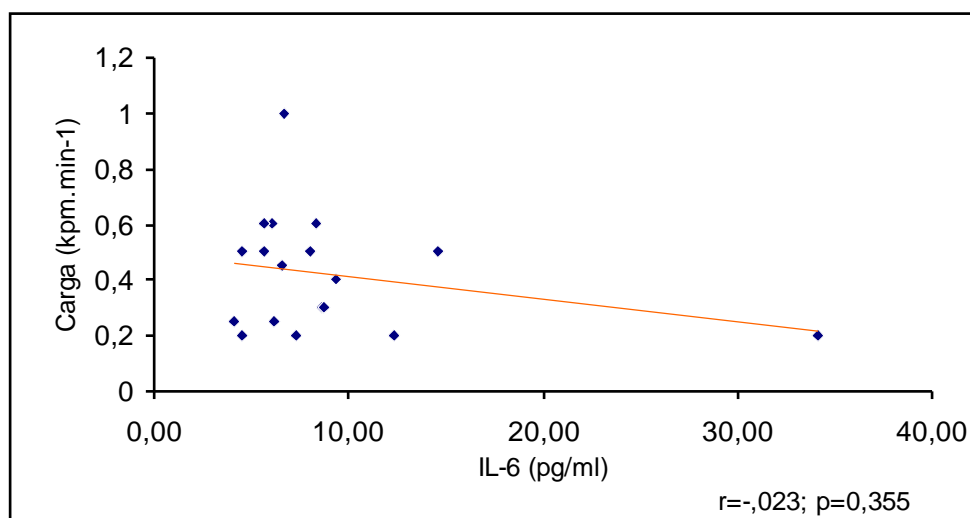


Figura 22 – Correlação entre carga e IL-6

5.7 Exacerbação

Dez pacientes (55%) apresentaram exacerbação da DPOC entre os testes de *endurance* 1 e 2, sendo 8 (72%) do grupo I e 2 (28%) do grupo C. Apenas os pacientes exacerbados liberaram TNF- α . Os pacientes que apresentaram exacerbação da DPOC liberaram mais IL-1 β e IL-6 após o segundo teste de *endurance* que os pacientes que mantiveram-se estáveis, porém só houve diferença estatisticamente significativa na liberação de IL-6, conforme descrito na tabela 10.

Tabela 10 - Liberação de citocinas nos pacientes exacerbados e estáveis após o teste de *endurance 2*

Variável	Exacerbados n=10 Média ± EP	Estáveis n=8 Média ± EP	p	IC 95%
IL-1 β (pg/ml)	3,13 ± 0,66	1,75 ± 0,33	0,053	-3,095 - 0,336
IL-6 (pg/ml)	9,59 ± 1,32	6,31 ± 0,92	0,030*	-6,892 - -0,337
TNF-α (pg/ml)	2,82 ± 1,48	0	0,055	-6,364 - 0,716

* p < 0,05

6. DISCUSSÃO

6.1. Aspectos metodológicos

Seleção dos pacientes

A seleção dos pacientes foi realizada no ambulatório de DPOC do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Foram convidados a participar do estudo pacientes portadores de DPOC candidatos ao programa multidisciplinar de reabilitação pulmonar. A seleção dos pacientes para os grupos intervenção e controle respeitou a posição do paciente na lista de espera para RP, sendo que os primeiros da lista foram incluídos no grupo intervenção e os demais no grupo controle.

Optou-se pela não randomização dos pacientes, visto que a RP é um tratamento já bem estabelecido e recomendado para pacientes sintomáticos¹⁻⁴ e seria necessário desconsiderar a lista de espera para a inclusão no programa de RP caso fosse realizada a randomização. Os pacientes do grupo controle, apresentavam, em média, menos obstrução ao fluxo aéreo em relação aos pacientes da RP, porém estes valores não foram estatisticamente significativos e não influenciaram na liberação de citocinas. Estes pacientes encontravam-se estáveis e assintomáticos.

Foram excluídos pacientes tabagistas, uma vez que o tabagismo interfere na ativação do estresse oxidativo. Os componentes do tabaco atuam diminuindo as defesas antioxidantes e aumentando a produção e liberação de espécies ativas do oxigênio e citocinas pró-inflamatórias a nível celular^{122,124,135}. A inclusão de tabagistas criaria um fator de confusão na análise dos dados.

Para avaliação do estado nutricional foi considerado apenas o índice de massa corpórea, não sendo realizados inquéritos alimentares ou outras medidas objetivas do estado nutricional (como prega cutânea). Sabe-se que a produção e a liberação de IL-1 β e TNF- α podem ser afetadas pelo estado nutricional^{174,185}.

Seleção do tipo de exercício

A escolha do método de exercício, em cicloergômetro, baseou-se nas recomendações dos consensos de reabilitação pulmonar, que não mostram diferenças significativas entre treinamento em esteira, escada ou cicloergômetro⁶²⁻⁶⁴. Entretanto, a utilização do teste em cicloergômetro facilita a monitorização do paciente, assim como permite uma precisão maior na mensuração da carga utilizada¹⁵³. A prescrição do exercício limitada por sintomas e de acordo com a tolerância de cada paciente está em concordância com os consensos previamente publicados⁶²⁻⁶⁴.

O teste de endurance foi escolhido para a coleta de sangue para a dosagem de citocinas para facilitar a comparação com outros estudos, que utilizaram exercício submáximo com carga constante para avaliação do estresse oxidativo após o exercício. O TECP, por ter incremento de carga, pode não produzir esforço por tempo suficiente para modificar o padrão de liberação de citocinas^{118,155,185}.

Os PR supervisionados duram de 6 a 12 semanas. A avaliação do condicionamento físico é realizada após este período. Acredita-se que oito semanas de exercícios aeróbicos regulares, como utilizado neste protocolo, seja um tempo adequado para condicionamento do paciente sedentário portador de DPOC, porém os resultados de consumo máximo de oxigênio após o segundo teste de exercício cardiopulmonar não mostraram alteração em relação aos valores do teste 1. Entretanto, é preciso considerar que embora os pacientes submetidos à RP apresentassem um consumo máximo de oxigênio semelhante após o treinamento, houve um aumento significativo da carga de exercício para uma mesma VO_2 . Similarmente, os pacientes referiram menos dispnéia e dor nos membros inferiores após o segundo teste, mostrando uma adaptação ao esforço.

Coleta de citocinas

O padrão de liberação de citocinas pró-inflamatórias durante o exercício é influenciado por vários fatores, incluindo o tipo e a intensidade do exercício e o condicionamento físico individual¹⁶⁴. Nos pacientes com DPOC também ocorrem

variações na produção e liberação de citocinas de acordo com o material biológico estudado, o estágio da doença e o estado nutricional dos pacientes ^{103,120}.

Existem poucos estudos descrevendo o padrão de liberação de citocinas durante o exercício em pacientes com DPOC. Koechlin et al ¹⁰³ estudaram a relação do exercício físico e a indução de estresse oxidativo e inflamação em pacientes com DPOC. As citocinas foram dosadas em repouso, imediatamente após o exercício e após 6, 12 e 24 horas. Este estudo não mostrou modificação no padrão de liberação de IL-6 e TNF- α após o exercício em dez pacientes portadores de DPOC. Foi utilizado um teste de endurance numa prancha de exercício para o quadríceps da perna dominante. O *kit* para a dosagem das citocinas foi o mesmo utilizado em nosso protocolo - Quantikine® (R&D Systems, Minneapolis, USA) ¹⁰³.

Em outro estudo, Rabinovich et al ¹⁷⁵ demonstraram aumento na liberação de TNF- α em pacientes portadores de DPOC grave após 11 minutos de exercício de moderada intensidade com carga constante em cicloergômetro. Não houve modificação na liberação de IL-6 após o exercício nestes pacientes ¹⁷⁵.

No nosso estudo optou-se por dois momentos para a coleta do sangue para dosagem de citocinas: basal e quinze minutos após o exercício. Estudos publicados previamente sugerem que este tempo seja suficiente para avaliar os efeitos agudos do exercício sobre a liberação de citocinas, já que a produção e liberação de citocinas é desencadeada imediatamente em resposta ao esforço ^{162,165,169,175}. Durante o período de treinamento e com a progressiva melhora no condicionamento físico, a liberação de citocinas pode ocorrer em picos após o esforço, porém é mantido um padrão mais ou menos constante de acordo com o condicionamento físico adquirido ^{169,175}. O perfil de liberação de citocinas assemelha-se ao padrão fisiológico de liberação de citocinas pró-inflamatórias ^{165,169,175}.

Todos os testes e as coletas de sangue no nosso protocolo foram realizados no mesmo horário, procurando com isso minimizar as variações circadianas na produção e na liberação de citocinas ^{146,150}.

Dosagem das citocinas

A dosagem de citocinas em todas as amostras foi realizada pela mesma pessoa e no mesmo momento. Foram dosadas em duplicata e o valor considerado

foi a média das duas medidas para cada amostra. Foram seguidas as instruções para as dosagens descritas pelo fabricante.

6.2 Resultados

Desempenho nos testes de exercício

Houve diferença significativa no limiar de fadiga dos membros inferiores dos pacientes do grupo reabilitado em relação ao controle nos testes de exercício cardiopulmonar. No primeiro teste, antes do condicionamento, os pacientes do grupo intervenção apresentavam mais dor em membros inferiores, relação esta que se inverteu no segundo teste. Estes achados são esperados e decorrem do treinamento de membros inferiores durante a RP.

Os pacientes do grupo intervenção toleraram menos tempo de exercício no primeiro teste de *endurance*. Não há uma razão conhecida para estas diferenças, uma vez que os pacientes dos dois grupos, antes da RP, possuíam características funcionais pulmonares semelhantes e não relatavam desempenho de atividade física regular. Diferenças na capacidade de exercício podem ser observadas em pacientes portadores de DPOC com o mesmo grau de obstrução ao fluxo aéreo, sendo a redução da capacidade de exercício um marcador de mau prognóstico neste grupo de pacientes ³³.

Não houve melhora significativa dos pacientes do grupo I em relação ao grupo C no segundo teste, conforme seria esperado após o período de treinamento. Quando comparados os grupos separadamente, os pacientes submetidos à RP melhoraram o tempo de exercício, a carga e os escores de dispnéia e dor em MMII no segundo teste, demonstrando um melhor condicionamento físico. Nos pacientes não treinados, houve melhora apenas na carga de exercício do segundo TECP, sem que houvesse treinamento físico no período do protocolo. O fato de estarem repetindo o teste, estando mais habituados com o cicloergômetro, pode explicar esta diferença.

Liberação de citocinas

Na literatura são descritos resultados contraditórios em relação à liberação de citocinas em portadores de DPOC, principalmente quanto ao TNF- α ¹⁷⁵. O tipo de exercício, sua intensidade e duração bem como a sensibilidade do teste utilizado parecem influenciar nos resultados ¹⁸⁷. Alguns autores descrevem níveis mais elevados de IL-6 e TNF- α em repouso nos pacientes portadores de DPOC quando comparados a indivíduos normais, sugerindo a presença de inflamação crônica nestes pacientes ¹⁸⁷. Níveis basais de citocinas aumentados podem influenciar o padrão de liberação destes mediadores após o exercício.

No presente estudo foi observada modificação no padrão de liberação apenas da IL-1 β após o exercício nos pacientes portadores de DPOC. Não foram encontradas na literatura referências relacionadas à liberação desta citocina após o exercício na DPOC. Existem poucos estudos em indivíduos normais, sendo que dois demonstraram aumento nos níveis plasmáticos da citocina após o esforço ^{162,167} e outro não detectou alteração ¹⁵⁹, porém os mecanismos ainda não foram elucidados. Como esta citocina é uma das responsáveis por desencadear o processo inflamatório ¹⁴¹, e seu papel na inflamação na DPOC ainda não está estabelecido, infere-se que a modificação no padrão de liberação de IL-1 β após o exercício possa ter relação com a inflamação sistêmica e com o estresse oxidativo induzido pelo exercício no paciente com DPOC.

Semelhante aos resultados observados por Koechlin ¹⁰³ e Rabinovich ¹⁷⁵, em nosso estudo não houve modificação no padrão de liberação de IL-6 após o exercício. Este achado se opõe às observações realizadas em indivíduos normais que são submetidos a exercícios intensos ^{149,150,158-163}. Vários fatores podem estar associados com este padrão de liberação de IL-6, como a ativação simpática, o trabalho muscular intenso e a liberação destes mediadores pelo tecido adiposo e pelas células mononucleares. Os níveis plasmáticos da citocina relacionam-se com a intensidade e duração do exercício e com o dano muscular esquelético causado pelo exercício intenso ^{165,166,169,176}. A manutenção no padrão de liberação de IL-6 poderia ser explicada pela intensidade de exercício, sendo um fator positivo, uma vez que pode ser inferido que o exercício não foi intenso demais e não ocorreu dano muscular detectável induzido pela atividade física.

O exercício não modificou o padrão de liberação do TNF- α , ao contrário do observado por Rabinovich¹⁷⁵ e Koechlin¹⁰³. Sabe-se que na DPOC, os níveis plasmáticos de TNF- α geralmente estão aumentados em relação aos valores observados em indivíduos normais, refletindo a inflamação sistêmica e o estresse oxidativo aumentado^{122,123,136,162,186}. Acredita-se também que o aumento de produção e liberação de TNF- α após exercício no paciente com DPOC possa ser consequência do estresse oxidativo induzido pelo exercício. Neste trabalho não foi possível detectar esta alteração. A intensidade de exercício e o tempo de coleta após o esforço podem ter influenciado os resultados. O TNF- α geralmente retorna para os valores basais 20 minutos após o término do esforço¹⁰³ e quinze minutos podem não ter sido suficientes para detectar alguma diferença.

Não houve associação entre a intensidade de exercício e o estado nutricional (IMC) com a liberação de citocinas. Não houve modificação significativa no peso dos pacientes entre os dois testes. Um fator que poderia modificar o padrão de liberação das citocinas é o metabolismo aumentado e a conseqüente sarcopenia com perda de peso, que pode ocorrer na DPOC e nos pacientes com idade avançada^{58-61,187}. O parâmetro nutricional considerado foi o IMC, que não apresenta boa correlação com a porcentagem de massa magra, não sendo possível avaliar a influência do estado nutricional na liberação de citocinas.

Exacerbações e liberação de citocinas

Os mecanismos da inflamação sistêmica na DPOC não estão completamente elucidados, mas sabe-se que as citocinas desempenham um papel fundamental neste processo. Nas exacerbações, foi sugerido que haja um prejuízo nas defesas antioxidantes das vias aéreas, um aumento na inflamação sistêmica e já foi demonstrado aumento de citocinas e espécies reativas do oxigênio no sangue de pacientes exacerbados¹²⁰.

Quatro estudos descrevem aumento significativo nos níveis plasmáticos de IL-6 nos pacientes que apresentam exacerbação da DPOC^{134,188-190}. Não há descrição na literatura, até o momento, sobre associação entre liberação plasmática de IL-1 β e exacerbação da DPOC.

Apenas pacientes exacerbados apresentaram níveis detectáveis de TNF- α . Há descrição de aumento da concentração de TNF- α no escarro de pacientes com exacerbação da DPOC, porém no mesmo estudo não foi demonstrado alteração nos níveis plasmáticos desta citocina nos pacientes exacerbados ¹⁹¹. Em outro estudo, não foi possível detectar concentrações plasmáticas mensuráveis de TNF- α em pacientes com exacerbação da DPOC e controles saudáveis ¹⁸⁸.

Houve aumento nas três citocinas após o exercício nos pacientes que apresentaram exacerbação da doença no período entre os testes, sendo significativo o aumento na IL-6, confirmando os achados descritos na literatura e sugerindo aumento da resposta inflamatória sistêmica após a exacerbação da DPOC ^{134,188-190}.

7. CONCLUSÕES

- Os pacientes submetidos à reabilitação pulmonar liberaram menos IL-1 β após o exercício físico que os pacientes do grupo controle.
- Não houve diferença significativa na liberação de IL-6 entre os dois testes, quando comparado o grupo intervenção e controle.
- O exercício não modificou o padrão de liberação de TNF- ∞ .
- Não houve associação significativa entre a intensidade de exercício e a liberação de citocinas.
- Houve maior liberação de IL-6 após o segundo teste nos pacientes que apresentaram exacerbação da DPOC.
- Houve liberação de TNF- ∞ apenas nos pacientes que apresentaram exacerbação da DPOC.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Celli BR, MacNee W, et al. Standards for the diagnosis and treatment of patients with CPOD: a summary of the ATS/ERS position paper. *Eur Resp J* 2004; 23: 932-946.
2. American Thoracic Society. Statement: standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Resp Crit Care Med* 1995; 52: S77-S120.
3. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease – COPD updated 2005; <http://www.goldcopd.com>
4. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. II Consenso Brasileiro sobre Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica – DPOC – 2004. *J Pneumol* 2004; 30(5): S1-S42.
5. World Health annual statistics 2003; <http://www.who.int>
6. Mannino M, Homa DM, Akibami LJ, et al. Chronic obstructive pulmonary disease surveillance – United States, 1971-2000. *MMWR* 2002; 51: 1-16.
7. Celli BR, Halbert RJ, Isokana S, et al. Population impact of different definitions of airway obstruction. *Eur Resp J* 2003; 22: 269-273.
8. Menezes AMB, Jardim JR, Padilla RP, et al. Prevalence of chronic obstructive pulmonary disease and associated factors: the PLATINO Study in São Paulo, Brazil. *Cad Saúde Pública* 2005; 21(5): 1565-1573.
9. Menezes AMB, Perez-Padilla R, Jardim JRB, et al. Chronic obstructive pulmonary disease in five Latin American cities (the PLATINO Study): a prevalence study. *Lancet* 2005 online; <http://www.thelancet.com>, doi:10.1016/S0140-6736(05)67632-5.
10. Latin American Project for the Investigation of Obstructive Lung Disease (PLATINO) 2005; <http://www.platino-alat.org>
11. Jardim J, Camelier AA, Rosa FW, et al. A population based study on the prevalence of COPD in São Paulo, Brazil. *Am J Resp Crit Care Med* 2004; 169: A222.

12. Menezes AMB, Victoria CG, Rigatto M, et al. Prevalence and risk factors for chronic bronchitis in Pelotas, RS, Brazil: a population-based study. *Thorax* 1994; 49: 1217-1221.
13. Ministério da Saúde. Informações em Saúde. <http://www.tabnet.datasus.gov.br>
14. Bakke S, Baste V, Hanao R, et al. Prevalence of obstructive lung disease in a general population: relation to occupational title and exposure to some airborne agents. *Thorax* 1991; 46: 863-870.
15. Chen JC, Mannino MD. Worldwide epidemiology of chronic obstructive pulmonary disease. *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 1999; 5: 93-99.
16. Tager IB, Segal MR, Speizer FE, et al. The natural history of forced expiratory volumes. Effect of cigarette smoking and respiratory symptoms. *Am Rev Resp Dis* 1988; 138: 837-849.
17. Xu X, Weiss ST, Rijcken B, Schouten JP. Smoking, changes in smoking habits and rate of decline in FEV₁: new inside into gender differences. *Eur Respir J* 1994; 7: 1056-1061.
18. US Center of Disease Control and Prevention. Vital and health statistics: current estimates from the National Health Interview Survey. Department of Health and Human Services, Public Health Service, 1995. Publication n^o 96-1527.
19. Anthonisen NR, Connett JE, Killy P, et al. Effects of smoking intervention and the use of inhaled anticholinergic bronchodilators on the rate of decline of FEV₁. The Lung Health Study. *JAMA* 1994; 272: 1497-1505.
20. Environmental Protection Agency. Respiratory health effects of passive smoking: lung cancer and other disorders. Washington DC: US Government Printing Office, 1993; NIH Publication n^o 93-3605.
21. White JR, Froeb HF, Kulik JA. Respiratory illness in nonsmokers chronically exposed to tobacco smoke in the work place. *Chest* 1991; 100:39-43.
22. Holt PG. Immune and inflammatory function in cigarette smokers. *Thorax* 1987; 42:241-249.
23. Chen Y. Genetics and pulmonary medicine. 10: Genetic epidemiology of pulmonary function. *Thorax* 1999; 54: 818-824.

24. American Thoracic Society / European Respiratory Society Statement: standards for the diagnosis and management of individuals with alpha-1 antitrypsin deficiency. *Am J Resp Crit Care Med* 2003; 168: 818-900.
25. Tashkin DP, Altose MD, Connett JE, et al. Metacholine reactivity predict changes in lung function over time in smokers with early chronic obstructive pulmonary disease. The Lung Health Study Research Group. *Am J Resp Crit Care Med* 1996; 153: 1802-1811.
26. Morgan WJ. Maternal smoking and infant lung function. Further evidence for an in utero effect. *Am J Resp Crit Care Med* 1998; 158: 689-690.
27. Nishimura K, Izumi T. Dyspnea is a better predictor of 5-year survival than airway obstruction in patients with COPD. *Chest* 2002; 121(5): 1434-1440.
28. Hajiro T, Nishimura K. A comparison of the level of dyspnea vs disease severity in indicating the health-related quality of life of patients with COPD. *Chest* 1999; 116: 1632-1647.
29. Elidí N, Schmier J. The breathlessness, cough, and sputum scale. *Chest* 2003; 124: 2182-2191.
30. Wedzicha JA, Jones PN. Usefulness of the Medical Research Council (MRC) dyspnea scale as a measure of disability in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999; 54: 581-586.
31. Dewan N, Rafique S, Kanwar B, et al. Acute exacerbation of COPD. Factors associated with poor treatment outcome. *Chest* 2000; 117: 662-671.
32. Anthonisen NR, Wright EC, Hodking E, the IPPB Trial Group Prognosis in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am Rev Resp Dis* 1986; 133: 14-20.
33. Celli B, Cote C, Marin J, et al. The body-mass index, airflow obstruction, dyspnea, and exercise capacity index in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2004; 350: 1005-1012.
34. Casaburi R, Patessio A, Ioli F, et al. Reductions in exercise lactic acidosis and ventilation as a result of exercise training in patients with obstructive lung disease. *Am Rev Resp Dis* 1991; 143: 9-18.
35. Celli BR. The importance of spirometry in COPD and asthma: effect on approach to management. *Chest* 2000; 117: S15-19.

36. Tashkin D, Kanner R, Bayley W, et al. Smoking cessation in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a double-blind, placebo-controlled, randomised trial. *Lancet* 2001; 357:1571-1575.
37. Belman MJ, Botnick WC, Shin JW. Inhaled bronchodilators reduce dynamic hyperinflation during exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153:967-975.
38. O'Donnell DE, Lam M, Webb KA. Spirometric correlates of improvement in exercise performance after anticholinergic therapy in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160:542-549.
39. Dahl R, Greefhorst LA, Nowark D, et al. Inhaled formoterol dry powder versus ipratropium in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:778-784.
40. Jones PW, Bosh TK. Quality of life changes in COPD patients treated with salmeterol. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155:1283-1289.
41. ZuWallack RL, Mahler DA, Reilly, et al. Salmeterol plus theophylline combination therapy in the treatment of COPD. *Chest* 2001; 119: 1661-1670.
42. Casaburi R, Mahler DA, Jones PW. A long-term evaluation of once daily tiotropium in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2002; 19: 217-224.
43. Celli B, ZuWallack R, Wang S, Kesten S. Improvement in resting respiratory capacity with tiotropium in COPD patients with increased static lung volumes. *Chest* 2003; 124: 1743-1748.
44. Burge PS, Calverley PM, Jones PW, et al. Randomised, double-blind, placebo-controlled study of fluticasone propionate in patients with moderate to severe chronic obstructive pulmonary disease: the ISOLDE trial. *BMJ* 2000; 320: 1297-1303.
45. The Lung Health Study Research Group. Effect of inhaled triamcinolone on the decline in pulmonary function in chronic obstructive pulmonary disease. *New Engl J Med* 2000; 343: 1902-1909.
46. Vestbo J, Sorensen T, Lange P, et al. Long-term effect of inhaled budesonide in mild and moderate chronic obstructive pulmonary disease: a randomised trial. *Lancet* 1999; 353: 1819-1823.
47. Calverley PM, Boonsawat W, Cseke Z, et al. Maintenance therapy with

budesonide and formoterol in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2003; 21: 74-81

48. Szafranski W, Cukier A, Ramirez A, et al. Efficacy and safety of budesonide/formoterol in the management of COPD. *Eur Respir J* 2003; 21: 74-81.

49. Calverley P, Pauwels R, Vestbo J, et al. Combined salmeterol and fluticasone in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease: a randomised controlled trial. *Lancet* 2003; 361: 449-456.

50. Aaron SD, Vandemheen KL, Hebert P, et al. Outpatient oral prednisone after emergency treatment of chronic obstructive pulmonary disease. *N Eng J Med* 2003; 348:2618-2625.

51. Niewoehner ED, Erbland MI, Deupree RH, et al. Effects of systemic glucocorticoids on exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *N Eng J Med* 1999; 340:1941-1947.

52. Thompson WH, Nielson CP, Carvalho P, et al. Controlled trial of oral prednisone in outpatients with acute COPD exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:407-412.

53. Nocturnal Oxygen Therapy Trial Group. Continuous or nocturnal oxygen therapy in hypoxemic chronic obstructive lung disease. *Ann Intern Med* 1980; 93:391-398.

54. Viegas CAA, Adde FV, Paschoal IA et al. Consenso Brasileiro de Oxigenioterapia Domiciliar Prolongada / SBPT. *J Pneumol* 2000; 26:341-350.

55. National Emphysema Treatment Trial Research Group. A randomized trial comparing lung volume reduction surgery with medical therapy for severe emphysema. *N Eng J Med* 2003; 348:2059-2073.

56. Venuta F, de Giacomo T, Rendina EA, et al. Bronchoscopic lung-volume reduction with one-way valves in patients with heterogenous emphysema. *Ann Thorac Surg* 2005; 79: 411-416.

57. Levine SM, Anzueto A, Peters JL, et al. Medium term functional results of single-lung transplantation for endstage obstructive lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150:398-402.

58. Schols AM, Soeters PB, Dingemans AM, et al. Prevalence and characteristics

of nutritional depletion in patients with stable COPD eligible for pulmonary rehabilitation. *Am Rev Respir Dis* 1993; 154:1151-1156.

59. Schols AM, Slangen J, Volovis L, et al. Weight loss is a reversible factor in the prognosis of chronic obstruction pulmonary disease. *Am J Resp Crit Care Med* 1998; 157: 1791-1797.

60. Landbo C, Prescott E, Lange P, et al. Prognostic value of nutritional status in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Resp Crit Care Med* 1999; 160: 1856-1861.

61. Creutzberg EL, Wouters EF, Monstert R, et al. Efficacy of nutritional supplementation therapy in depleted patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Nutrition* 2003; 19:120-127.

62. Troosters T, Casaburi R, Gosselink R, Decramer M. Pulmonary rehabilitation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Resp Crit Care Med* 2005; 172:19-38.

63. American Thoracic Society. Pulmonary Rehabilitation – 1999. *Am J Resp Crit Care Med* 1999; 159(5 Pt1): 1666-1682.

64. Ries AL, Carlin BW et al. Pulmonary Rehabilitation: Joint ACCP/AACVPR evidence-based guidelines. *Chest* 1997; 112: 1363-1396.

65. British Thoracic Society. Standards of care subcommittee on pulmonary rehabilitation. *Pulmonary Rehabilitation. Thorax* 2001; 56: 827-834.

66. Parker L, Walker J. Effects of a pulmonary rehabilitation program on physiologic measures quality of life, and resource utilization in a health maintenance organization setting. *Respir Care* 1998; 43: 177-181.

67. Griffiths TL, Campbell IA, Burr ML, et al. Results at 1 year of outpatient multidisciplinary pulmonary rehabilitation: a randomized controlled trial. *Lancet* 2000; 355: 362-368.

68. Fishman AP, ed. Pulmonary Rehabilitation Research. *Am J Resp Crit Care Med* 1994; 149: 825-833.

69. Ries AL. Position paper of the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation: scientific basis of pulmonary rehabilitation. *J Cardiopulm Rehabil* 1990; 10: 418-441.

70. Oliveira CTM. Efeitos a curto prazo de um programa multidisciplinar de reabilitação pulmonar em pacientes com Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica. Dissertação de Mestrado Programa de Pós-Graduação em Medicina: Pneumologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2004
71. Burtet MEV. Efeitos a longo prazo da reabilitação pulmonar em pacientes com Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica. Dissertação de Mestrado; Programa de Pós-Graduação em Medicina: Pneumologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2004.
72. Casanova C, Cote C, de Torres JP, et al. Inspiratory-to-total lung capacity ratio predicts mortality in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 591-597.
73. Carlson DJ, Ries AL, Kaplan RM. Predictors of maximum exercise tolerance in patients with COPD. *Chest* 1991; 100: 307-331.
74. Punzal PA, Ries AL, Kaplan RM, et al. Maximum intensity exercise training in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Chest* 1991; 100: 618-623.
75. Elliot MW, Adams L, Cockcroft A, et al. The language of breathlessness. Use of verbal descriptors by patients with cardiopulmonary disease. *Am Rev Resp Dis* 1991; 144: 826-832.
76. Wolkove N, Dajezman E, Colacone A. The relationship between pulmonary function and dyspnea in obstructive lung disease. *Chest* 1989; 96: 1247-1251.
77. Bestall JC, Paul EA, Garrod R, et al. Usefulness of the Medical research Council (MRC) dyspnea scale as a measure of disability in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999; 54: 581-586.
78. Mahler D, Guyatt GH, Jones PW. Clinical measurement of dyspnea. In: Mahler D, ed. *Dyspnea*. New York, Marcel Dekker, 1998; pp.149-198.
79. Borg G. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc* 1982; 14: 377-381.
80. Saetta M, Di Stefano A, Maestrelli P, et al. Activated T-lymphocytes and macrophages in bronchial mucosa of subjects with chronic bronchitis. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 301-306.
81. Saetta M, Di Stefano A, Turano G, et al. CD8+ T-lymphocytes in peripheral

airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 822-826.

82. Eid AA, Ionescu AA, Nixon LS. Inflammatory response and body composition in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 164: 1414-1418.

83. O'Donnell DE, Revill SM, Webbs KA. Dynamic hyperinflation and exercise intolerance in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 770-777.

84. Casaburi R, Patessio A, Ioli F, et al. Reductions in exercise lactic acidosis and ventilation as a result of exercise training in patients with obstructive lung disease. *Am Rev Resp Dis* 1991; 143: 9-18.

85. Whitton F, Jobin J, Simard P-M, et al. Histochemical and morphological characteristics of the vastus lateralis muscle in COPD patients. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30: 1467-1474.

86. Sato Y, Asoh T, Honda Y, et al. Morphologic and histochemical evaluation of muscle in patients with chronic pulmonary emphysema manifesting generalized emaciation. *Eur Neurol* 1997; 37: 116-121.

87. Jobin J, Maltais F, Doyon JF, et al. Chronic obstructive pulmonary disease: capillarity and fiber-type characteristics of skeletal muscle. *J Cardiopul Rehab* 1998; 18: 432-437.

88. Shoup R, Dalsky G, Warner S, et al. Body composition and health-related quality of life in patients with obstructive airways disease. *Eur Resp J* 1997; 10: 1576-1579.

89. Bernard S, Leblanc P, Whitton G, et al. Peripheral muscle weakness in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:629-634.

90. Engelen MAM, Schols AMWJ, Baken C, et al. Nutritional depletion in relation to respiratory and peripheral skeletal muscle function in an outpatient population with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Resp J* 1994; 7: 1793-1797.

91. Gosselink R, Troosters T, Decramer M. Peripheral muscle weakness contributes to exercise limitation in COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153:976-

980.

92. Maltais F, Simard A-A, Simard C, et al. Oxidative capacity of the skeletal muscle and lactic acid kinetics during exercise in normal subjects and in patients with COPD. *Am J Resp Crit Care Med* 1996; 153: 288-293.

93. Maltais F, Jobin J, Sullivan MJ, et al. Lower limb metabolic and hemodynamic responses during exercise in normal subjects and in COPD. *J Appl Physiol* 1998; 84: 1573-1580.

94. American Thoracic Society and European Respiratory Society. Skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Resp Crit Care Med* 1999; 159: S1-40.

95. Gallagher CG. Exercise limitation and clinical exercise testing in chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Chest Med* 1994; 15: 305-326.

96. Nery LE, Wasseman K, Andrews D, et al. Ventilatory and gas exchange kinetics during exercise in chronic airways obstruction. *J Appl Physiol* 1982; 53: 1594-1602.

97. Casaburi R, Goren S, Bhasin S. Substantial prevalence of low anabolic hormone levels in COPD patients undergoing rehabilitation. *Am J Resp Crit Care Med* 1996; 153: A128.

98. Fiaccadori E, Coffrini E, Fracchia C, et al. Hypophosphatemia and phosphorus depletion in respiratory and peripheral muscles of patients with respiratory failure due to COPD. *Chest* 1994; 105: 1392-1398.

99. Repine Je, Bast A, Lankhorst I and The Oxidative Stress Study Group. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 341-357.

100. Heunks LM, Viña J, Herwaarden CL, et al. Xanthine oxidase is involved in exercise-induced oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *The American Physiological Society* 1999; 277:1697-1704.

101. Engelen MP, Schols AM, Does JD, et al. Altered glutamate metabolism is associated with reduced muscle glutathione levels in patients with emphysema. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 98-103.

102. Couillard A, Koechlin C, Cristol JP, et al. Evidence of local exercise-induced

systemic oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease patients. *Eur Respir J* 2002; 20:1123-1129.

103. Koechlin C, Couilliar A, Cristol JP, et al. Does systemic inflammation trigger local exercise-induced oxidative stress in COPD? *Eur Respir J* 2004; 23:538-544

104. Ries A, Kaplan RM, Myers R, et al. Maintenance after pulmonary rehabilitation in chronic lung disease. A randomized trial. *Am J Resp Crit Care Med* 2003; 167: 880-888.

105. Troosters T, Gosselink R, Decramer M. Short- and long-term effects of outpatient rehabilitation in patients with chronic obstructive pulmonary disease: A randomized trial. *Am J Med* 2000; 109: 297-312.

106. Strijbos JH, Postma DS, van Altm R, et al. A comparison between an outpatient hospital-based pulmonary rehabilitation program and a home-care pulmonary rehabilitation program in patients with COPD – A follow-up of 18 months. *Chest* 1996; 109: 366-372.

107. Ringbaeck TJ, Broendum E, Hemmingsen L, et al. Rehabilitation of patients with chronic obstructive pulmonary disease. Exercise twice a week is not sufficient! *Respir Med* 2000; 94: 150-154.

108. Green RH, Singh SJ, Williams J, et al. A randomized controlled trial of four weeks versus seven weeks of pulmonary rehabilitation in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2001; 56: 143-145.

109. Lacasse Y, Brosseau L, Milne S, et al. Pulmonary rehabilitation for chronic obstructive pulmonary disease (Cochrane Review). *The Cochrane Library*. Oxford: Update software 2003; Issue 3.

110. California Pulmonary Rehabilitation Collaborative Group. Effects of pulmonary rehabilitation on dyspnea, quality of life, and healthcare costs in California. *J Cardiopulm Rehabil* 2004; 24(1): 52-62.

111. American Thoracic Society. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 111-117.

112. Redelmeier DA, Bayoumi AM, Goldstein RS, et al. Interpreting small differences in functional status: The six minute walk test in chronic lung disease patients. *Am J Resp Crit Care Med* 1997; 155: 1278-1282.

113. Shing SJ, Morgan MD, Scott S, et al. Development of a shuttle walking test of disability in patients with chronic airways obstruction. *Thorax* 1992; 47: 1019-1024.
114. O'Donnell DE, McGuire MA, Samil L, et al. The impact of the exercise reconditioning on breathlessness in severe chronic airflow limitation. *Am J Resp Crit Care Med* 1995; 152: 2005-2013.
115. Zacarias EC, Neder JA, Widom SP, et al. Heart rate at the estimated lactate threshold in patients with chronic obstructive pulmonary disease: effects on the target intensity for dynamic exercise training. *J Cardiopulm Rehabil* 2000; 20: 369-376.
116. Celli Br, Rassulo J, Make BJ. Dissynchronous breathing during arm but not leg exercise in patients with chronic airflow obstruction. *N Engl J Med* 1986; 314: 1485-1490.
117. Martines FJ, Vogel PD, Dupont DN, et al. Supported arm exercises vs unsupported exercise in the rehabilitation of patients with severe airflow obstruction. *Chest* 1993; 103: 1397-1402.
118. Ortega F, Toral J, Cejudo P, et al. Comparison of effects of strength and endurance training in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Resp Crit Care Med* 2002; 166: 669-674.
119. Lothers F, van Tol B, Kwakkel G, et al. Effects of controlled inspiratory muscle training in patients with COPD: a meta-analysis. *Eur Respir J* 2002; 20(3): 570-576.
120. Drost ME, Skwarski KM, Sauleda J, et al. Oxidative stress and airway inflammation in severe exacerbation of COPD. *Thorax* 2005; 60:293-300.
121. Keatings VM, Barnes PJ. Granulocyte activation markers in induced sputum: comparison between chronic obstructive pulmonary disease, asthma, and normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155:449-453.
122. Rahman I, Morrison D, Donaldson K, et al. Systemic oxidative stress in asthma, COPD and smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:1055-1060.
123. Oudijk EJ, Nijhuis EH, Zwank MD. Systemic inflammation in COPD visualized by gene profiling in peripheral blood neutrophils. *Thorax* 2005; 60: 538-544.
124. Rahman I, Smith CA, Lawson MF, et al. Induction of gamma-glutamylcysteine synthetase by cigarette smoke is associated with AP-1 in human alveolar epithelial cells. *FEBS Lett* 1996; 396: 21-25.

125. Hill AT, Bayley D, Stockley RA. The interrelationship of sputum inflammatory markers in patients with chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 893-898.
126. Baraldo S, Turato G, Badin C, et al. Neutrophilic infiltration within the airway smooth muscle in patients with COPD. *Thorax* 2004; 59: 308-312.
127. Pesci A, Balbi B, Majori M, et al. Inflammatory cells and mediators in bronchial lavage of patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma. *Eur Respir J* 1998; 12: 380-386.
128. Keatings VM, Collins PD, Scott DM, et al. Differences in interleukin-8 and tumor necrosis factor-alpha in induced sputum from patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 893-898.
129. Yamamoto C, Yoneda T, Yoshikawa M, et al. Airway inflammation in COPD assessed by sputum levels of interleukin-8. *Chest* 1997; 112: 505-510.
130. Beeh KM, Jutta B, Kornmann MD, et al. Long term repeatability of induced sputum cells and inflammatory markers in stable, moderately severe COPD. *Chest* 2003; 123: 778-783.
131. Rahman I, MacNee W. Regulation of redox glutathione levels and gene transcription in lung inflammation: therapeutic approaches. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 1405-1420.
132. Donaldson GC, Seemungal TA, Patel IS, et al. Longitudinal changes in the nature, severity and frequency of COPD exacerbations. *Eur Respir J* 2003; 22: 931-936.
133. Saetta M, Di Stefano A, Turano G, et al. Airway eosinophilia in chronic bronchitis during exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 1646-1652.
134. Hurst JR, Perera WR, Wilkinson TM, et al. Systemic and upper and lower airway inflammation at exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 173: 71-78.
135. Pinto-Plata VM, Müllerova H, Toso JF, et al. C-reactive protein in patients with COPD, control smokers, and no smokers. *Thorax* 2005 online, <http://www.thoraxjnl.com>, doi:10.1136/thx.2005.042200
136. Gun WQ, Man SC, Senthilselvan DD. Association between chronic obstructive pulmonary disease and systemic inflammation: a systematic review and a meta-

analysis. *Thorax* 2004; 59:574-580.

137. Van Helvoot HA, van de Pol MH, Heijdra YF, Deknuijzen PN. Systemic inflammation response to exhaustive exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* 2005; 99: 1555-567.

138. Franciosi LG, Page CP, Celli B, et al. Markers of disease severity in chronic obstructive pulmonary disease. *Pulm Pharmacol Ther* 2005 online, <http://www.sciencedirect.com>, doi:10.1016/j.pupt.2005.05.001

139. Opal SM, De Palo DA. Anti inflammatory cytokines. *Chest* 2000; 117:162-172

140. Dinarello CA. Role of pro and anti-inflammatory cytokines during inflammation: experimental and clinical findings. *J Biol Regul Homeost Agents*. 1997; 11:91-103.

141. Dinarello CA. Inflammatory cytokines: interleukin-1 and tumor necrosis factor as effector molecules in autoimmune diseases. *Current Opinion in Immunology* 1991;3: 941-948.

142. Wewers MD, Dare HA, Winnard AV, et al. IL-1 beta-converting enzyme (ICE) is present and functional in human alveolar macrophages: macrophage IL-1 beta release limitation is ICE independent. *J Immunol*. 1997;159: 5964-5972.

143. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. 1996; 87: 2095-2147.

144. Solary E, Dubrez L, Eymin B. The role of apoptosis in the pathogenesis and treatment of diseases. *Eur Respir J*. 1996; 9: 1293-1305.

145. Kishimoto T. IL-6: from laboratory to bedside. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2005; 28:177-186.

146. Vgontzas AN, Bixler EO, L HM. IL-6 and its circadian secretion in humans. *Neuroimmunomodulation*. 2005;12: 131-140.

147. Kishimoto T. Interleukin-6: from basic science to medicine - 40 years in immunology. *Annu Rev Immunol*. 2005; 23: 1-21.

148. Bruunsgaard H, Pedersen BK. Age-related inflammatory cytokines and disease. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2003; 23: 15-39.

149. Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise *J Appl*

Physiol. 2005; 98: 1154-1162.

150. Pedersen BK, Bruunsgaard H, Ostrowski K, et al. Cytokines in aging and exercise. *Int J Sports Med* 2000; 21 (suppl 1):S4-9.

151. Hehlgans T, Mannel DN. The TNF-TNF receptor system. *Biol Chem* 2002; 383: 1581-1585.

152. Liu ZG. Molecular mechanism of TNF signaling and beyond. *Cell Res.* 2005; 15: 24-27.

153. American College of Sports Medicine. Position standard. The recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness, and flexibility in healthy adults. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30: 975-91.

154. Hurley BF, Seals DR, Ehsani AA, et al. Effects of high-intensity strength training on cardiovascular function. *Med Sci Sports Exerc* 1984; 16: 483-488.

155. Holloszy JO, Coyle EF. Adaptation of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *J Appl Physiol* 1984; 56: 831-838.

156. Polidori MC, Medocci P, Cherubini A, Senin U. Physical activity and oxidative stress during aging. *International Journal in Sports Medicine* 2000; 21: 154-157.

157. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 1993; 90: 7915-7922.

158. Pedersen BK, Steensberg A, Schjerling P. Exercise and interleukin-6. *Curr Opin Hematol* 2001; 8:137-141.

159. Jankord R, Jemiolo B. Influence of physical activity on serum IL-6 and IL-10 levels in healthy older men. *Med Sci Sports Exerc* 2004; 36: 960-964.

160. Holmes AG, Watt MJ, Febbraio MA. Suppressing lipolysis increases interleukin-6 at rest and during prolonged moderate-intensity exercise in humans. *J Appl Physiol.* 2004; 97:689-696.

161. Lundby C, Steensberg A. Interleukin-6 response to exercise during acute and chronic hypoxia. *Eur J Appl Physiol.* 2004 ; 91: 88-93.

162. Moldoveanu AI, Shephard RJ, Shek PN. Exercise elevates plasma levels but not gene expression of IL-1beta, IL-6, and TNF-alpha in blood mononuclear cells. *J Appl Physiol*. 2000 ; 89:1499-1504.
163. Peake JM, Katsuhiko S, Hordern M, et al. Plasma cytokine changes in relation to exercise intensity and muscle damage. *Eur J Appl Physiol* 2005; 95: 514-521.
164. Colbert LH, Visser M, Simonsick EM, et al. Physical activity, exercise and inflammatory markers in older adults: findings from the Health, Aging and Body Composition Study. *JAGS* 2004; 52: 1098-1104.
165. Peake JM, Katsuhiko S, Wilson G, et al. Exercise-induced muscle damage, plasma cytokines and markers of neutrophil activation. *Mes Sci Sports Exerc* 2005; 37: 737-745.
166. Minetto M, Rainoldi A, Gazzoni M, et al. Differential responses of serum and salivary interleukine-6 to acute strenuous exercise. *Eur J Appl Physiol* 2005; 93: 679-686.
167. Vassilakopoulos T, Karatza MH, Katsaounou P, et al. Antioxidants attenuate the plasma cytokine response to exercise in humans. *J Appl Physiol* 2003; 94: 1025-1032.
168. Steinacker JM, Lormes W, Reissenecker S, Liu Y. New aspects of the hormone and cytokine response to training. *Eur J Appl Physiol* 2004; 91: 382-391.
169. Ostrowski K, Schjerling P, Pedersen BK. Physical activity and plasma interleukin-6 in humans - effect of intensity of exercise. *Eur J Appl Physiol*. 2000 ; 83: 512-515.
170. Steensberg A, Toft AD, Schjerling P, Halkjaer-Kristensen J, Pedersen BK. Plasma interleukin-6 during strenuous exercise: role of epinephrine. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001, 281: C1001-1004.
171. Meyer T, Gabriel HH, Ratz M, et al. Anaerobic exercise induces moderate acute phase response. *Med Sci Sports Exerc* 2001, 33:549-555.
172. Niess AM, Passek F, Lorenz I, et al. Expression of the antioxidant stress protein heme oxygenase-1 (HO-1) in human leukocytes. *Free Radic Biol Med* 1999, 26:184-192.

173. Greiwe JS, Cheng B, Rubin DC, et al. Resistance exercise decreases skeletal muscle tumor necrosis factor alpha in frail elderly humans. *FASEB J* 2001; 15: 475-482.
174. Starkie RL, Arkinstall MJ, Koukoulas I, Hawley JA, Febbraio MA. Carbohydrate ingestion attenuates the increase in plasma interleukin-6, but not skeletal muscle interleukin-6 mRNA, during exercise in humans. *J Physiol* 2001; 533:585-591.
175. Rabinovich RA, Figueras M, Ardite E, et al. Increased tumour necrosis factor-alpha plasma levels during moderate-intensity exercise in COPD patients. *Eur Respir J*. 2003; 21: 789-794.
176. Pedersen BK, Steensberg PK, Keller C, et al. Muscle-derived interleukine-6: lipolytic, anti-inflammatory and immune effects. *Eur J Physiol* 2003; 446: 9-16.
177. Koechlin C, Maltais F, Saey D, et al. Hypoxaemia enhances peripheral muscle oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2005; 60: 834-841.
178. Yende S, Waterer GW, Tolley E, et al. Role of inflammatory markers in ventilatory limitation and muscle dysfunction in obstructive lung disease in the well functioning elderly. *Thorax*. 2005 online; <http://www.thoraxjnl.com>, doi:10.1136/thx.2004.034181.
179. Broekhuizen R, Wouters EF, Creutzberg EC, Schols AM. Elevated CRP levels mark metabolic and functional impairment in advanced COPD. *Thorax*. 2005 online, <http://www.thoraxjnl.com>. doi:10.1136/thx.2005.041996
180. Spruit MA, Gosselink R, Troosters T, et al. Low-grade systemic inflammation and the response to exercise training in patients with advanced COPD. *Chest* 2005; 128: 3183-3190.
181. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. Diretrizes para testes de função pulmonar. *J Pneumol* 2002; 28 (suppl 3): S1-S238.
182. Knudson RJ, Lebowitz MD, Holberg CJ, Burrows B. Changing in the normal maximal expiratory flow-volume curve with growth and aging. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127: 725-734.
183. American Thoracic Society / American College of Chest Physicians. Statement on cardiopulmonary exercise testing. *Am J Resp Crit Care Med* 2003; 167: 211-277.

184. Gosselink R, Troosters T, Decramer M. Exercise testing: why, wick and how interpret. *Breathe* 2004; 1: 121-129.
185. Pedersen BK, Ostrowski K, Rohde T, Bruunsgaard H The cytokine response to strenuous exercise. *Can J Physiol Pharmacol* 1998; 76: 505-511.
186. MacNee W, Rahman I. Oxidants and antioxidants as therapeutic targets in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Resp Crit Care Med* 1999; 160: S58-S65.
187. Moulias R, Meaume S, Raynaud-Simon A. Sarcopenia, hypermetabolism and aging. *Z Gerontol Geriat* 1999; 33: 425-432.
188. Malo O, Sauleda J, Busquets X, et al. Systemic inflammation during exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Arch Bronconeumol* 2002; 38(4): 172-176.
189. Wedzicha JA, Seemungal TA, MacCallum PK, et al. Acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease are accompanied by elevations of plasma fibrinogen and serum IL-6 levels. *Thromb Haemost* 2000; 84(2): 210-215.
190. Seemungal TA, Harper-Owen R, Bhowmik A, et al. Respiratory viruses, symptoms and inflammatory markers in acute exacerbations and stable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1618-1623.
191. Daldegan MB, Teixeira MM, Talvani A. Concentration of CCL11, CXCL8 and TNF-alpha in sputum and plasma of patients undergoing asthma or chronic obstructive pulmonary disease exacerbation. *Braz J Med Biol Res* 2005; 38(9): 1359-1365.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)