

Laura Miranda de Oliveira Caram

**Associação entre estresse oxidativo, inflamação
e manifestações sistêmicas em tabagistas e
pacientes com DPOC leve e moderado**

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

Orientadora: Prof^a. Titular *Orma de Godoy*

Co-orientadoras: Dr^a. *Suzana Erico Tanni Minamoto*

Dr^a. *Camila Renata Corrêa*

Bolsa CAPES – Doutorado
Auxílio FAPESP - 2012/22321-0

Botucatu
2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Caram, Laura Miranda de Oliveira.

Associação entre estresse oxidativo, inflamação e manifestações sistêmicas em tabagistas e pacientes com DPOC leve e moderado / Laura Miranda de Oliveira Caram. - Botucatu, 2015

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Irma de Godoy

Coorientador: Suzana Erico Tanni Minamoto

Coorientador: Camila Renata Corrêa

Capes: 40101002

1. Tabagismo. 2. Pneumopatias obstrutivas. 3. Stress oxidativo. 4. Pulmão - Inflamação. 5. Agentes anti-inflamatórios.

Palavras-chave: doença pulmonar obstrutiva crônica; estresse oxidativo; mediadores da inflamação; tabagismo.

Laura Miranda de Oliveira Caram

Associação entre estresse oxidativo, inflamação e manifestações sistêmicas em tabagistas e pacientes com DPOC leve e moderado

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

Orientadora: Prof^a. Titular *Drma de Godoy*

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. *José Antônio Baddini Martinez*
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto,
Universidade de São Paulo

Dr. *Oliver Augusto Nascimento*
Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP

Dr^a. *Mariana Gobbo Braz*
Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP

Dr^a. *Ângela*
Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP

Botucatu, 27 de fevereiro de 2015.

Epígrafe

“De tudo ficaram três coisas: a certeza de que ele estava sempre começando, a certeza de que era preciso continuar e a certeza de que seria interrompido antes de terminar. Fazer da interrupção um caminho novo. Fazer da queda um passo de dança, do medo uma escada, do sono uma ponte, da procura um encontro.”

Fernando Sabino

Dedicatória

Dedico essa tese aos meus PAIS, pelo apoio e incentivo em todos os momentos. Agradeço a dedicação e a confiança para que eu pudesse continuar a caminhar em busca dos meus ideais.

Dedico também a minha IRMÃ, meu cunhado e ao meu sobrinho. O amor, o carinho e a amizade me ajudaram durante cada etapa deste trabalho.

Agradecimento Especial

Agradeço a Profa. IRMA DE GODOY pela oportunidade, confiança e por me incentivar sempre a buscar novos conhecimentos e aperfeiçoamento durante 8 anos. Seu profissionalismo, dedicação e seus ensinamentos servirão de exemplo para minha vida profissional, sempre com o objetivo de realizar o que eu me propuser da melhor maneira.

Agradeço a Dra. SUZANA ERICO TANNI MINAMOTO e a Dra. CAMILA RENATA CORRÊA pela amizade e colaboração no estudo, desde a execução do projeto a finalização da tese.

Agradecimentos

Aos PACIENTES que gentilmente aceitaram participar desta pesquisa.

Aos meus FAMILIARES que sempre estiveram presentes e me incentivaram. Obrigada pelas orações, amor, carinho e incentivo em todos os momentos.

Aos meus AMIGOS sempre presentes (ao meu lado ou de coração) que me apoiaram em todos os momentos.

Aos amigos do grupo de pesquisa: ANDRÉ, THAÍS, LUDIMILA, CAROLINE KNAUT, CAROLINA BONFANTI, SUZANA, LIANA, STEPHÂNIA e TALITA. Obrigada pela ajuda na coleta de dados, pela amizade e pelo apoio no dia-a-dia.

A RENATA FERRARI e LARISSA FRESCHI que sempre estiveram ao meu lado desde o início dessa caminhada.

A Profa. Dra. MARIANA GOBBO BRAZ pelas sugestões, orientações e ensinamentos.

A FLAVIA, KÁTINA e VICK pela ajuda e ensinamentos durante as atividades no laboratório.

Ao querido seu OSMAR que sempre me apoiou, incentivou e fez a diferença enquanto estava entre nós (in memoriam).

As funcionárias da função pulmonar: LURDINHA, LUCIA, EDENICE, ROSANA, SIBELE, ESTEFÂNIA e TATIANE pela amizade, atenção com os pacientes e pela ajuda e carinho no dia-a-dia.

Aos FUNCIONÁRIOS DA PÓS-GRADUAÇÃO da Faculdade de Medicina de Botucatu pela paciência e dedicação.

Aos FUNCIONÁRIOS DO DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA pela disponibilidade e auxílio operacional.

Sumário

Resumo.....	1
Abstract	4
1. Introdução	7
2. Objetivos	14
3. Indivíduos e Métodos	16
3.1 Indivíduos.....	17
3.1.1 Delineamento	19
3.2 Métodos	19
3.2.1 Avaliação clínica e do estado tabágico	19
3.2.2 Avaliação laboratorial	20
3.2.3 Radiograma de tórax, espirometria pré e pós-broncodilatador e oximetria de pulso.....	20
3.2.4 Mediadores inflamatórios no sangue.....	21
3.2.5 Indicadores de estresse oxidativo.....	22
3.2.6 Avaliação da composição do corpo	22
3.2.7 Força muscular periférica.....	23
3.2.8 Teste de Caminhada de seis minutos.....	24
3.2.9 Avaliação do estado geral de saúde.....	24
4. Análise estatística	26
5. Resultados	28
5.1 Características gerais.....	29
5.2 Estresse oxidativo.....	32
5.3 Inflamação sistêmica	33
5.4 Qualidade de vida, escore de ansiedade e depressão.....	36
5.5 Capacidade funcional de exercício e força muscular	38
5.6 Análise de regressão.....	39
6. Discussão.....	44
7. Conclusões.....	56
8. Referências	58
9. Anexos	70

Lista de Ilustrações

Figura 1 - Diagrama de inclusão dos indivíduos no protocolo.....	17
Figura 2 - Delineamento das avaliações dos indivíduos incluídos no estudo	19
Figura 3 - Concentrações dos AGEs nos três grupos de estudo	32
Figura 4 - Concentrações dos sRAGE nos grupos de estudo	33
Figura 5 - Concentrações de PCR nos três grupos de estudo	34
Figura 6 - Concentrações de IL6 nos três grupos de estudo	34
Figura 7 - Concentrações de TNFR1 nos três grupos de estudo	35
Figura 8 - Concentrações de TNFR2 nos três grupos de estudo	36

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Características gerais dos indivíduos dos três grupos incluídos no estudo	29
Tabela 2 - Dados de espirometria e oximetria de pulso dos indivíduos dos três grupos incluídos no estudo	30
Tabela 3 - Componentes hematológicos e concentrações bioquímicas dos indivíduos de acordo com os grupos	31
Tabela 4 - Perfil lipídico dos indivíduos de acordo com os grupos	31
Tabela 5 - Avaliação do estado geral de saúde dos indivíduos de acordo com os grupos .	37
Tabela 6 - Capacidade funcional de exercício e força muscular periférica de acordo com os grupos	38
Tabela 7 - Regressão linear múltipla para concentrações dos AGEs	39
Tabela 8 - Regressão linear múltipla para concentrações da IL6.....	40
Tabela 9 - Regressão linear múltipla para concentrações da PCR	40
Tabela 10 - Regressão linear múltipla para concentrações do receptor de TNFR1	41
Tabela 11 - Regressão linear múltipla para concentrações do receptor de TNFR2	41
Tabela 12 - Regressão linear múltipla para qualidade de vida (escore capacidade Funcional SF-36)	42
Tabela 13 - Regressão linear múltipla para capacidade funcional de exercício (DP6)	42
Tabela 14 - Regressão linear múltipla para composição do corpo (IMMC).....	43

Lista de Abreviaturas

DPOC - Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

VIGITEL - Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

MDA - Malondialdeído

MGO - Metilglioxal

GO - Glioxal

HNE - 4-hidroxi-nonenal

AGEs - Produtos Finais de Glicação Avançada

ALEs - Lipoxidação

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

RAGE - Receptor de Produto Final de Glicação Avançada

NFkB - Fator Nuclear Kappa B

EsRAGE - Secreção Endógena do Receptor de Produto Final de Glicação Avançada

VEF₁ - Volume Expiratório Forçado no Primeiro Segundo

TNFα - Fator de Necrose Tumoral Alfa

IL - Interleucina

PCR - Proteína C-reativa

CVF - Capacidade Vital Forçada

VEF₁/CVF - Relação do Volume Expiratório Forçado no Primeiro Segundo e Capacidade Vital Forçada

GOLD - Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease

SBPT - Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa

CO - Monóxido de Carbono

HDL - Lipoproteína de Alta Densidade

LDL - Lipoproteína de Baixa Densidade

TGO - Transaminase Glutâmico Oxalacética

TGP - Transaminase Glutâmico Pirúvica

Gama GT - Gama Glutamil Transpeptidase

TNFR1 - Receptor do Fator de Necrose Tumoral Alfa 1

TNFR2 - Receptor do Fator de Necrose Tumoral Alfa 2

IMC - Índice de Massa do Corpo

ESPEN - Sociedade Europeia de Nutrição Enteral e Parenteral

MMC - Massa Magra do Corpo

IMMC - Índice de Massa Magra do Corpo

RM - Repetição Máxima

ATS - *American Thoracic Society*

DP6 - Distância Percorrida em Seis Minutos

PA - Pressão Arterial Sistêmica

SpO₂ - Oximetria de Pulso

FC - Frequência Cardíaca

FR - Frequência Respiratória

SF-36 - *Medical Outcomes Study 36-item Short-Form Health Survey*

HAD - Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão

ANOVA - Análise de Variância

Log IL6 - Logaritmo Interleucina 6

Resumo

Caram, L.M.O. ASSOCIAÇÃO ENTRE ESTRESSE OXIDATIVO, INFLAMAÇÃO E MANIFESTAÇÕES SISTÊMICAS EM TABAGISTAS E PACIENTES COM DPOC LEVE E MODERADO. 2015. f.80 Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2015.

Foi realizado estudo transversal para avaliar e comparar a associação entre estresse oxidativo e estado inflamatório e suas relações com a força muscular, a massa muscular sistêmica, a capacidade funcional de exercício e o estado geral de saúde em tabagistas, pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) leve/moderado e controles não tabagistas. Foram avaliados 32 tabagistas ativos (carga tabágica ≥ 10 anos/maço) sem DPOC, 32 pacientes com DPOC leve/moderado [tabagistas ativos ou ex-tabagistas (carga tabágica ≥ 10 anos/maço)] e 32 indivíduos não tabagistas. Todos os indivíduos foram submetidos à avaliação clínica e do estado tabágico, espirometria pré e pós-broncodilatador, oximetria de pulso e as concentrações de mediadores inflamatórios [proteína C-reativa (PCR), interleucina (IL) 6, receptores do fator de necrose tumoral alfa (TNFR1 e TNFR2)] e indicadores de estresse oxidativo [produtos finais de glicação avançada (AGEs) e receptor solúvel do produto final de glicação (sRAGE)] foram avaliadas no soro. Foi realizada avaliação da composição do corpo por bioimpedância, da força muscular periférica por dinamometria, da capacidade funcional de exercício (distância percorrida em seis minutos) e da avaliação do estado geral de saúde, por meio do *Medical Outcomes Study 36-item Short-Form Health Survey* (SF-36) e da Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão (HAD). Tabagistas ($p < 0,001$) e pacientes com DPOC ($p < 0,001$) apresentaram valores superiores de AGEs quando comparados aos controles. Não houve diferença estatisticamente significativa entre tabagistas e pacientes com DPOC. As concentrações de sRAGE não diferiram entre os grupos ($p = 0,92$). Tabagistas ($p = 0,01$) e pacientes com DPOC ($p = 0,01$) apresentaram valores superiores da PCR em comparação aos controles, sem diferenças nas demais comparações. As concentrações de IL6 ($p = 0,07$) e TNFR1 ($p = 0,07$) não diferiram entre os grupos. Os valores de TNFR2 foram mais elevados nos pacientes com DPOC quando comparado a tabagistas ($p = 0,004$) e controles

($p=0,004$). A análise dos fatores associados com o estresse oxidativo e a inflamação sistêmica mostrou que o tabagismo ($p=0,04$), a PCR ($p=0,03$) e a IL6 ($p=0,03$) estavam associados de forma positiva com as concentrações dos AGEs. Os valores médios da PCR apresentaram associação positiva com o tabagismo ($p=0,03$), o TNFR1 ($p=0,006$) e o TNFR2 ($p=0,001$). Além disso, a presença de DPOC ($p=0,02$) e a PCR ($p=0,001$) apresentaram associação positiva com as concentrações de TNFR2. Portanto, os tabagistas e pacientes com DPOC precoce apresentam aumento da inflamação sistêmica e do estresse oxidativo. A identificação da associação dos marcadores do estresse oxidativo com os mediadores inflamatórios e a presença de tabagismo e DPOC sugerem a participação dos produtos de glicação nos mecanismos fisiopatológicos da doença. Não observamos associação entre os marcadores de estresse oxidativo e inflamatórios com a composição do corpo, da qualidade de vida e a capacidade funcional de exercício.

Palavras chaves: tabagismo, doença pulmonar obstrutiva crônica, mediadores da inflamação, estresse oxidativo.

Abstract

Caram, L.M.O. ASSOCIATION BETWEEN OXIDATIVE STRESS, INFLAMMATION AND SYSTEMIC MANIFESTATIONS IN SMOKERS AND PATIENTS WITH MILD AND MODERATE COPD. 2015. f.80 Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2015.

The aim of this study was to evaluate the association between oxidative stress and inflammatory markers and their relationship with muscle strength, systemic muscle mass, exercise capacity, quality of life in smokers, mild/moderate COPD patients and nonsmokers controls. Were evaluated 32 active smokers (smoking history > 10 pack/years) without COPD, 32 mild/moderate COPD patients [current smokers or former smokers (smoking history > 10 pack/years) and 32 nonsmokers. All individuals underwent to medical and smoking status evaluations, spirometry pre and post-bronchodilator and pulse oximetry. The concentration of inflammatory mediators [C-reactive protein (CRP), interleukin (IL) 6, and tumor necrosis factor-alpha receptors (TNFR1 and TNFR2)] and indicators of oxidative stress [advanced glycation end-products (AGEs) and soluble receptors for advanced glycation end-products (sRAGE)] were measured in serum. We assessed body composition by bioimpedance, peripheral muscle strength by dynamometry, exercise capacity (six minutes walk distance) and the health status through the Medical Outcomes Study 36-Item Short-Form Health Survey (SF-36) and the Hospital Anxiety and Depression Scale (HAD). Smokers ($p < 0.001$) and COPD patients ($p < 0.001$) had higher values of AGEs when compared to controls there was no statistically significant difference between smokers and COPD patients. The sRAGE concentrations did not differ between groups ($p = 0.92$). Smokers ($p = 0.01$) and patients with COPD ($p = 0.01$) showed higher values of CRP compared to controls, there was no statistical significant difference between smokers and COPD groups. The concentrations of IL-6 ($p = 0.07$) and TNFR1 ($p = 0.07$) did not differ between groups. Regarding concentrations of TNFR2, COPD patients showed higher values when compared to smokers ($p = 0.004$) and controls ($p = 0.004$). We identified positive association of smoking ($p = 0.04$), CRP ($p = 0.03$) and IL6 ($p = 0.03$) with the concentrations of AGEs. The smoking ($p = 0.03$), TNFR1 ($p = 0.006$) and TNFR2 ($p = 0.001$) were

positively associated with CRP concentrations. The presence of COPD ($p=0.02$) and CRP ($p = 0.001$) showed positive correlation with the concentration of TNFR2. Smokers and patients with early COPD have increased systemic inflammation and oxidative stress. The association between mediators of oxidative stress, systemic inflammation, smoking and the presence of COPD suggest the involvement of AGEs in the pathophysiology of the disease. We did not find an association between oxidative stress and systemic inflammation with body composition, quality of life and exercise capacity.

Keywords: smoking, chronic obstructive pulmonary disease, inflammation mediators, oxidative stress.

1. Introdução

O tabagismo é uma doença crônica e a principal causa evitável de morte no mundo. Está relacionado a mais de 50 doenças e dentre elas as mais comuns são o câncer de diversos sítios (90% das mortes por câncer de pulmão), doença pulmonar obstrutiva crônica - DPOC (85% das mortes por bronquite e enfisema) e as doenças cardiovasculares (25% das mortes relacionadas ao tabagismo) (1, 2). De acordo com o mais recente VIGITEL (Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico), inquérito promovido pelo Ministério da Saúde anualmente, a parcela da população brasileira fumante acima de 18 anos caiu nos últimos oito anos. Os dados mostram que em 2013, a prevalência de fumantes no Brasil caiu para 11,3%. Este dado é três vezes menor que o índice em 1989, quando a pesquisa realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) mostrou prevalência de 34,8% (2-4).

A DPOC é definida como doença prevenível e tratável com efeitos sistêmicos que podem contribuir para a gravidade do paciente. O componente pulmonar é caracterizado por limitação ao fluxo aéreo, o qual não é totalmente reversível, geralmente progressivo e associado com resposta inflamatória anormal dos pulmões a gases e partículas tóxicas (5). A prevalência real da DPOC, no mundo e no Brasil, não é conhecida. Estima-se que, aproximadamente, 210 milhões de pessoas apresentam DPOC e que três milhões tenham morrido em decorrência da doença em 2005 (2). No Brasil, estudo realizado na região metropolitana da cidade de São Paulo indicou que 15,8% dos indivíduos com mais de 40 anos apresentam DPOC; 10,1% apresentavam doença leve (estadio I), 4,6% doença moderada (estadio II), 0,9% doença grave (estadio III) e 0,2% doença muito grave (estadio IV) (6, 7).

O tabagismo e a DPOC estão associados com o estresse oxidativo (8-16), o qual é classicamente definido como evento resultante do desequilíbrio entre substâncias oxidantes e antioxidantes (17, 18). Popularmente denominadas radicais livres, as substâncias oxidantes incluem espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. As espécies reativas provocam a oxidação de substâncias vulneráveis como lipídeos (lipoperoxidação) e glicose (glicação), gerando produtos como o malondialdeído (MDA), metilglioxal (MGO), glioxal (GO), acroleína, 4-hidroxinonenal (HNE) e 8 iso-prostaglandina F2, compostos esses altamente reativos que

se ligam a parte amimo dos aminoácidos resultando em produtos finais de glicação (AGEs) e de lipoxidação (ALEs) (19) que lesam diversas moléculas, como proteínas, hemoglobina e o DNA (20).

Os produtos finais de glicação avançada (AGEs) são resultantes da carbonilação de proteínas, uma reação que se origina da lipoperoxidação e glicoxidação as quais liberam produtos que vão reagir com os aminoácidos das proteínas lesando-as. Os AGEs são responsáveis por várias manifestações associadas ao envelhecimento, ao *Diabetes mellitus*, a doenças cardiovasculares e ao desenvolvimento do câncer e de metástases (21, 22). Além disso, os produtos tóxicos de glicação também estão presentes nos extratos aquosos do tabaco e na fumaça do cigarro e podem reagir rapidamente com proteínas e formar os AGEs (23, 24). Assegurando esses conceitos, foi verificado que a concentração de AGEs está mais elevada em tabagistas quando comparada a não tabagistas, independentemente da presença de diabetes (24).

Esses produtos finais de glicação podem ser eliminados pelos rins bem como se ligar a receptores específicos como o RAGE (receptor para produtos de glicação avançada), um receptor transmembrana que pertence à família das imunoglobulinas. Essa ligação AGEs/RAGE resulta na ativação do fator nuclear Kappa B (NFkB), o qual desencadeia a produção de citocinas pró-inflamatórias favorecendo a inflamação em diferentes órgãos (25, 26).

RAGE é um receptor normalmente expresso no epitélio alveolar pulmonar tipo I e essa expressão está envolvida na proliferação e diferenciação de células epiteliais pulmonares (27-29). Existem basicamente três formas bem caracterizadas da proteína RAGE resultante de *splicing* alternativo: RAGE *full-length*, forma C-truncada e a forma N-truncada (27-29). A forma RAGE *full-length* (proteína completa) possui três domínios: um tipo V (variável) e dois tipos C (constante). Além destes domínios, o RAGE possui uma região transmembrana de ancoragem que fixa o RAGE na membrana e uma cauda citosólica com 43 aminoácidos (necessários para a sinalização intracelular). A forma C-truncada é secretada e conhecida como RAGE solúvel (sRAGE), uma forma livre de RAGE e atua como supressor da ativação e sinalização do RAGE, visto seu papel de chamariz para ligantes RAGE a fim de impedir a transdução de sinal e evitar os efeitos da interação ligante-RAGE. A terceira forma é truncada na região N

terminal (Nt RAGE) e não contém o domínio imunoglobulina tipo V, ocasionando uma diminuição da capacidade de acoplar aos ligantes de RAGE (27-29).

Há diferentes métodos para avaliar as concentrações dos AGEs, do RAGE e do sRAGE e suas expressões podem ser avaliadas no tecido pulmonar por meio de coloração (broncoscopia e biópsia pulmonar), na pele (técnica de autofluorescência) ou no sangue periférico por ensaios imunoenzimáticos (ELISA). Estudos avaliaram as concentrações dos AGEs, RAGE e sRAGE em tabagistas e em pacientes com DPOC, entretanto a interação entre estes indicadores de estresse oxidativo ainda não está bem estabelecida (30, 31).

Em 2011 pesquisadores avaliaram pacientes submetidos à lobectomia para verificar a presença de AGEs e RAGE no tecido pulmonar, para isso, avaliaram pacientes com DPOC e controles e realizaram imunomarcagem para AGEs e RAGE (30). A intensidade de coloração para AGEs foi superior nas vias aéreas ($p = 0,025$) e nas paredes alveolares ($p = 0,004$) dos pacientes com DPOC em comparação aos controles. O RAGE foi superior apenas nas paredes alveolares ($p = 0,03$) no grupo com a doença. Além disso, o volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF_1) apresentou associação negativa com RAGE na parede alveolar (30). Hoonhorst et al. (2014) avaliaram as concentrações dos AGEs na pele em pacientes com DPOC (leve a muito grave), tabagistas e controles. Os autores identificaram menores concentrações de AGEs em indivíduos controles quando comparado a tabagistas e pacientes com DPOC. Além disso, a concentração dos AGEs tiveram associação positiva com história tabágica e negativa com valores espirométricos (31). Dessa forma, os autores sugerem a hipótese que a interação RAGE/AGEs pode ter papel na patogênese da DPOC. Portanto, é importante investigar se o quadro inflamatório nesses indivíduos está associado com a ligação AGEs/RAGE, uma vez que esses receptores são expressos no pulmão.

Morbini et al. (2006) avaliaram a expressão do RAGE e seus principais ligantes pró-inflamatórios (N-carboximetil-lisina, S100B e S100A12) em amostras de tecido pulmonar normal e em doenças não neoplásicas de pulmão, incluindo doenças relacionadas ao tabaco (32). Em todas as condições patológicas associadas à inflamação e lesão pulmonar, houve aumento da expressão dos receptores RAGE, sendo mais evidente no epitélio associado aos agregados de

células inflamatórias. Assim, os autores sugerem que esta ligação pode representar uma via ainda não investigada de reação inflamatória no pulmão, onde este receptor e AGEs seriam produzidos por glicação não enzimática e oxidação de proteínas e lipídios, desencadeada pela fumaça do cigarro, exposição a poluentes ou pelo estresse inflamatório (32). Revisão realizada em 2008 mostrou que concentrações mais elevadas do RAGE do que sua expressão basal podem indicar existência de anormalidade pulmonar. Durante a lesão do tecido pulmonar, uma isoforma de secreção endógena de RAGE (EsRAGE) aparece em concentrações elevadas no lavado broncoalveolar e no plasma (27). Desta forma, a ativação do RAGE pode ser relevante como indicador de inflamação persistente do tecido pulmonar. Embora não seja um marcador específico de doença pulmonar, abordagens terapêuticas baseadas no bloqueio deste receptor podem ser direcionadas para atenuar a inflamação (27).

Estudos recentes avaliaram as concentrações do RAGE solúvel (sRAGE) em indivíduos controles, tabagistas e pacientes com DPOC (33-36). Estudo que avaliou as concentrações plasmáticas de sRAGE em não tabagistas, tabagistas sem DPOC e tabagistas com DPOC e mostraram redução significativa nas concentrações do sRAGE em pacientes com obstrução das vias aéreas e tabagistas quando comparado aos controles (33). Adicionalmente, as concentrações do sRAGE estavam associadas de forma negativa com história tabágica e positiva com variáveis espirométricas. No mesmo sentido, Gopal et al. (2014) avaliaram indivíduos não tabagistas, ex-tabagistas e com DPOC e verificaram menores concentrações de sRAGE em pacientes com DPOC vs ex-tabagistas, DPOC vs não tabagistas e ex-tabagistas vs não tabagistas e identificaram associação positiva com valores do VEF₁ (34). Estudo que avaliou as concentrações plasmáticas do sRAGE em controles e pacientes com DPOC mostrou redução significativa nas concentrações do receptor solúvel em pacientes com obstrução quando comparados aos controles (35). Além disso, os autores identificaram que o sRAGE tinha associação positiva com valores do VEF₁ e negativa com a presença da DPOC; entretanto, não estratificaram os pacientes de acordo com a gravidade da obstrução (35). A mesma redução nas concentrações do sRAGE foi encontrada em pacientes com obstrução vs controles em estudo de Miniati et al. (2011) e os resultados mostraram que a gravidade da doença estava

associada a menores concentrações do sRAGE (36). De fato, há redução das concentrações deste receptor solúvel em pacientes com DPOC quando comparado a tabagistas e em pacientes com obstrução mais grave em comparação a estadios precoces (33, 36). Dessa forma, os dados sugerem a hipótese que o sRAGE desempenhe papel protetor nas doenças; entretanto, os mecanismos ainda precisam ser melhor estabelecidos. Estudos que avaliem tabagistas e pacientes com DPOC em estadios iniciais são necessários para identificar se o sRAGE pode ser considerado marcador da evolução de lesões pulmonares provocadas pelo tabagismo para o estabelecimento da doença.

Além do estresse oxidativo, estudos mostram que fumantes ativos, mesmo sem doença pulmonar, apresentam concentrações séricas mais elevadas de mediadores inflamatórios quando comparados a controles não fumantes (37, 38). Levitzky et al. (2008) avaliaram 2944 participantes do *Framingham Heart Study* e por meio de modelos multivariados ajustados verificaram que quando comparados com não tabagistas, tabagistas apresentam concentrações significativamente mais elevadas de marcadores inflamatórios circulantes, coerentes com a hipótese que o tabagismo está associado à exacerbação do estado inflamatório sistêmico (37). Petrescu et al. (2010) compararam indivíduos tabagistas, sem comorbidades e não tabagistas e verificaram associação dose dependente entre concentrações séricas de $\text{TNF}\alpha$ e carga tabágica (maço/dia) (38).

O estado tabágico influencia também o estado inflamatório sistêmico em pacientes com DPOC (39, 40). Tanni et al. (2010) em estudo transversal avaliaram a inflamação sistêmica em 53 pacientes com DPOC ex-tabagistas, 24 DPOC tabagistas, 24 tabagistas sem comorbidades e 34 indivíduos que nunca fumaram. As concentrações do fator de necrose tumoral alfa ($\text{TNF}\alpha$) foram mais elevadas em tabagistas independentemente da presença ou ausência de DPOC e seus valores foram associados com tabagismo ($p < 0,001$) (39). Por outro lado, as concentrações de interleucina (IL-6) e de proteína C-reativa (PCR) foram significativamente mais elevadas nos pacientes com DPOC em relação aos tabagistas e indivíduos que nunca fumaram e, portanto consideradas associadas com a presença da doença (39). Estudo ECLIPSE que avaliou concentrações de marcadores inflamatórios em 1755 pacientes com DPOC, 297 tabagistas sem

DPOC e 202 não tabagistas acompanhados durante um ano mostrou resultados similares (40). No momento basal, a proporção de pacientes com DPOC que apresentaram aumento do número de leucócitos, das concentrações de PCR, IL6 e fibrinogênio foi superior quando comparados a tabagistas com função pulmonar normal e não tabagistas. Por outro lado, a proporção de tabagistas sem DPOC com aumento das concentrações de IL8 e o $\text{TNF}\alpha$ foi mais elevada em comparação aos não tabagistas (40).

Em resumo, este conjunto de dados apresenta evidências de que o estresse oxidativo e a inflamação sistêmica ocorrem em tabagistas sem DPOC e em pacientes com DPOC quando comparados aos controles saudáveis. As comorbidades associadas como a desnutrição, a diminuição da massa magra, a disfunção muscular são alterações prevalentes e com consequências adversas na capacidade funcional de exercício, estado geral de saúde e prognóstico dos pacientes com DPOC. O estresse oxidativo é resultado de processo endógeno, como a lipoperoxidação e a glicação, ou exógeno, constituído pelos componentes do cigarro e favorece a formação de AGEs, os quais ligam-se aos receptores específicos (RAGE), gerando ativação do processo inflamatório. Dados da literatura sugerem que os sRAGE circulantes podem exercer papel de proteção a impedir que os ligantes do RAGE (dentre eles os AGEs) se acoplem aos receptores de membrana e resultem em estímulo para o processo inflamatório. Entretanto, estes mecanismos não estão esclarecidos e poucos estudos avaliaram a associação entre AGEs/sRAGE e a influência dessa ligação sobre o desenvolvimento da atividade inflamatória em tabagistas e as diferenças entre tabagistas e pacientes com DPOC em estádios iniciais. Com base nos mecanismos fisiopatológicos para o desenvolvimento das alterações sistêmicas na DPOC e nas evidências de presença de estresse oxidativo e inflamação em tabagistas e pacientes com DPOC, a hipótese do nosso estudo é que o aumento do estresse oxidativo está associado com a inflamação sistêmica em tabagistas, com a exacerbação da mesma em pacientes com DPOC e com as manifestações sistêmicas destas doenças nos estágios precoces.

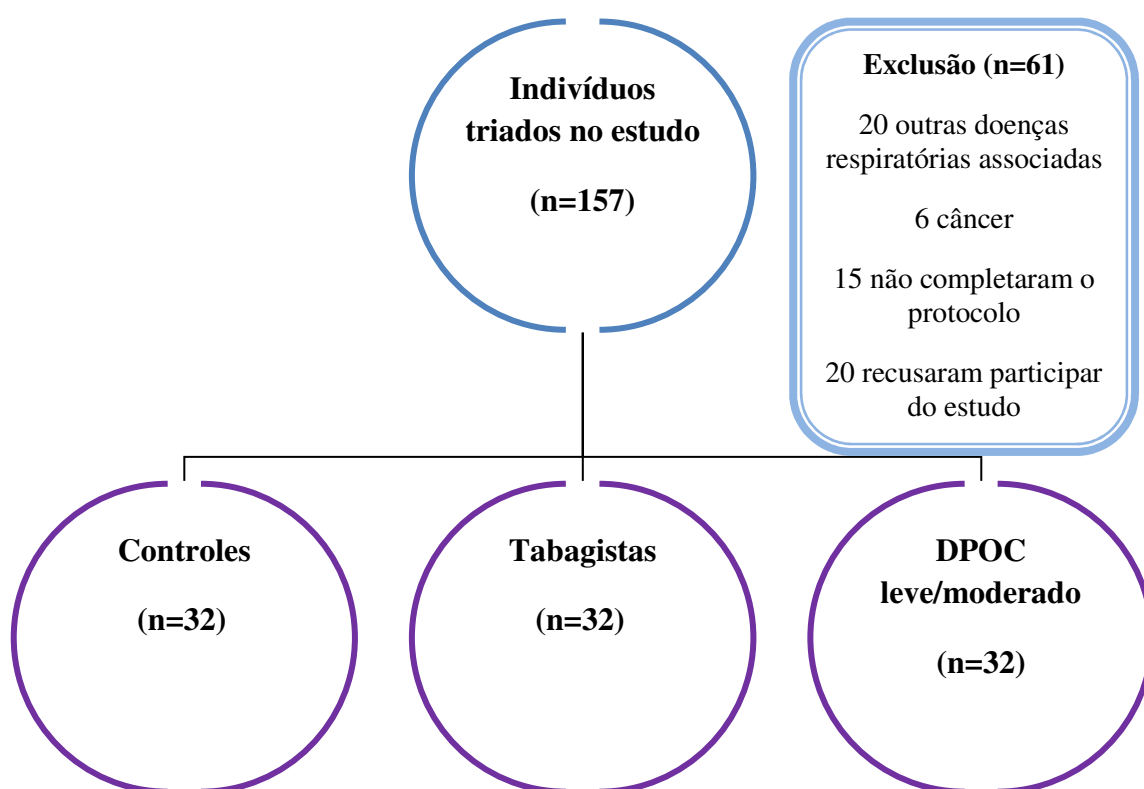
2. Objetivos

- Avaliar e comparar a associação entre estresse oxidativo e estado inflamatório em tabagistas, pacientes com DPOC leve/moderado e controles não tabagistas;
- Avaliar as relações entre a força muscular periférica, a composição do corpo, a capacidade funcional de exercício, o estado geral de saúde, o estresse oxidativo e a inflamação sistêmica em tabagistas, pacientes com DPOC leve/moderado e controles não tabagistas.

3. Indivíduos e Métodos

3.1 Indivíduos

Foram avaliados 157 indivíduos (controles, tabagistas ou com diagnóstico de DPOC) provenientes do Hospital das Clínicas e dos Ambulatórios de Pneumologia e Cessação do Tabagismo da Faculdade de Medicina de Botucatu, destes 96 foram incluídos no estudo. As razões para exclusão de 61 pacientes estão detalhadas na Figura 1. Os sujeitos eram controles (indivíduos que nunca fumaram), fumantes ativos (carga tabágica ≥ 10 anos/maço) ou pacientes com DPOC leve/moderado (tabagista ou ex-tabagista. DPOC leve: $VEF_1/CVF < 0,70$ e $VEF_1 \geq 80\%$; DPOC moderado: $VEF_1/CVF < 0,70$ e $50\% \leq VEF_1 < 80\%$) (5) de ambos os sexos e foram selecionados de forma consecutiva. Os pacientes com obstrução leve e moderada eram assintomáticos e não faziam uso de medicações inalatórias.



Fonte: material elaborado pelo autor

Figura 1. Diagrama de inclusão dos indivíduos no protocolo

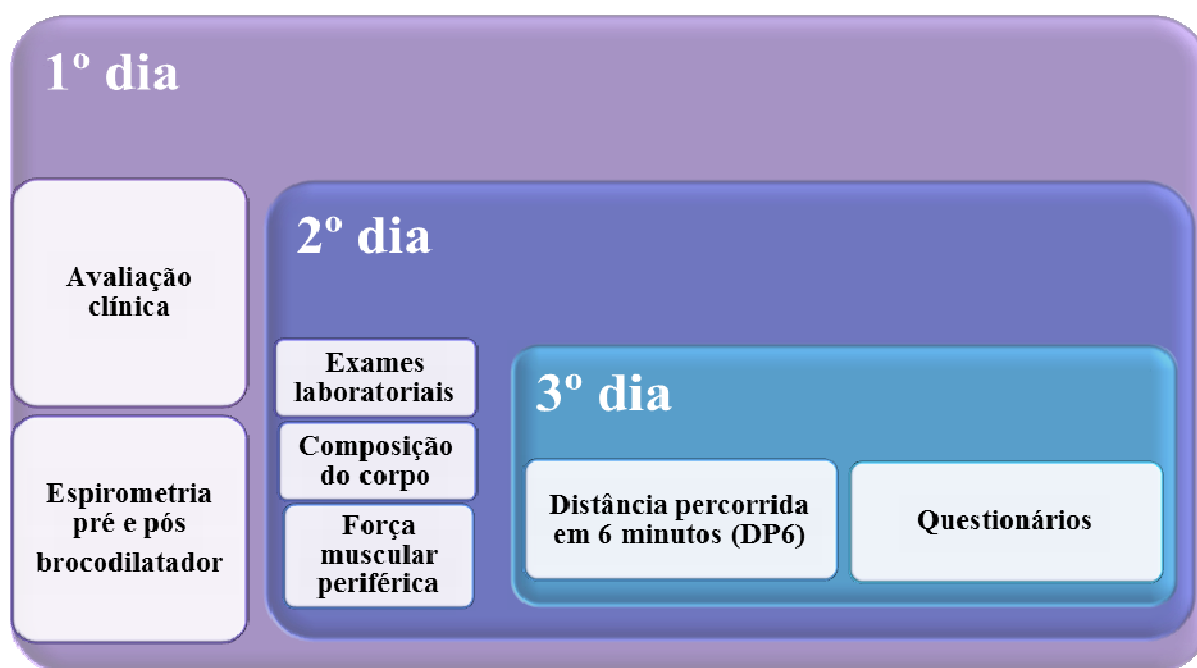
O cálculo amostral foi realizado para regressão linear múltipla com tamanho de efeito de 0,15, com a estimativa de correlação múltipla ao quadrado de 0,50 com a inclusão de cinco preditores no modelo (G Power 3.1.3). O diagnóstico de DPOC foi realizado por meio de história clínica, exposição aos fatores de risco e confirmado por meio de espirometria pós-broncodilatador (volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF_1) / capacidade vital forçada $<0,70$ ($VEF_1/CVF < 0,70$) (41) e classificados pelo VEF_1 (valores de $VEF_1 \geq 80\%$ a 50% do previsto) de acordo com critérios da Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease e da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia (GOLD e SBPT). Os critérios de inclusão foram: estabilidade clínica, caracterizada pela ausência de exacerbação e uso regular de medicação de manutenção, quando indicado, nos últimos três meses. Os critérios de exclusão foram: o uso de suplementos antioxidantes, o uso corticosteróides sistêmicos nos últimos três meses, presença de outras doenças respiratórias associadas, diagnóstico principal de doenças cardiovasculares, ou de outras doenças crônicas como *Diabetes mellitus* insulino-dependente não controlado, câncer e insuficiência renal ou hepática. Trinta e dois indivíduos não tabagistas constituíram o grupo controle do estudo e foram selecionados por meio de cartazes e anúncios na mídia. Os sujeitos do grupo controle foram questionados em relação ao tabagismo passivo e realizarão a medição do monóxido de carbono no momento da avaliação, para confirmar a condição.

Todos os sujeitos da pesquisa foram selecionados entre os moradores da cidade de Botucatu, município que recebeu o certificado de Município Verde Azul em 2012, o que garante a cidade uma política eficiente na prevenção e controle da poluição (www.botucatu.sp.gov.br).

Todos os indivíduos foram informados sobre os objetivos, riscos e benefícios da pesquisa e somente foram incluídos após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Anexos 1 e 2). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Protocolo CEP 4415-2012) (Anexo 3).

3.1.1 Delineamento

O delineamento do presente estudo foi transversal e os indivíduos foram convidados a participar do estudo no período de março de 2013 a novembro de 2014. Após a triagem inicial, os indivíduos incluídos no protocolo foram avaliados em três dias da mesma semana (Figura 2).



Fonte: material elaborado pelo autor

Figura 2. Delineamento das avaliações dos indivíduos incluídos no estudo.

3.2 Métodos

3.2.1 Avaliação clínica e do estado tabágico

Todos os sujeitos da pesquisa foram avaliados por meio de história clínica e exame físico completo. Além disso, evidências de alterações foram investigadas no prontuário médico do paciente. A história de tabagismo (carga tabágica: maço x anos) e o estado atual do tabagismo foram investigadas e complementadas por meio da avaliação da intensidade da dependência da nicotina (Teste de Fagerström) (42). A confirmação da condição de fumante ou ex-fumante foi realizada por meio da mensuração de monóxido de carbono (CO) no

ar expirado por meio de técnica padronizada com equipamento específico (Micro⁺ Smokerlyzer, Bedfont, England, UK). Esse aparelho mede a concentração de CO exalado por meio de sensor eletroquímico e expressa os valores em partes por milhão (ppm). A técnica para medição foi realizada com solicitação ao paciente que realizasse pausa inspiratória de 20 segundos com finalidade de equilibrar os níveis de CO sanguíneo e alveolar. Após esta pausa, foi solicitada expiração longa e total no bucal do aparelho. Valores acima de 6,0 ppm de CO expirado foram considerados significantes para tabagismo ativo (43, 44).

3.2.2 Avaliação laboratorial

A avaliação laboratorial incluiu hemograma completo (hemoglobina, hematócrito, leucócitos), lipidograma [colesterol total, lipoproteína de alta intensidade (HDL), lipoproteína de baixa intensidade (LDL) e triglicérides], proteínas totais e frações (albumina e globulina), glicemia de jejum, função hepática (transaminase glutâmico oxalacética - TGO, transaminase glutâmico pirúvica - TGP, fostatase alcalina, gama glutamil transpeptidase - gama GT e albumina) e função renal (ureia e creatinina) mensurados após jejum de 12 horas. A lipoproteína de baixa intensidade (LDL) foi calculada quando as concentrações de triglicérides forem inferiores a 300 mg/dL. O cálculo foi realizado pela fórmula de Friedewald: $LDL = (Colesterol\ total - HDL) - (Triglicérides / 5)$. Os exames hematológicos e bioquímicos foram realizados de acordo com os critérios e utilizando os métodos empregados na realização dos exames de rotina da Seção Técnica de Laboratório e Análises Clínicas do HC/UNESP/Botucatu.

3.2.3 Radiograma de tórax, espirometria pré e pós-broncodilatador e oximetria de pulso (SpO₂)

Foi realizado radiograma de tórax nas posições pósterio-anterior e perfil esquerdo para avaliar doenças pulmonares associadas.

A espirometria foi efetuada em sistema portátil computadorizado de função pulmonar (Ferraris KOKO, Louisville, CO, USA), de acordo com os critérios da *American Thoracic Society* (45). Foram medidos a CVF em litros (L) e o VEF₁ em litros (L) e calculada a razão entre as duas medidas (VEF₁/CVF). As medidas foram obtidas antes e 20 minutos após o uso de fenoterol 400mcg dosimetrado como medicação broncodilatadora. Os valores de CVF e VEF₁ também foram expressos em porcentagem dos valores de referência (46).

A monitorização SpO₂ foi realizada em todos os indivíduos por meio do oxímetro portátil Onyx (Model 9500 Oximeter; Nonin Medical Inc., Minneapolis, MN, USA).

3.2.4 Mediadores inflamatórios no sangue: receptores de Fator de Necrose Tumoral-alfa- 1 e 2 (TNFR1, TNFR2), Interleucina (IL) 6 e Proteína C-Reativa (PCR)

O sangue colhido em tubo vacutainer de 10 mL com heparina, foi centrifugado em centrífuga refrigerada (Eppendorf 5403®), a 1000 rpm durante 5 minutos e o plasma do topo dos tubos foi retirado e centrifugado novamente para a obtenção de plasma límpido. As amostras de 220µl foram armazenadas em freezer à -80°C até a análise.

As dosagens dos receptores de TNF α (TNFR1, TNFR2) e da IL6 foram realizadas em duplicatas por meio de ensaios imunoenzimáticos (ELISA), comercialmente disponíveis (BioSource International, Inc, Ca, USA). A sequência da dosagem das citocinas seguiram as recomendações da empresa fornecedora dos kits. A proteína C-reativa (PCR) foi quantificada em duplicatas em kits ultrassensíveis da CardioPhase, Dade Behring Marburg GmbH, Marburg, USA. A técnica utilizada foi de imunonefelometria com a utilização do equipamento Dade Behring® (Behring Diagnostic Inc, Westwood MA). Este kit contém suspensão de partículas de poliestireno revestidas com anticorpo monoclonal específico derivado de rato que se liga a PCR humana, formando aglutinados que dispersam a luz irradiada. A intensidade da luz dispersa depende da concentração da respectiva proteína na amostra. Avaliação foi feita comparando-se com a curva de

referência obtidas por calibração de pontos múltiplos por meio das diluições com N Standard reumatológico SL com N Diluente pertencente ao kit.

3.2.5 Indicadores de Estresse Oxidativo

Metabólitos de Oxidação: Os AGEs foram dosados no plasma pelo método de ELISA por meio de kits comerciais Cell Biolabs, Inc. San Diego, CA, USA. As leituras foram obtidas em espectrofotômetro de microplaca Spectra Max 190 (Molecular Devices®, Sunnyvale, CA, USA).

RAGE solúvel (sRAGE): Os sRAGE foram avaliados no plasma pelo método ELISA, por meio de kits comerciais Cell Biolabs, Inc. San Diego, CA, USA. As leituras foram obtidas em espectrofotômetro de microplaca Spectra Max 190 (Molecular Devices®, Sunnyvale, CA, USA).

3.2.6 Avaliação da composição do corpo

Antropometria: o peso do corpo (kg) e a estatura (m) foram quantificados em Balança Filizola® com o paciente utilizando roupas leves e sem calçados. O índice de massa do corpo foi calculado por meio da seguinte fórmula: $IMC = \text{peso (kg)} / \text{estatura (m)}^2$.

Impedância bioelétrica: A resistência e reatância foram medidas na posição supina, do lado direito do corpo, de acordo com o protocolo da Sociedade Europeia de Nutrição Enteral e Parenteral (*ESPEN Guidelines 2004*) (47) (BIA 101, RJL systems, Detroit, MI, USA). Para a estimativa de massa magra do corpo (MMC) nesta amostra, foi utilizada a equação de regressão desenvolvida por Kyle et al. (2001) (48): $MMC = -4,104 + (0,518 \times \text{estatura}^2 / \text{resistência}) + 0,231 \times \text{peso} + (0,130 \times \text{reatância}) + 4,229 \times \text{sexo (masculino} = 1, \text{feminino} = 0)$.

O índice de massa magra do corpo (IMMC) foi calculado [$MMC \text{ (kg)} / \text{altura(m)}^2$]. O critério de depleção de massa magra será: $IMMC < 16 \text{ kg/m}^2$ (para homens) ou $< 15 \text{ kg/m}^2$ (para mulheres) (49). Foram considerados os mesmos valores de referência do IMMC para os tabagistas e saudáveis.

3.2.7 Força Muscular Periférica

Força muscular periférica (força de preensão manual)

A função muscular periférica foi avaliada pela força de preensão isométrica manual por meio de dinamômetro manual (SAEHAN Corp. Masan, Korea). Os indivíduos realizaram três compressões, cada uma com duração de quatro a seis segundos, alternadamente, com o ombro aduzido, cotovelo flexionado a 90°, antebraço em posição neutra, o punho entre 0 e 30° de extensão e 0 a 15° de desvio ulnar e não apoiado. A força gerada foi lida em quilograma-força (kgf). A leitura mais elevada foi utilizada na análise dos dados (50).

Avaliação da Força Muscular Periférica em Membros Inferiores

A mensuração da força muscular foi realizada por meio do dinamômetro portátil *MicroFet 2* (Hoggan Health, Estados Unidos), modo *High Threshold* (51, 52). O *MicroFet* foi acoplado manualmente ao grupo muscular a ser testado dos membros dominantes. Optou-se por utilizar o *MicroFet* para a coleta dos dados pela objetividade das medidas e a consistência dos resultados quando comparado com o método tradicional de 1RM (53). O dinamômetro fornece como principal variável o pico de força (medida em pounds e convertida posteriormente para Newton), ou seja, uma quantificação objetiva da força muscular máxima. A avaliação do pico de força foi realizada por um mesmo avaliador. Sete contrações máximas foram realizadas com intervalo de aproximadamente 10 segundos entre elas e foi utilizado para análise o maior valor de três manobras reprodutíveis, ou seja, que não diferem mais que 5% entre si, conforme descrito por Coronell et al. (2004) (54). Todos os pacientes receberam encorajamento verbal padronizado (51, 52, 55, 56). Para mensuração da força dos extensores do joelho (quadríceps femoral) o paciente foi posicionado sentado, postura ereta, com 90° de flexão de joelho, mãos sobre os respectivos membros inferiores, com o avaliador posicionado à sua frente. O teste iniciou

com o avaliador gradualmente aplicando força que foi dividida em três momentos: o primeiro momento com paciente iniciando a contração muscular contra o aparelho e as mãos do avaliador, o segundo momento aumentando a força em relação à contração inicial e no terceiro momento realizando a máxima contração possível, sendo esta uma contração isométrica, até alcançar uma amplitude de movimento de aproximadamente 30° de extensão de joelho a partir dos 90° do posicionamento inicial.

3.2.8 Teste de Caminhada de Seis Minutos

O teste de caminhada de seis minutos foi realizado de acordo com as recomendações da *American Thoracic Society* (ATS) (2002) (57). Os pacientes foram instruídos a caminhar o máximo possível durante seis minutos em um corredor de 30 metros, com chão devidamente demarcado. Durante a caminhada foi dado encorajamento verbal padronizado a cada paciente. Os pacientes podiam parar durante o teste, mas foram orientados para retomar a caminhada assim que se sentissem capazes. Após seis minutos, os pacientes foram instruídos a parar de andar e foi mensurada a distância percorrida em seis minutos (DP6), em metros. Antes e após o teste foram obtidas a pressão arterial (PA), a SpO₂, a frequência cardíaca (FC), a frequência respiratória (FR) e a percepção de dispneia e de fadiga nos membros inferiores segundo a escala de dez pontos de Borg (58), pontuação zero significa ausência de dispneia e esforço insignificante e pontuação dez significa dispneia e esforço exaustivos.

3.2.9 Avaliação do estado geral de saúde [*Medical Outcomes Study 36-item Short-Form Health Survey* (SF-36) e Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão (HAD)]

SF-36: É um instrumento validado no Brasil para avaliar o estado de saúde de pacientes com artrite reumatóide (59). Por ser um instrumento genérico tem sido utilizado em pacientes portadores de diversas patologias, entre elas, pneumopatias crônicas. Este questionário avalia oito domínios: capacidade

funcional, aspectos físicos, dor, estado geral da saúde, vitalidade, aspectos sociais, emocionais e saúde mental (Anexo 4). O questionário foi aplicado em todos os sujeitos da pesquisa pelo mesmo pesquisador.

Quadro 1. Domínios do SF-36 e questões correspondentes

Domínio	Questões correspondentes	Limite inferior	Variação
Capacidade funcional	3	10	20
Aspectos físicos	4	4	4
Dor	7, 8	2	10
Estado geral de saúde	1, 11	5	20
Vitalidade	9 (somente os itens a + e + g + i)	4	20
Aspectos sociais	6, 10	2	8
Aspectos emocionais	5	3	3
Saúde mental	9 (somente os itens b + c + d + f + h)	5	25

Os escores das escalas do SF-36 foram calculados conforme os algoritmos sugeridos por Ciconnelli et al. (1999) (59). Seu escore varia de zero a 100, quanto maior a pontuação melhor o estado de saúde do indivíduo.

Para calcular os escores de cada domínio, primeiramente foi realizada a pontuação de cada resposta dada pelo pacientes. Em seguida, foi aplicada a fórmula:

$$\text{Domínio} = \frac{\text{Valor obtido nas questões correspondentes} - \text{Limite inferior} \times 100}{\text{Variações (Score Range)}}$$

HAD: o instrumento utilizado para avaliar o nível de ansiedade e depressão foi a versão desenvolvida por Zigmond et al. (1983) (60), validada e adaptada para a cultura brasileira (61). O questionário é composto por 14 perguntas relacionadas a aspectos de ansiedade e depressão. Os valores da escala de ansiedade e depressão têm pontuação de zero (improvável) a 21 (provável). Valores entre 0 - 7 caracterizam improvável ansiedade e depressão, entre 8 - 11 possível (questionável ou duvidosa) e entre 12 - 21 como provável (Anexo 5). O questionário foi aplicado em todos os sujeitos da pesquisa pelo mesmo pesquisador.

4. Análise Estatística

Estatística descritiva foi utilizada para descrever as características de todos os participantes. Os dados estudados foram apresentados em tabelas, sendo as variáveis contínuas com distribuição normal expressas em valores médios e desvio-padrão e as variáveis contínuas com distribuição não normal apresentadas em medianas e percentis (25-75).

As variáveis categóricas foram expressas em porcentagem. O teste de χ^2 foi utilizado para comparar os valores de variáveis categóricas.

Análise de variância (ANOVA) seguida de teste de Tukey ou Kruskal-Wallis seguido de teste de Dunn's foram utilizados para comparação das características demográficas e gerais (ex: espirometria, massa magra do corpo, força muscular periférica e capacidade funcional de exercício) entre tabagistas, DPOC leve/moderado e controles.

Análise de regressão linear múltipla foi utilizada para avaliar as associações entre as variáveis tabagismo, presença da DPOC, força muscular periférica, capacidade funcional de exercício e qualidade de vida, massa magra sistêmica, estado inflamatório sistêmico e estresse oxidativo nos três grupos de estudo. As variáveis de ajuste no modelo foram sexo e idade. A colinearidade foi evitada por meio de exclusão de uma das variáveis que apresentem correlação entre si. O nível de significância foi estabelecido em 5%. Foram utilizados os pacotes estatísticos IBM SPSS Statistics 22 e Sigma Plot 11.0.

5. Resultados

5.1 Características Gerais

A Tabela 1 mostra as características dos 96 indivíduos incluídos no estudo e a comparação dos seguintes grupos: controle, tabagistas e DPOC leve/moderado quanto às características demográficas, de tabagismo e composição corporal. Observamos que os controles são mais jovens que os pacientes com DPOC os quais tem menor peso do corpo, menor índice de massa magra, maior carga tabágica que os tabagistas e que 44% dos pacientes com DPOC ainda são fumantes ativos. Além disso, os pacientes com DPOC apresentaram diminuição do índice de massa magra do corpo quando comparados aos controles.

Tabela 1. Características gerais dos indivíduos dos três grupos incluídos no estudo

<i>Variáveis</i>	<i>Controles (n = 32)</i>	<i>Tabagistas (n = 32)</i>	<i>DPOC I/II (n = 32)</i>	<i>Valor p</i>
Idade (anos)	49,5 (46,0-58,5) ^a	53,0 (51,0-55,0) ^{ab}	64,5 (58,0-74,5) ^b	<0,001
Sexo (M/F)	9/23	7/25	12/20	0,75
Peso (kg)	70,0 (60,6-84,5) ^a	68,5 (58,5-74,7) ^{ab}	60,0(49,5-71,2) ^b	0,01
Estatura (m)	1,63 ± 0,07	1,61 ± 0,08	1,59 ± 0,09	0,07
IMC (kg/m ²)	26,8 ± 4,5	25,8 ± 3,6	24,4 ± 4,2	0,07
MMC (kg)	47,6 ± 8,4 ^a	46,8 ± 8,9 ^{ab}	41,5 ± 10,7 ^b	0,02
IMMC (kg/m ²)	23,3 (20,3-29,8) ^a	19,8 (17,4-24,3) ^{ab}	18,4 (16,7-22,5) ^b	0,008
Tabagismo ativo (n/%)	0/0	32/100	14/44	<0,001
Carga tabágica (maço x ano)	0 ^a	38,0 (21,5-50,7) ^b	55,5 (39,5-77,5) ^c	<0,001
CO (ppm)	0 ^a	10,0 (8,2-15,7) ^b	0,0 (0-12,0) ^c	<0,001

Valores expressos como média ± desvio padrão ou mediana (quartil 1 – quartil 3). kg: quilograma; m: metros; IMC: índice de massa do corpo; MMC: massa magra do corpo; IMMC: índice de massa magra do corpo; CO: monóxido de carbono; DPOC I/II: doença leve/moderada (GOLD: Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease). a, b, c: letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa. p < 0,05 avaliado por χ^2 , ANOVA e teste de Tukey ou Kruskal-Wallis e teste de Dunn's.

Na Tabela 2 estão apresentados os dados de espirometria e oximetria de pulso dos três grupos estudados. Todos os atributos com exceção do relacionados à troca gasosa foram significativamente reduzidos nos pacientes com DPOC.

Tabela 2. Dados de espirometria e oximetria de pulso dos indivíduos dos três grupos incluídos no estudo

<i>Variáveis</i>	<i>Controles (n = 32)</i>	<i>Tabagistas (n = 32)</i>	<i>DPOC I/II (n = 32)</i>	<i>Valor p</i>
CVF (L)	3,6 (3,1-4,0) ^a	3,0 (2,6-3,4) ^{bc}	2,7 (2,3-3,4) ^c	<0,001
CVF (% previsto)	102,0 (93,0-110,0)	97,0 (90,0-103,0)	93 (50,5-105,2)	0,06
VEF ₁ (L)	2,9 ± 0,4 ^a	2,3 ± 0,5 ^b	1,8 ± 0,5 ^c	<0,001
VEF ₁ (% previsto)	100,8 ± 12,9 ^a	91,1 ± 14,5 ^b	77,4 ± 17,0 ^c	<0,001
VEF ₁ /CVF	0,81 (0,79-0,85)	0,78 (0,73-0,83)	0,63 (0,59-0,67)	<0,001
SpO ₂ (%)	96,0 (95,0-97,5)	96,0 (95,0-97,0)	95,0 (93,0-97,0)	0,16

Valores expressos como média ± desvio padrão ou mediana (quartil 1 – quartil 3). CVF: capacidade vital forçada; VEF₁: volume expiratório forçado no primeiro segundo; SpO₂: oximetria de pulso; DPOC I/II: doença leve/moderada (GOLD: Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease). a, b, c: letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa. p < 0,05 avaliado por ANOVA e teste de Tukey ou Kruskal-Wallis e teste de Dunn's.

Os dados da avaliação dos componentes hematológicos estão descritos na Tabela 3. Tabagistas apresentaram maior número de leucócitos quando comparados ao grupo controle (p=0,003). O número de linfócitos estava aumentado nos tabagistas em comparação aos pacientes com DPOC e controles (p=0,007). Os demais componentes não apresentaram diferença estatisticamente significativa.

Na avaliação dos exames bioquímicos, a maioria dos indivíduos apresentou valores dentro dos limites de normalidade, a fosfatase alcalina estava mais elevada no grupo de tabagistas em comparação ao grupo controle e DPOC (p=0,001) e albumina estava mais baixa nos pacientes com DPOC quando comparado aos demais grupos (p=0,002) (Tabela 3).

Tabela 3. Componentes hematológicos e concentrações bioquímicas dos indivíduos de acordo com os grupos

<i>Variáveis</i>	<i>Controles (n = 32)</i>	<i>Tabagistas (n = 32)</i>	<i>DPOC I/II (n = 32)</i>	<i>Valor p</i>
Hemoglobina (g/dL)	13,9 ± 0,9	14,4 ± 0,8	14,0 ± 1,2	0,11
Hematócrito (%)	42,2 ± 2,7	42,7 ± 2,8	42,3 ± 3,8	0,75
Leucócitos (x10 ³ /mm ³)	5,9 (5,3-7,2) ^a	7,4 (6,4-8,4) ^b	6,5 (5,5-7,9) ^{ab}	0,003
Neutrófilos (x10 ³ /mm ³)	3,3 (2,9-4,3)	4,0 (3,3-5,0)	3,8 (3,0-4,6)	0,10
Linfócitos (x10 ³ /mm ³)	1,7 (1,5-2,0) ^a	2,1 (1,9-2,6) ^b	1,8 (1,5-2,2) ^{ac}	0,007
Ácido úrico (mg/dL)	4,6 ± 1,0	5,0 ± 1,2	4,7 ± 1,3	0,35
Glicemia (mg/dL)	84,5 (78,0-93,5)	94,0 (84,0-103,0)	91,0 (80,5-102,2)	0,05
Creatinina (mg/dL)	0,8 (0,70-0,9)	0,8 (0,7-0,9)	0,9 (0,7-1,0)	0,08
Ureia (mg/dL)	32,0 (26,5-36,0)	28,0 (25,0-33,5)	34,0 (26,0-42,0)	0,12
TGP (U)	20,5 (17,0-26,0)	26,0 (19,0-27,0)	25,0 (15,7-26,0)	0,32
TGO (U)	22,0 (18,0-26,5)	22,5 (19,0-28,0)	23,5 (19,0-28,0)	0,42
Fosfatase alcalina (U/L)	65,0 (49,0-79,5) ^a	88,0 (74,5-97,2) ^b	81,0 (68,0-95,0) ^{ac}	0,001
Gama GT (U/L)	19,0 (13,2-30)	24,0 (16,2-46,5)	25,5 (18,0-35,0)	0,09
Proteínas totais (g/dL)	7,2 ± 0,5	7,4 ± 0,5	7,1 ± 0,7	0,08
Albumina (g/dL)	4,2 ± 0,2 ^{ab}	4,3 ± 0,3 ^b	4,0 ± 0,3 ^c	0,002
Globulina (g/dL)	3,1 (2,5-3,4)	3,0 (2,8-3,3)	3,0 (2,6-3,5)	0,94

Valores expressos como média ± desvio padrão ou mediana (quartil 1 – quartil 3). TGO: transaminase glutâmico oxalacética; TGP: transaminase glutâmico pirúvica; Gama GT: gama glutamil transpeptidase. DPOC I/II: doença leve/moderada (GOLD: Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease). a, b, c: letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa. p < 0,05 avaliado por ANOVA e teste de Tukey ou Kruskal-Wallis e teste de Dunn's.

Em relação ao perfil lipídico, o grupo composto por tabagistas apresentou valores superiores do LDL e triglicérides quando comparados aos grupos controle e DPOC leve/moderado. Não houve diferença estatisticamente significativa nos valores do colesterol total e HDL (Tabela 4).

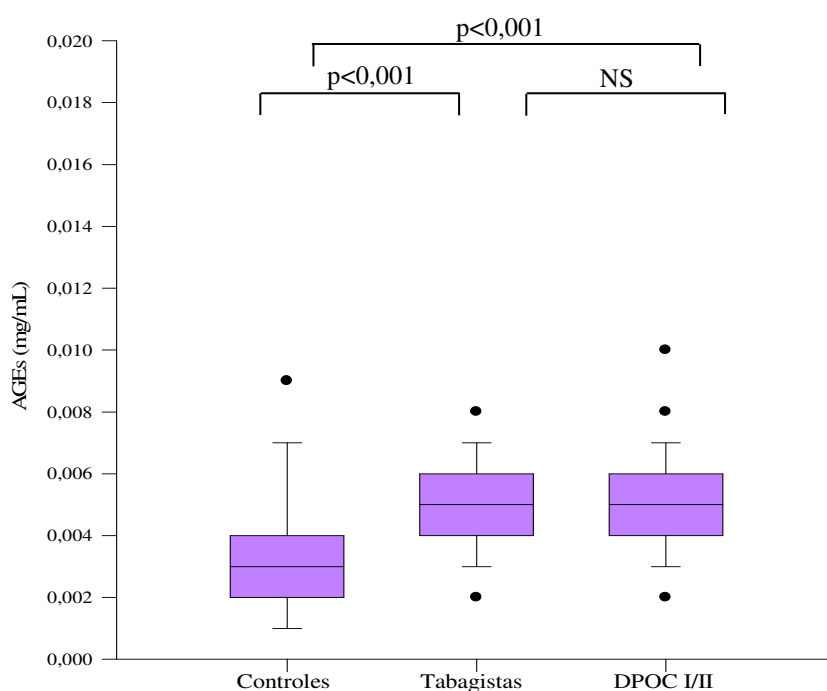
Tabela 4. Perfil lipídico dos indivíduos de acordo com os grupos

<i>Variáveis</i>	<i>Controles (n = 32)</i>	<i>Tabagistas (n = 32)</i>	<i>DPOC I/II (n = 32)</i>	<i>Valor p</i>
Colesterol Total (mg/dL)	183,5 (155,5-200,0)	208,0 (169,0-245,0)	184,0 (142,7-208,2)	0,12
HDL (mg/dL)	48,0 (40,2-55,7)	45,0 (41,5-54,5)	50,0 (42,5-60,5)	0,58
LDL (mg/dL)	127,0 (105,0-154,5) ^a	162,0 (124,0-204,0) ^b	124,0 (105,5-153,2) ^{ac}	0,01
Triglicérides (mg/dL)	98,5 (61,0-132,0) ^a	161,0 (118,7-207,7) ^b	106,0 (86,5-116,0) ^{ac}	<0,001

Valores expressos como mediana (quartil 1 – quartil 3). HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de alta intensidade. DPOC I/II: doença leve/moderada (GOLD: Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease). a, b, c: letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa. p < 0,05 avaliado por Kruskal-Wallis e teste de Dunn's.

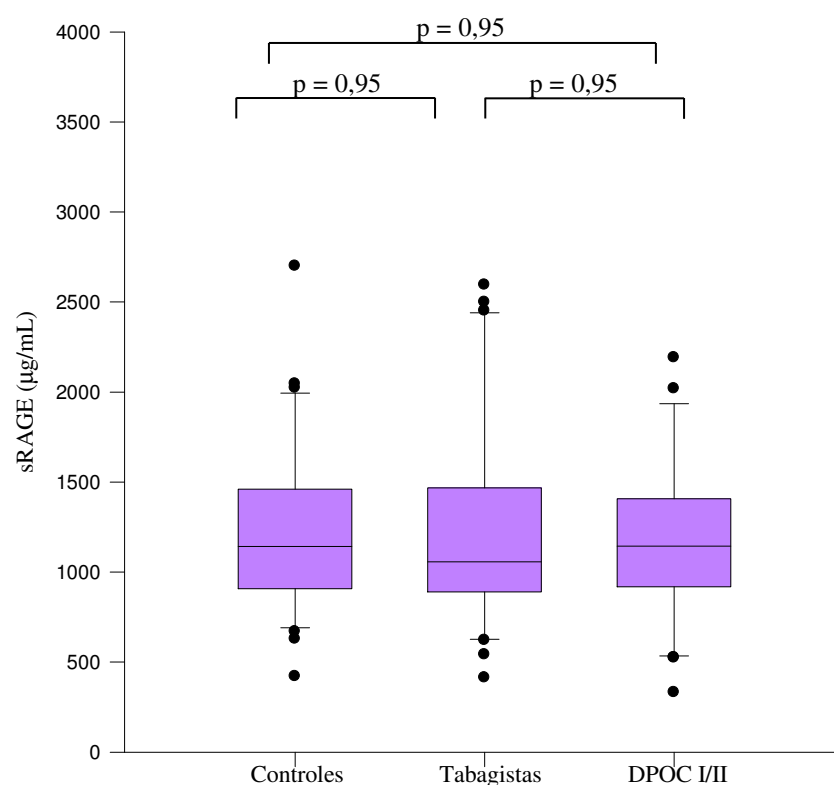
5.2 Estresse Oxidativo

A Figura 3 mostra as concentrações dos AGEs nos três grupos. Indivíduos tabagistas ($p<0,001$) e com DPOC ($p<0,001$) apresentaram valores superiores quando comparados aos controles. Não houve diferença estatisticamente significativa entre tabagistas e pacientes com DPOC. As concentrações de sRAGE não diferiram entre os grupos ($p=0,92$) (Figura 4).



Fonte: material elaborado pelo autor

Figura 3. Concentrações dos AGEs nos três grupos de estudo

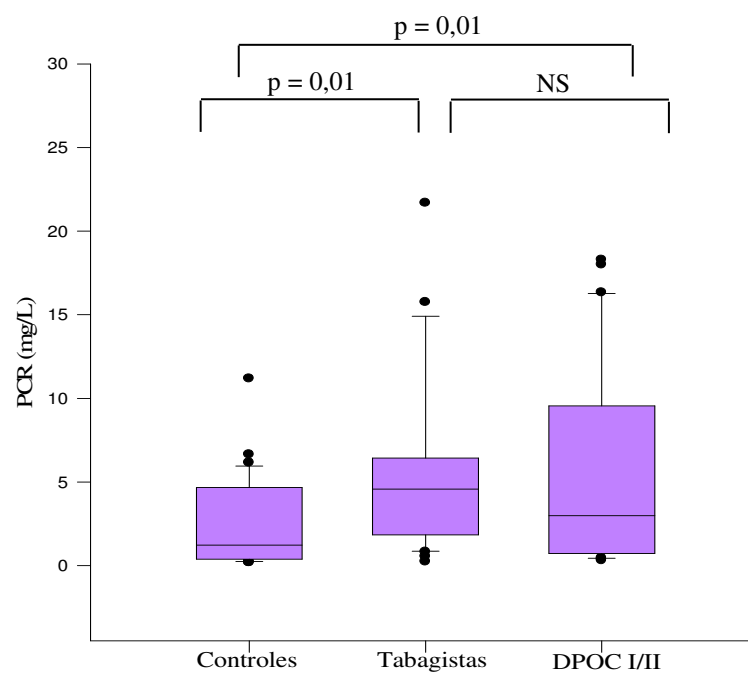


Fonte: material elaborado pelo autor

Figura 4. Concentrações dos sRAGE nos três grupos de estudo

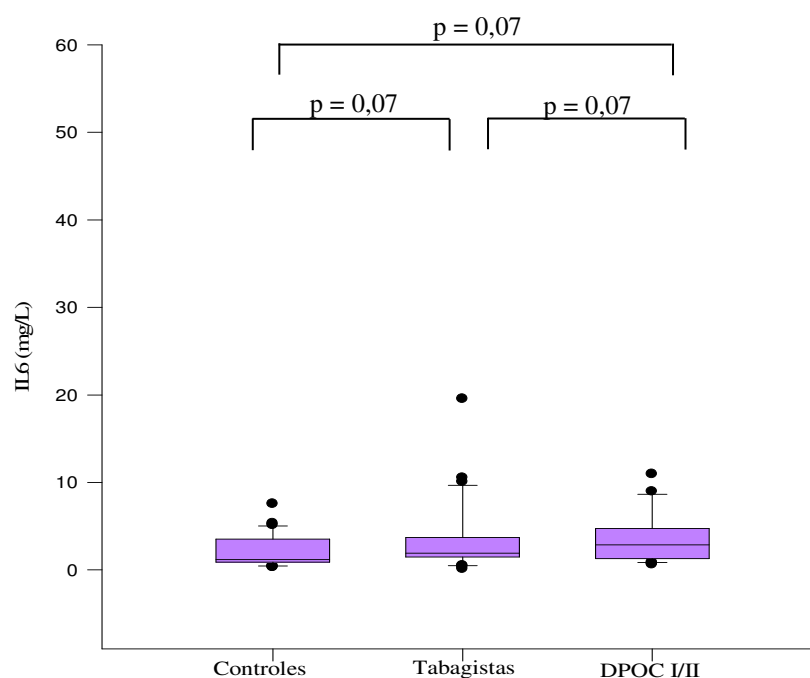
5.3 Inflamação Sistêmica

O estado de inflamação sistêmica avaliado pela dosagem da proteína C-reativa (PCR) mostrou que tabagistas e pacientes com DPOC apresentaram valores superiores da PCR em comparação aos controles. Entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos tabagistas e DPOC. A Figura 5 mostra a comparação das concentrações da PCR entre os três grupos. As concentrações de IL6 não diferiram entre os grupos (Figura 6).



Fonte: material elaborado pelo autor

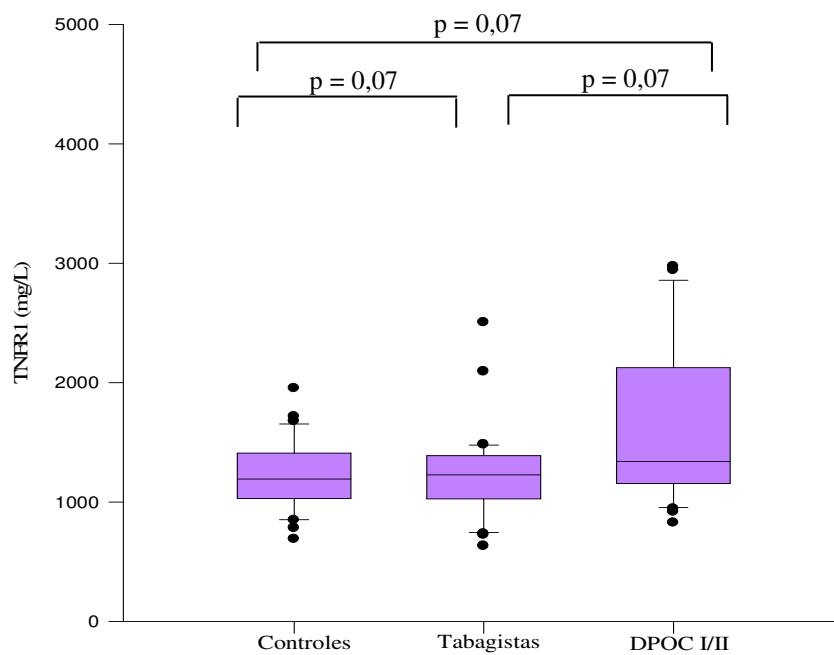
Figura 5. Concentrações de PCR nos três grupos de estudo



Fonte: material elaborado pelo autor

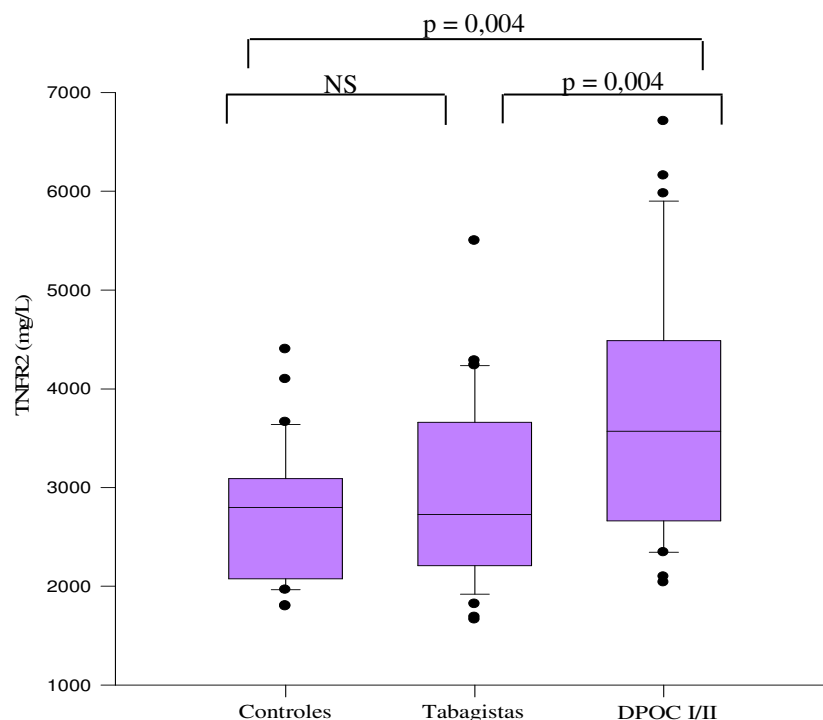
Figura 6. Concentrações de IL6 nos três grupos de estudo

As concentrações de TNFR1[controles: 119,2 mg/L (104,3-139,5); tabagistas: 122,8 mg/L (103,7-136,7); DPOC I/II: 134,0 mg/L (115,7-210,3), $p=0,07$] não diferiram entre os grupos (Figura 7). Em relação aos valores de TNFR2, houve diferença estatisticamente significativa entre os pacientes com DPOC vs controle e entre DPOC vs tabagistas (Figura 8).



Fonte: material elaborado pelo autor

Figura 7. Concentrações de TNFR1 nos três grupos de estudo



Fonte: material elaborado pelo autor

Figura 8. Concentrações de TNFR2 nos três grupos de estudo

5.4 Qualidade de Vida, Escore de Ansiedade e Depressão

O grupo composto por pacientes com DPOC apresentou maior comprometimento do estado geral de saúde quando comparado aos controles nos seguintes domínios do SF-36: capacidade funcional ($p < 0,001$), limitação aspectos físicos ($p = 0,01$), dor ($p = 0,01$), vitalidade ($p = 0,04$) e limitação dos aspectos mentais ($p < 0,001$). Além disso, no escore capacidade funcional ($p < 0,001$) e limitação dos aspectos mentais ($p < 0,001$), os pacientes com DPOC mostraram maior comprometimento em comparação aos tabagistas. O grupo tabagista mostrou piora na qualidade de vida em comparação aos controles no escore da capacidade funcional ($p < 0,001$). Não houve diferença estatisticamente significativa nos demais domínios (Tabela 5). Adicionalmente foi aplicada a Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão e tabagistas apresentaram escore de ansiedade mais elevado em comparação a controles e pacientes com DPOC (Tabela 5). O escore de depressão foi superior apenas nos tabagistas quando

comparados aos controles (Tabela 5). Em relação à ansiedade, verificamos que no grupo controle 26 indivíduos tinham escore menor ou igual a 7 (improvável) e seis obtiveram escore entre 8-11 (possível). Nenhum indivíduo apresentou escore superior a 11 (provável) neste grupo. Vinte tabagistas apresentaram escore compatível com improvável ansiedade (≤ 7), seis com possível e seis com provável (escore 12-21). No grupo DPOC, um paciente foi classificado como possível, um como provável e o restante (30) apresentou escore referente a improvável sinais de ansiedade. Quando avaliamos sinais de depressão, todos os indivíduos do grupo controle e os pacientes com DPOC apresentaram escores inferiores à 7, enquanto entre os tabagistas, dois tinham escore entre 8-11 e dois apresentaram sinais de provável depressão (escore = 13).

Tabela 5. Avaliação do estado geral de saúde dos indivíduos de acordo com os grupos

<i>Variáveis</i>	<i>Controles (n=32)</i>	<i>Tabagistas (n=32)</i>	<i>DPOC I/II (n=32)</i>	<i>Valor p</i>
<i>SF-36</i>				
Capacidade Funcional	85,0 (57,5-87,5) ^a	40,0 (32,5-55,0) ^b	22,5 (17,5-37,5) ^c	<0,001
Limitação aspectos físicos	100,0 (50,0-100,0) ^a	100,0 (0,0-100,0) ^{ab}	0,0 (0,0-100,0) ^b	0,01
Dor	84,0 (67,0-100,0) ^a	74,0 (41,0-100,0) ^{ab}	61,0 (31,0-73,0) ^b	0,01
Estado geral de saúde	74,5 (52,0-82,0)	57,0 (47,5-82,0)	42,0 (32,0-77,0)	0,08
Vitalidade	70,0 (37,5-82,5) ^a	60,0 (22,5-77,5) ^{ab}	35,0 (32,5-60,0) ^b	0,04
Aspectos sociais	69,0 (50,0-100,0)	75,0 (44,0-100,0)	63,0 (25,0-75,0)	0,05
Limitação aspectos mentais	100,0 (67,0-100,0) ^a	83,5 (0,0-100,0) ^{ab}	0,0 (0,0-16,5) ^c	<0,001
Saúde mental	58,0 (16,0-88,0)	66,0 (34,0-84,0)	32,0 (28,0-78,0)	0,43
<i>HAD</i>				
Ansiedade	5,0 (1,5-7,0) ^a	7,0 (5,0-8,5) ^b	4,0 (3,0-5,0) ^{ac}	<0,001
Depressão	0,0 (0,0-2,0) ^a	2,0 (0,0-4,0) ^b	0,0 (0,0-2,5) ^{ab}	0,01

Valores expressos como mediana (quartil 1 – quartil 3). SF-36: Medical Outcomes Study 36-item Short-Form Health Survey; HAD: Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão. DPOC I/II: doença leve/moderada (GOLD: Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease). a, b, c: letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa. $p < 0,05$ avaliado por Kruskal-Wallis e teste de Dunn's.

5.5 Capacidade Funcional de Exercício e Força Muscular

Na avaliação da capacidade funcional de exercício, a mediana da distância percorrida em 6 minutos (DP6) no grupo controle foi de 554,5 (516,5-606,0) metros. Os pacientes com DPOC caminharam distância inferior quando comparados aos controles ($p=0,004$) (Tabela 6). A força muscular periférica média da amostra não diferiu entre os grupos avaliados (Tabela 6).

Tabela 6. Capacidade funcional de exercício e força muscular periférica de acordo com os grupos

<i>Variáveis</i>	<i>Controles (n=32)</i>	<i>Tabagistas (n=32)</i>	<i>DPOC I/II (n=32)</i>	<i>Valor p</i>
DP6 (m)	554,5 (516,5-606,0) ^a	515,5 (477,0-570,0) ^{ab}	492,0 (390,0-562,0) ^b	0,004
Força muscular periférica (MMSS)				
- D (kgf)	27,0 (24,0-31,2)	29,0 (27,0-32,0)	29,0 (26,0-30,0)	0,22
- ND (kgf)	26,0 (22,5-30,0)	28,0 (26,0-30,0)	26,5 (24,0-28,0)	0,13
Força muscular periférica (MMII)				
- MID (N)	213,0 (203,0-220,0)	210,0 (201,0-219,0)	207,5 (201,0-215,0)	0,10
- MIE (N)	209,0 (201,0-215,0)	205,5 (200,0-215,0)	200,5 (200,0-210,0)	0,07

Valores expressos como mediana (quartil 1 – quartil 3). DP6: distância percorrida em seis minutos; m: metros; MMSS: membros superiores; D: dominante; ND: não dominante; kgf: quilograma-força; MMII: membros inferiores; MID: membro inferior direito; MIE: membro inferior esquerdo; N: newton. DPOC I/II: doença leve/moderada (GOLD: Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease). a, b, c: letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa. $p < 0,05$ avaliado por Kruskal-Wallis e teste de Dunn's.

As variáveis cardiopulmonares foram avaliadas antes e após o teste de caminhada de seis minutos. Os tabagistas apresentaram valores superiores da frequência respiratória (FR) inicial ($17,7 \text{ ipm} \pm 4,0$ vs $14,4 \text{ ipm} \pm 3,6$; $p<0,001$) quando comparados aos controles. Os pacientes com DPOC mostraram aumento da FR inicial ($18,3 \text{ ipm} \pm 2,5$ vs $14,4 \text{ ipm} \pm 3,6$; $p<0,001$), da FR final [24 ipm (20,0-29,0) vs $21,5 \text{ ipm}$ (18,0-26,5); $p=0,03$] e diminuição da oximetria de pulso final [$94,0$ (92,0-97,0) vs $97,0$ (95,0-98,0); $p<0,001$] em comparação ao grupo controle.

5.6 Análise de regressão

Foram analisados os fatores associados com o estresse oxidativo, a inflamação sistêmica, a composição do corpo, a qualidade de vida, a capacidade funcional de exercício e a força muscular periférica. De acordo com nossos resultados e objetivos do estudo, utilizamos as seguintes variáveis separadamente em cada modelo de regressão linear como variável dependente: AGEs, IL6, PCR, TNFR1, TNFR2, IMMC, DP6 e qualidade de vida (escore capacidade funcional SF36).

Para avaliação das variáveis associadas com o estresse oxidativo (AGEs) foram utilizadas como variáveis independentes a presença de DPOC, o tabagismo, a idade, o sexo masculino e as concentrações de PCR. O tabagismo ($p=0,04$) e a PCR ($p=0,03$) mostraram associação positiva com as concentrações dos AGEs. As outras variáveis não apresentaram associações (Tabela 7).

Tabela 7. Regressão linear múltipla para concentrações dos AGEs

<i>Variável Dependente</i>	<i>Variáveis</i>	<i>Coefficiente (95% IC)</i>	<i>valor p</i>
AGEs ($R^2 = 0.13$)	Idade, anos	0,031 (0,000; 0,000)	0,80
	Sexo masculino	-0,090 (-0,001; 0,001)	0,40
	Tabagismo (presente)	0,214 (0,000; 0,002)	0,04
	DPOC (presente)	0,086 (-0,001; 0,002)	0,47
	PCR, mg/L	0,217 (0,000; 0,000)	0,03

DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica, PCR: proteína C-reativa, AGEs: produtos finais de glicação avançada.

Na análise dos preditores da IL6 foram utilizadas como variáveis independentes a presença de DPOC, o tabagismo, a idade, o sexo masculino e as concentrações dos AGEs. Os AGEs ($p=0,03$) apresentaram associação positiva com as concentrações de IL6. As outras variáveis não apresentaram associações (Tabela 8).

Tabela 8. Regressão linear múltipla para concentrações da IL6

<i>Variável Dependente</i>	<i>Variáveis</i>	<i>Coefficiente (95% IC)</i>	<i>valor p</i>
IL6 ($R^2 = 0.13$)	Idade, anos	0,13 (-0,06; 0,20)	0,29
	Sexo masculino	-0,05 (-3,35; 1,90)	0,58
	Tabagismo (presente)	0,14 (-0,80; 4,11)	0,18
	DPOC (presente)	0,10 (-1,74; 4,17)	0,41
	AGEs, $\mu\text{g/L}$	0,22 (47,37; 1097,43)	0,03

DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica, IL6: interleucina 6, AGEs: produtos finais de glicação avançada.

Na análise dos preditores da inflamação sistêmica (PCR) foram utilizadas como variáveis independentes a presença de DPOC, o tabagismo, a idade, o sexo masculino e as concentrações dos marcadores de estresse oxidativo e de inflamação sistêmica (AGEs, TNFR1 e TNFR2). A Tabela 9 mostra os três modelos. Os AGEs ($p=0,03$), o tabagismo ($p=0,03$), o TNFR1 ($p=0,006$) e o TNFR2 ($p=0,001$) apresentaram associação positiva com as concentrações de PCR. As outras variáveis não apresentaram associações (Tabela 9).

Tabela 9. Regressão linear múltipla para concentrações da PCR

<i>Variável Dependente</i>	<i>Variáveis</i>	<i>Coefficiente (95% IC)</i>	<i>valor p</i>
PCR ($R^2 = 0.10$)	Idade, anos	0,11 (-0,69; 1,74)	0,39
	Sexo masculino	0,09 (-1,31; 3,56)	0,36
	Tabagismo (presente)	0,15 (-0,65; 3,88)	0,16
	DPOC (presente)	0,35 (-2,3; 3,08)	0,77
	AGEs, $\mu\text{g/L}$	0,22 (30,27; 1002,72)	0,03
PCR ($R^2 = 0.13$)	Idade, anos	0,01 (-0,11; 0,13)	0,92
	Sexo masculino	0,07 (-1,51; 3,22)	0,47
	Tabagismo (presente)	0,22 (0,14; 4,40)	0,03
	DPOC (presente)	-0,01 (-2,75; 2,50)	0,92
	TNFR1, mg/L	0,31 (0,00; 0,05)	0,006
PCR ($R^2 = 0.17$)	Idade, anos	0,02 (-0,10; 0,12)	0,86
	Sexo masculino	0,10 (-1,12; 3,51)	0,30
	Tabagismo (presente)	0,16 (-0,42; 3,75)	0,11
	DPOC (presente)	-0,05 (-3,26; 1,95)	0,62
	TNFR2, mg/L	0,380 (0,001; 0,003)	0,001

DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica, TNFR1: receptor do fator de necrose tumoral alfa 1, TNFR2: receptor do fator de necrose tumoral alfa 2, PCR: proteína C-reativa, AGEs: produtos finais de glicação avançada.

Na análise dos preditores da inflamação sistêmica (TNFR1) foram utilizadas como variáveis independentes a presença de DPOC, o tabagismo, a idade, o sexo masculino e PCR. A PCR ($p=0,006$) apresentou associação positiva com as concentrações de TNFR1. As outras variáveis não apresentaram associações (Tabela 10).

Tabela 10. Regressão linear múltipla para concentrações do receptor de TNFR1

<i>Variável Dependente</i>	<i>Variáveis</i>	<i>Coeficiente (95% IC)</i>	<i>valor p</i>
TNFR1 ($R^2 = 0.29$)	Idade, anos	0,31 (0,45; 2,76)	0,007
	Sexo masculino	0,01 (-21,35; 24,54)	0,89
	Tabagismo (presente)	-0,12 (-34,15; 7,54)	0,20
	DPOC (presente)	0,14 (-8,21; 41,95)	0,18
	PCR, mg/L	0,25 (0,81; 4,68)	0,006

DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica, TNFR1: receptor do fator de necrose tumoral alfa 1, PCR: proteína C-reativa.

Na análise dos preditores da inflamação sistêmica (TNFR2) foram utilizadas como variáveis independentes a presença de DPOC, o tabagismo, a idade, o sexo masculino e PCR. A presença de DPOC ($p=0,02$) e a PCR ($p=0,001$) apresentaram associação positiva com as concentrações de TNFR2. As outras variáveis não apresentaram associações (Tabela 11).

Tabela 11. Regressão linear múltipla para concentrações do receptor de TNFR2

<i>Variável Dependente</i>	<i>Variáveis</i>	<i>Coeficiente (95% IC)</i>	<i>valor p</i>
TNFR2 ($R^2 = 0.29$)	Idade, anos	0,23 (0,36; 45,15)	0,04
	Sexo masculino	-0,07 (-629,09; 263,45)	0,41
	Tabagismo (presente)	0,03 (-331,97; 479,01)	0,72
	DPOC (presente)	0,24 (64,99; 1040,66)	0,02
	PCR, mg/L	0,32 (29,40; 104,70)	0,001

DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica, TNFR2: receptor do fator de necrose tumoral alfa 2, PCR: proteína C-reativa.

Na análise dos preditores do estado geral de saúde (escore capacidade funcional do SF-36) foram utilizadas como variáveis independentes a presença de DPOC, o tabagismo, a idade, o sexo masculino e as concentrações do

AGE. A presença de DPOC ($p=0,001$) e o tabagismo ($p=0,001$) apresentaram associação negativa com a qualidade de vida. As outras variáveis não apresentaram associações (Tabela 12).

Tabela 12. Regressão linear múltipla para qualidade de vida (escore capacidade funcional SF-36)

<i>Variável Dependente</i>	<i>Variáveis</i>	<i>Coeficiente (95% IC)</i>	<i>valor p</i>
Capacidade funcional ($R^2 = 0.32$)	Idade, anos	-0,13 (-1,13; 0,26)	0,22
	Sexo masculino	-0,06 (-19,12; 8,85)	0,46
	Tabagismo (presente)	-0,32 (-35,02; -9,04)	0,001
	DPOC (presente)	-0,35 (-41,16; -10,28)	0,001
	AGEs, $\mu\text{g/L}$	-0,15 (-5232,99; 338,51)	0,08

DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica, AGEs: produtos finais de glicação avançada.

Na análise dos preditores da capacidade funcional de exercício (DP6) foram utilizadas como variáveis independentes a presença de DPOC, o tabagismo, a idade, o sexo masculino e as concentrações dos receptores de TNFR1. A presença de DPOC ($p=0,03$) e o tabagismo ($p=0,03$) apresentaram associação negativa. As outras variáveis não apresentaram associações (Tabela 13).

Tabela 13. Regressão linear múltipla para capacidade funcional de exercício (DP6)

<i>Variável Dependente</i>	<i>Variáveis</i>	<i>Coeficiente (95% IC)</i>	<i>valor p</i>
DP6 ($R^2 = 0.20$)	Idade, anos	-0,12 (-3,08; 1,16)	0,37
	Sexo masculino	0,23 (5,91; 84,54)	0,02
	Tabagismo (presente)	-0,21 (-73,80; -2,01)	0,03
	DPOC (presente)	-0,25 (-93,07; -2,76)	0,03
	TNFR1, mg/L	-0,12 (-0,56; 0,16)	0,27

DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica, DP6: distância percorrida em seis minutos, TNFR1: receptor do fator de necrose tumoral alfa 1.

Na análise dos preditores da composição do corpo foram utilizadas como variáveis independentes a presença de DPOC, o tabagismo, a idade, o sexo masculino e as concentrações dos receptores de TNFR1. A presença de DPOC ($p=0,008$) e o tabagismo ($p=0,004$) apresentaram associação negativa com o IMMC. As outras variáveis não apresentaram associações (Tabela 14).

Tabela 14. Regressão linear múltipla para composição do corpo (IMMC)

<i>Variável Dependente</i>	<i>Variáveis</i>	<i>Coeficiente (95% IC)</i>	<i>valor p</i>
IMMC ($R^2 = 0.57$)	Idade, anos	-0,17 (-0,20; 0,0)	0,06
	Sexo masculino	0,67 (6,97; 10,89)	<0,001
	Tabagismo (presente)	-0,21 (-4,38; -0,84)	0,004
	DPOC (presente)	-0,23 (-5,13; -0,80)	0,008
	TNFR1, mg/L	0,11 (-0,00; 0,03)	0,15

DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica, IMMC: índice de massa magra do corpo, TNFR1: receptor do fator de necrose tumoral alfa 1.

6. Discussão

O presente trabalho avaliou a associação entre estresse oxidativo e estado inflamatório sistêmico em tabagistas, pacientes com DPOC leve/moderado e controles não tabagistas. Avaliamos também o estado geral de saúde, a capacidade funcional de exercício, a força muscular periférica e a composição do corpo nos diferentes grupos. Os principais achados foram concentrações mais elevadas de mediadores da inflamação e de marcadores do estresse oxidativo em tabagistas e pacientes com a doença em fase precoce, assintomáticos, quando comparados aos controles. Observamos também associação entre os marcadores do estresse oxidativo e os inflamatórios e de ambos com o tabagismo. Entretanto, não encontramos diferença entre as concentrações dos marcadores do estresse oxidativo entre fumantes e pacientes com DPOC ou associação dos marcadores de estresse oxidativo e DPOC. O comprometimento do estado geral de saúde, da capacidade funcional de exercício e a diminuição de massa magra do corpo, embora associados ao tabagismo e a DPOC não foram influenciados pelos marcadores do estado inflamatório ou do estresse oxidativo avaliados no estudo. Verificamos aumento do estresse oxidativo, avaliado pelos AGEs nos pacientes com DPOC leve/moderado e tabagistas em comparação aos controles e associação positiva entre as concentrações séricas de AGEs com tabagismo ativo e concentrações de IL6 e PCR. Os produtos como metilglioxal (MGO) e glioxal (GO), os quais são precursores de AGEs, não são apenas metabólitos endógenos, mas também encontrados na fumaça de cigarro (62). Desta forma, o tabagismo pode induzir formação de AGEs direta ou indiretamente via estresse oxidativo. (21, 22). Cerami et al. (1997) verificaram a indução de AGEs após preparação *in vitro* de extrato aquoso e condensado de tabaco e aumento das concentrações de AGEs *in vivo* quando compararam indivíduos não tabagistas e tabagistas (24). Este resultado está de acordo com estudos que mostraram associação positiva entre o história tabágica e concentrações de AGEs por técnica de autofluorescência na pele (63, 64). Meerwaldt et al. (2008), em estudo que avaliou 31 tabagistas e 41 não tabagistas verificou que além do aumento significativo das concentrações de AGEs no grupo tabagista, houve associação positiva entre história tabágica e AGEs (63); a mesma associação foi verificada em estudo recente que avaliou 492 pacientes com doença arterial periférica e 164 controles (64). Estudo de

Hoonhorst et al. (2014) mostrou que história tabágica apresenta maior associação com AGEs na pele do que com tabagismo ativo e os autores sugerem que a deposição de AGEs na pele provavelmente ocorra após longo período de agressão oxidativa (acumulativa), por isso maior associação com a história tabágica do que com o estado tabágico atual (31).

O aumento de AGEs em pacientes com DPOC também está de acordo com resultados de estudos prévios (30, 31). Wu et al. (2011) avaliaram a presença de AGEs em tecido pulmonar após lobectomia em 20 pacientes com DPOC [VEF_1 (%) = $62,7 \pm 1,8$; VEF_1/CVF = $58,0 \pm 1,6$] e 18 indivíduos sem DPOC [VEF_1 (%) = $94,1 \pm 2,8$; VEF_1/CVF = $77,4 \pm 1,4$] e verificaram aumento das concentrações em vias aéreas e na parede alveolar no grupo com a doença (30). Estudo recente avaliou concentrações de AGEs na pele (técnica de autofluorescência) e mostrou valores superiores dos AGEs em 202 pacientes com DPOC (leve a muito grave) quando comparados a 193 tabagistas e controles, mas os autores não identificaram diferença entre os estádios de acordo com a classificação GOLD (31). Portanto, os AGEs na pele estavam elevados nos pacientes com DPOC, com qualquer gravidade da doença, quando comparados a controles independentemente da idade e do estado tabágico (31). No presente estudo avaliamos os AGEs séricos, por meio de ELISA, e identificamos diferença entre tabagistas e pacientes com DPOC quando comparados a controles; não encontramos diferença entre os tabagistas e pacientes com a doença ou associação com a idade. Identificamos apenas um estudo que avaliou N-carboximetil-lisina plasmático (AGE bem estabelecido na literatura) por meio de ELISA, método utilizado em nosso estudo, em pacientes com Insuficiência Cardíaca Congestiva (ICC), DPOC, ICC associada à DPOC e controles (tabagistas e não tabagistas) e os autores não identificaram diferença significativa em pacientes com DPOC quando comparados a controles (65).

A associação encontrada em nosso estudo entre AGEs e IL6 está de acordo com dados da literatura que analisaram os efeitos dos AGEs na produção de citocinas e sugerem associação dose dependente de AGEs e concentrações de IL6 (66, 67). Hein et al. (2005) avaliaram as concentrações de pentosinida (exemplo de AGE) verificaram correlação significativa com as concentrações

séricas de IL6 (66). Chen et al. (2013), avaliaram o efeito da estimulação de condrócitos humanos com AGEs e mostraram que o aumento das concentrações de AGEs desencadeia o aumento das concentrações de IL6 (67). Verificamos também associação positiva entre AGEs e PCR; esta associação foi descrita anteriormente em estudo que avaliou 156 pacientes com diagnóstico de infarto agudo do miocárdio (68). Nagano et al. (2011) avaliaram pacientes em hemodiálise, e após análise multivariada, verificaram que as concentrações de AGEs teciduais são determinantes das concentrações de PCR (69). Resultado de investigação realizada em 2011 sugere que os AGEs não estimulam diretamente os hepatócitos para a produção de PCR, mas de forma indireta eles aumentam a expressão deste mediador por meio da estimulação da IL6 (70).

Em resumo, os resultados do presente estudo reforçam os relatos da literatura de que os pacientes com DPOC e tabagistas apresentam aumento do estresse oxidativo, avaliado pelas concentrações dos AGEs. Mostram também que as concentrações de AGEs estão associadas com mediadores inflamatórios envolvidos na fisiopatologia das alterações pulmonares presentes no tabagismo e na DPOC, como IL6 e PCR (40).

Em nosso trabalho avaliamos o RAGE solúvel que atua como receptor chamariz para moléculas de AGEs circulantes e inibe a ativação exacerbada do processo inflamatório (71). Não verificamos diferença nas concentrações de sRAGE entre os grupos. Este dado é similar ao descrito por Iwamoto et al. (2014) que também não mostraram diferença na concentração sérica de sRAGE entre DPOC moderado e tabagistas (72). Entretanto, a maioria dos resultados de estudos prévios mostram resultados diferentes. Em 2011, estudos de Smith et al. e Miniatti et al. mostraram valores significantes menores de sRAGE em pacientes com DPOC que em controles sem obstrução ao fluxo aéreo, associação positiva do sRAGE com valores do VEF₁ e associação negativa das concentrações de sRAGE com a presença da DPOC (35, 36). Dados do ECLIPSE e TESRA (GOLD II - IV) foram analisados para avaliar a associação entre concentrações de sRAGE, presença e gravidade da DPOC. Os resultados mostram que as concentrações de sRAGE foram significativamente menores em pacientes com DPOC em comparação a tabagistas e não tabagistas. Confirmaram também a associação

negativa entre sRAGE e estadios da doença, ou seja, quanto mais grave a obstrução menores as concentrações do receptor (73). Outros estudos recentes confirmam as menores concentrações de sRAGE em tabagistas e pacientes com DPOC quando comparados a controles (33,34). Observaram valores menores de sRAGE em ex-tabagistas sem DPOC quando comparados àqueles que nunca fumaram (34) e que menores concentrações de sRAGE foram associadas com o declínio nos valores de VEF₁/CVF (33).

Alguns fatores podem influenciar a concentração de sRAGE. Pesquisas sugerem que a liberação de sRAGE pelo organismo exerce um papel protetor que atenua a progressão da doença. Smith et al. (2011) especulam que a alta expressão de mRAGE (RAGE expresso na membrana celular no pulmão) de pacientes com DPOC pode estar associada com baixas concentrações de sRAGE e pode ser um marcador de deficiência do controle inflamatório (35). Alternativamente, as concentrações reduzidas de sRAGE podem identificar indivíduos expostos a altas concentrações de ligantes do RAGE ou de outros mediadores inflamatórios (35). Assim, fumantes com valores diminuídos de sRAGE poderiam estar predispostos a maior inflamação e lesão tecidual e portanto mais propensos a desenvolver DPOC. Na análise dos dados do TESRA não foi identificada diferença nas concentrações do sRAGE quando comparado DPOC II vs DPOC III; entretanto, foi verificada associação entre sRAGE e enfisema após ajuste para espirometria e variáveis demográficas. De acordo com os dados analisados do estudo TESRA, Cheng et al. (2014) sugerem que o biomarcador sRAGE pode estar associado ao enfisema independentemente do estadios da doença (73). Em resumo, as concentrações sRAGE têm sido associadas a gravidade do enfisema, capacidade de difusão prejudicada e inflamação das vias aéreas, o que apoia um possível papel do sRAGE na integridade alveolar e suas propriedades protetoras (36, 71-73). De fato, dados da literatura sugerem associação negativa entre enfisema mais grave e concentrações de sRAGE independentemente do sexo, idade, limitação ao fluxo aéreo, IMC e tabagismo ativo. Como em nosso estudo não realizamos tomografia computadorizada não quantificamos o grau de enfisema que poderia contribuir para as concentrações do sRAGE. Além disso, os pacientes com DPOC tinham obstrução leve ou moderada que pode estar

associada com menor intensidade de enfisema e inflamação. Portanto, como não se observou diferença significativa nas concentrações circulantes de sRAGE entre tabagistas e pacientes com DPOC, podemos especular que a deficiência deste receptor solúvel pode estar associada a DPOC mais avançada e envolvida na patogênese do enfisema e possivelmente propiciar alvos para novos tratamentos (74). Nossos dados sugerem que o sRAGE não é marcador para doença precoce da DPOC; entretanto, estudos em grande escala são necessários para determinar a utilização do sRAGE como marcador diagnóstico precoce ou de enfisema.

Na avaliação da inflamação sistêmica, nosso estudo mostrou que tabagistas e pacientes com DPOC apresentaram concentrações significativamente mais elevadas da PCR quando comparados aos controles. Nossos dados estão de acordo com estudos recentes (40, 75-77). No mesmo sentido, Serapinas et al. (2011) mostraram que tabagistas apresentam maiores concentrações de PCR em comparação a indivíduos que nunca fumaram (75). Não encontramos diferença entre os grupos tabagistas e DPOC, resultado similar ao obtido em estudo recente que avaliou indivíduos saudáveis, tabagistas sem DPOC e tabagistas com DPOC (77). Entretanto, no estudo ECLIPSE foi verificado aumento da proporção de pacientes com DPOC que tinham maiores concentrações de PCR em relação aos tabagistas (40). Por outro lado, no acompanhamento da amostra os autores verificaram presença e manutenção da inflamação sistêmica em proporção limitada dos pacientes, dados que sugerem variabilidade dos mediadores inflamatórios ao longo do tempo em tabagistas e pacientes com DPOC (78).

Outro achado do presente estudo foi o aumento das concentrações do TNFR2 nos pacientes com DPOC em relação aos controles, entre o grupo DPOC quando comparado aos tabagistas e associação positiva entre TNFR2, DPOC e concentrações de PCR. Estudo mostrou aumento das concentrações deste receptor em tabagistas e pacientes com DPOC; entretanto, não encontraram diferença estatisticamente significativa entre os pacientes e os tabagistas sem a doença (77). D'Hulst et al. (2006) sugerem que ambos os receptores contribuem na patogênese da DPOC, mas o TNFR2 parece estar mais ativo no desenvolvimento da inflamação e obstrução ao fluxo aéreo (79). Estudo experimental avaliou as concentrações de TNFR1 e TNFR2 em momento basal e

após seis meses de exposição ao tabaco em ratos controles, com deficiência de TNFR1 e com deficiência de TNFR2 (79). Os autores verificaram aumento das concentrações dos dois receptores após exposição ao tabaco, mas o aumento relativo de TNFR2 foi maior em comparação ao TNFR1. Não verificamos diferenças de concentrações de TNFR1 entre os grupos estudados; dados que estão de acordo com estudo realizado em 2014 (77). As concentrações de TNFR1 estavam associadas com o aumento das concentrações de PCR, de acordo com estudo realizado em 2010 (80) que também identificou associação positiva entre os marcadores. O envolvimento real dos receptores de TNF α na patogênese da DPOC permanece desconhecido e o mecanismo que determinará qual efeito será dominante ainda não está totalmente esclarecido.

Em resumo, tabagistas e pacientes com obstrução leve/moderada apresentam concentrações mais elevadas de mediadores inflamatórios em comparação a indivíduos que nunca fumaram. O TNFR2 foi o único indicador de inflamação que diferiu entre os grupos tabagistas e DPOC. O papel do TNFR2 não está bem estabelecido na literatura; além de função acessória, há evidências de que ele module a inflamação mediada pelo TNF α e ative a apoptose. O aumento do TNFR2 sugere maior intensidade da inflamação em indivíduos com a doença, mesmo em estágio inicial, independentemente do tabagismo ativo, uma vez que 56% dos pacientes com DPOC eram ex-tabagistas. As concentrações dos demais marcadores foram similares entre tabagistas e pacientes com DPOC, o que pode ser parcialmente explicado pelo estadio precoce da doença, onde não há processo inflamatório intenso e destruição alveolar em estágio avançado.

Em nosso estudo, tabagistas apresentaram aumento do número de leucócitos em comparação a controles e de linfócitos em comparação a controles e pacientes com DPOC. De fato, estudos apontam aumento das células brancas em tabagistas (81, 82). Tanni em 2008 avaliou tabagistas e indivíduos saudáveis e verificou aumento na contagem dos leucócitos entre os tabagistas (81). Estudo recente avaliou 40 tabagistas e 40 controles reafirmam a hipótese que tabagistas apresentam maior número de leucócitos quando comparado a indivíduos que nunca fumaram (82).

Em relação às concentrações das enzimas hepáticas, apenas a fosfatase alcalina estava mais elevada no grupo tabagista em comparação aos pacientes com DPOC e controles. Este achado está de acordo com estudo que avaliou indivíduos do sexo masculino, com idade entre 40 e 59 anos, sem história de doença cardíaca (83). O tabagismo estava associado de forma significativa com maiores concentrações da fosfatase alcalina. No mesmo sentido, Sripanidkulchai et al. (2004) avaliaram amostras de sangue de indivíduos que participaram do programa de rastreamento de câncer e verificaram que tabagistas apresentaram maior concentrações de fosfatase alcalina em comparação a não tabagistas (84). Na avaliação do perfil lipídico, verificamos em nossa amostra aumento das concentrações de LDL e triglicérides em tabagistas em comparação aos controles e pacientes com obstrução ao fluxo aéreo. Estudos recentes sugerem maiores concentrações de triglicérides em tabagistas (82, 85, 86). Em relação à variável lipídica LDL, há divergências na literatura. Nossos dados estão de acordo com estudo de Anandha Lakshmi et al. (2013) que mostrou concentrações mais elevadas de LDL em tabagistas quando comparado a não tabagistas (82). Por outro lado, dados de Slagter et al. (2013) não verificaram diferença entre o grupo tabagistas e controles, mas apenas entre ex-tabagistas e controles (86). Ainda, estudo realizado em 2014 não identificou diferença estatisticamente significativa entre tabagistas, ex-tabagistas e não tabagistas (85).

Em resumo, o aumento da contagem de leucócitos entre os tabagistas pode ser devido à liberação de catecolaminas induzida pela nicotina. Além disso, a fumaça do cigarro pode prover inflamação nas vias aéreas e assim, aumentar o número de leucócitos em tabagistas (82). Importantes alterações em mecanismos funcionais e metabólicos têm sido descritas para explicar os efeitos nocivos do tabaco no sistema cardiovascular, entre as quais modificações nas concentrações de lipoproteínas plasmáticas vêm sendo bem documentadas. Quando comparados aos não fumantes, os adultos fumantes tendem a apresentar um perfil plasmático aterogênico mais comprometido (87).

O grupo composto por pacientes com DPOC I/II apresentou maior comprometimento do estado geral de saúde quando comparado aos controles nos seguintes domínios do SF-36: capacidade funcional, limitação aspectos físicos, dor,

vitalidade e limitação dos aspectos mentais. Além disso, a presença de DPOC e tabagismo estavam associados ao maior comprometimento da capacidade funcional. Estudo recente avaliou 100 pacientes com doença leve/moderada e 1220 controles e verificou maior comprometimento nos escores de capacidade física nos pacientes com obstrução moderada quando comparados aos controles (88). Em nosso estudo, o grupo tabagista mostrou maior comprometimento da qualidade de vida em comparação aos controles no escore da capacidade funcional. Este dado está de acordo com estudo que avaliou tabagistas ativos, ex-tabagistas e indivíduos que nunca fumaram (89). Os autores estratificaram a população tabagista de acordo com o número de cigarros consumidos por dia e verificaram comprometimento no escore capacidade funcional do questionário SF-36 entre os tabagistas quando comparado aos controles (89). No mesmo sentido, estudo que avaliou alterações na qualidade de vida doze meses após a cessação do tabagismo mostrou escores significativamente maiores nos 40 ex-tabagistas quando comparados aos 20 tabagistas ativos (90). Além disso, Goldenberg et al. em revisão realizada em 2014, também mostraram maior comprometimento do estado geral de saúde de tabagistas (91).

Adicionalmente, avaliamos os escores de ansiedade e depressão nos três grupos. Embora tabagistas apresentassem escores mais elevados de ansiedade quando comparados aos controles e pacientes com DPOC e depressão quando comparados aos controles, a maioria foi classificada como improvável. Dados da literatura mostraram associação entre escores de ansiedade e depressão e a presença de tabagismo (92). Saravanan et al. (2014) avaliaram 780 estudantes de graduação e destes 106 eram tabagistas e apresentaram maior prevalência dos escores de ansiedade e depressão quando comparados a não tabagistas (92). Em nosso estudo não encontramos associação entre qualidade de vida e mediadores da inflamação e de estresse oxidativo.

Na avaliação da capacidade funcional de exercício, os pacientes com DPOC caminharam distância inferior quando comparados apenas aos controles e a DP6 estava associada com o tabagismo e a DPOC. Nossos dados estão de acordo com estudo que avaliou 1202 pacientes com DPOC leve a grave [$VEF_1(\%) = 62 \pm 23$] e 302 controles verificou maior comprometimento da capacidade de exercício

nos pacientes com a doença. Além disso, os autores verificaram que a presença de DPOC estava associada de forma negativa com a DP6, independentemente do tabagismo (93). No mesmo sentido, estudo que comparou pacientes em diferentes estádios da DPOC (leve a muito grave) com controles saudáveis também verificou maior comprometimento na capacidade funcional de exercício nos grupos com obstrução moderada, grave e muito grave em comparação aos indivíduos saudáveis (94). Identificamos estudo que avaliou indivíduos controles não tabagistas, pacientes com DPOC tabagistas [$VEF_1(\%) = 66 \pm 24$] e DPOC ex-tabagistas [$VEF_1(\%) = 57 \pm 23$] e os autores verificaram que pacientes tabagistas e ex-tabagistas com DPOC (leve a grave) caminharam distância inferior quando comparados a não tabagistas (95). Estudo realizado em 20 pacientes com DPOC [$VEF_1(\%) = 49,3 \pm 19,2$] e 20 controles, mostrou redução estatisticamente significativa da distância percorrida entre aqueles com a doença quando comparados aos controles (96).

Em relação à composição do corpo, o grupo DPOC mostrou diminuição de massa magra apenas em relação ao grupo controle e associação negativa entre tabagismo e DPOC com o IMMC. Nossos resultados estão de acordo com dados da literatura (40, 97, 98). Dados do ECLIPSE mostraram que pacientes com DPOC [$VEF_1(\%) = 48,2 \pm 15,6$] apresentam menor IMC em comparação aos controles não tabagistas (40). De acordo com nossos dados, Pirabbasi et al. (2012) em estudo transversal 149 pacientes com DPOC leve a muito grave e verificaram associação positiva entre valores do VEF_1 (L) e IMMC, ou seja, quanto mais grave a obstrução menor o valor do índice (97). Estudo recente que avaliou 228 pacientes com DPOC [$VEF_1(\%) = 52,8 \pm 18,6$] e 158 controles saudáveis [$VEF_1(\%) = 120,4 \pm 15,8$] verificou redução significativa nos valores de IMC e IMMC nos pacientes com obstrução (98). Em nosso estudo não encontramos associação entre capacidade funcional de exercício, composição do corpo e mediadores da inflamação e de estresse oxidativo.

Em resumo, tabagistas e pacientes com DPOC apresentam maior comprometimento do estado geral de saúde quando comparados aos indivíduos saudáveis. Embora os tabagistas não apresentem DPOC como comorbidade e os pacientes com a doença serem assintomáticos, os dados do nosso estudo

confirmam achados prévios do comprometimento da qualidade de vida nesta população. De fato, a qualidade de vida parece estar comprometida mesmo quando a dispneia não é fator limitante, como em pacientes com obstrução mais grave. Não verificamos diferença da capacidade funcional de exercício entre tabagistas e pacientes com DPOC. Em parte, este achado pode ser justificado pela similaridade entre as duas populações. Além dos pacientes com obstrução leve/moderada serem assintomáticos e classificados em estadios precoces da doença, tabagistas e pacientes com DPOC não apresentaram diferença na composição do corpo e na sensação de dispneia. Os pacientes com DPOC apresentaram redução da massa magra do corpo apenas quando comparado a controles. A literatura sugere alteração muscular, manifestação sistêmica comum em pacientes com a doença e mostra prevalência de depleção de massa magra entre 25 e 35% em pacientes clinicamente estáveis (5, 99). Várias etiologias são propostas para a deficiência nutricional observada nos pacientes com DPOC. Entretanto, os mecanismos envolvidos ainda não estão totalmente esclarecidos. Desequilíbrio entre a ingestão e o gasto calórico, devido à diminuição da ingestão ou aumento do gasto energético, parece ser o fator envolvido na maioria dos casos (100). Não identificamos em nossa amostra associação entre composição do corpo e mediadores da inflamação e de estresse oxidativo.

Limitações do estudo

O presente estudo avaliou as concentrações dos indicadores de estresse oxidativo e mediadores inflamatórios apenas no sangue periférico. Não avaliamos as expressões destes marcadores em tecido pulmonar (PCR do RAGE, AGE, IL6) e quantidade de proteínas (Western Blotting) devido à necessidade de métodos mais invasivos (broncoscopia e biópsia do pulmão). Além disso, os indivíduos foram avaliados em apenas um momento, o que pode interferir nos resultados dos mediadores inflamatórios. Embora o tamanho amostral tenha sido suficiente para justificar nossos resultados, modelos com mais variáveis não puderam ser realizados para verificar maior número de associações.

Bolsa e Auxílio Regular

A aluna recebeu bolsa da Comissão de Aperfeiçoamento do Nível Superior (CAPES) e o projeto foi realizado com o auxílio regular concedido pela FAPESP (Processo nº 2012/22321-0).

7. Conclusões

1. Nossos achados confirmam estudos prévios que mostram aumento da inflamação sistêmica e do estresse oxidativo em pacientes com DPOC precoce e tabagistas quando comparados a indivíduos saudáveis. A associação entre marcadores do estresse oxidativo, mediadores inflamatórios e a presença de tabagismo e DPOC sugerem a participação dos produtos de glicação nos mecanismos fisiopatológicos da doença. Não encontramos evidências de que o sRAGE pode identificar tabagistas que evoluem para DPOC.
2. Tabagistas e pacientes com DPOC, em fases precoces de doença, apresentam comprometimento do estado geral de saúde, maiores indicativos de ansiedade e depressão, redução da massa magra do corpo e piora da capacidade funcional de exercício em comparação a indivíduos saudáveis.
3. Não observamos associação entre os marcadores de estresse oxidativo e inflamatórios com a qualidade de vida, composição do corpo, e capacidade funcional de exercício.

8. Referências Bibliográficas

1. Yanbaeva DG, Dentener MA, Creutzberg EC, Wesseling G, Wouters EF. Systemic effects of smoking. *Chest* 2007;131:1557-66.
2. WHO. World Health Organization 2014. Chronic respiratory disease. www.who.int/en. Acessado em outubro 2014.
3. INCA. Instituto Nacional de Câncer. www2.inca.gov.br. Acessado em novembro 2014.
4. VIGITEL. Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico. 2013.
5. Global Strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD Executive Summary update 2014. www.goldcopd.org. 2014. Acessado em outubro de 2014.
6. Menezes A, Jardim J, Pérez-Padilla R, Camelier A, Nascimento O, Hallal PC. Prevalência de doença pulmonar obstrutiva crônica e fatores associados: Estudo PLATINO em São Paulo. *Cad Saúde Pública* 2005; 21:1565-73.
7. Jardim J, Oliveira J, Nascimento O. Revisão de alguns aspectos de epidemiologia e tratamento da doença estável 2006. www.sbpt.org.br/arquivos/Consenso. Acessado em outubro de 2014.
8. Campos S. Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica: mais do que apenas uma doença pulmonar. *Bol Pneumol Sanit* 2006; 14:27-32.
9. Løkke A, Lange P, Vestbo J, Fabricius PG. Developing COPD - 25 years follow-up study of the general population. *Ugeskr Laeger* 2006;168:4422-4.
10. Cavalcante AG, de Bruin PF. The role of oxidative stress in COPD: current concepts and perspectives. *J Bras Pneumol* 2009;35:1227-37.
11. Vassalle C, Novembrino C, Maffei S, Sciarrino R, De Giuseppe R, Vigna L, et al. Determinants of oxidative stress related to gender: relevance of age and smoking habit. *Clin Chem Lab Med* 2011;49:1509-13.

12. Jin H, Webb-Robertson BJ, Peterson ES, Tan R, Bigelow DJ, Scholand MB, et al. Smoking, COPD, and 3-nitrotyrosine levels of plasma proteins. *Environ Health Perspect* 2011;119:1314-20.
13. García-Rio F, Romero D, Lores V, Casitas R, Hernanz A, Galera R, et al. Dynamic hyperinflation, arterial blood oxygen, and airway oxidative stress in stable patients with COPD. *Chest* 2011;140:961-9.
14. Seet RC, Lee CY, Loke WM, Huang SH, Huang H, Looi WF, et al. Biomarkers of oxidative damage in cigarette smokers: which biomarkers might reflect acute versus chronic oxidative stress? *Free Radic Biol Med* 2011;50:1787-93.
15. Liu J, Liang Q, Frost-Pineda K, Muhammad-Kah R, Rimmer L, Roethig H, et al. Relationship between biomarkers of cigarette smoke exposure and biomarkers of inflammation, oxidative stress, and platelet activation in adult cigarette smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:1760-9.
16. Inonu H, Doruk S, Sahin S, Erkorkmaz U, Celik D, Celikel S, et al. Oxidative stress levels in exhaled breath condensate associated with COPD and smoking. *Respir Care* 2012;57:413-9.
17. Ferreira AL, Salvadori DM, Nascimento MC, Rocha NS, Correa CR, Pereira EJ, et al. Tomato-oleoresin supplement prevents doxorubicin-induced cardiac myocyte oxidative DNA damage in rats. *Mutat Res* 2007;631:26-35.
18. Yeum KJ, Russell RM, Krinsky NI, Aldini G. Biomarkers of antioxidant capacity in the hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Arch Biochem Biophys* 2004;430:97-103.
19. Aldini G, Dalle-Donne I, Facino RM, Milzani A, Carini M. Intervention strategies to inhibit protein carbonylation by lipoxidation-derived reactive carbonyls. *Med Res Rev* 2007;27:817-68.
20. Junior D, Souza R, Santos S, DR A. Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares. *J Bras Pneumol* 2005;31:60-8.

21. Brownlee M. Advanced protein glycosylation in diabetes and aging. *Ann Rev Med* 1995;46:223-34.
22. Yamagishi S, Ueda S, Okuda S. Food-derived advanced glycation end products (AGEs): a novel therapeutic target for various disorders. *Curr Pharm Des* 2007;13:2832-6.
23. Nicholl ID, Bucala R. Advanced glycation endproducts and cigarette smoking. *Cell Mol Biol* 1998;44:1025-33.
24. Cerami C, Founds H, Nicholl I, Mitsuhashi T, Giordano D, Vanpatten S, et al. Tobacco smoke is a source of toxic reactive glycation products. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:13915-20.
25. Neeper M, Schmidt AM, Brett J, Yan SD, Wang F, Pan YC, et al. Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins. *J Biol Chem* 1992;267:14998-5004.
26. Schmidt AM, Yan SD, Yan SF, Stern DM. The multiligand receptor RAGE as a progression factor amplifying immune and inflammatory responses. *J Clin Invest* 2001;108:949-55.
27. Mukheriee T, Mukhopadhyay S, Hoidal J. Implication of receptor for advanced glycation end product (RAGE) in pulmonary health and pathophysiology. *Respir Physiol Neurobiol* 2008;162:210-5.
28. Buckley ST, Ehrhardt C. The receptor for advanced glycation end products (RAGE) and the lung. *J Biomed Biotechnol* 2010;2010:917108.
29. Sukkar MB, Ullah MA, Gan WJ, Wark PA, Chung KF, Hughes JM, et al. RAGE: a new frontier in chronic airways disease. *Br J Pharmacol* 2012;167:1161-76.
30. Wu L, Ma L, Nicholson LF, Black PN. Advanced glycation end products and its receptor (RAGE) are increased in patients with COPD. *Respir Med* 2011;105:329-36.

31. Hoonhorst SJ, Lo Tam Loi AT, Hartman JE, Telenga ED, van den Berge M, Koenderman L, et al. Advanced glycation end products in the skin are enhanced in COPD. *Metabolism* 2014;63:1149-56.
32. Morbini P, Villa C, Campo I, Zorzetto M, Inghilleri S, Luisetti M. The receptor for advanced glycation end products and its ligands: a new inflammatory pathway in lung disease? *Mod Pathol* 2006;19:1437-45.
33. Iwamoto H, Gao J, Pulkkinen V, Toljamo T, Nieminen P, Mazur W. Soluble receptor for advanced glycation end-products and progression of airway disease. *BMC Pulm Med* 2014;14:68.
34. Gopal P, Reynaert NL, Scheijen JL, Schalkwijk CG, Franssen FM, Wouters EF, et al. Association of plasma sRAGE, but not esRAGE with lung function impairment in COPD. *Respir Res* 2014;15:24.
35. Smith DJ, Yerkovich ST, Towers MA, Carroll ML, Thomas R, Upham JW. Reduced soluble receptor for advanced glycation end-products in COPD. *Eur Respir J* 2011;37:516-22.
36. Miniati M, Monti S, Basta G, Cocci F, Fornai E, Bottai M. Soluble receptor for advanced glycation end products in COPD: relationship with emphysema and chronic cor pulmonale: a case-control study. *Respir Res* 2011;12:37.
37. Levitzky YS, Guo CY, Rong J, Larson MG, Walter RE, Keaney JF, et al. Relation of smoking status to a panel of inflammatory markers: the framingham offspring. *Atherosclerosis* 2008;201:217-24.
38. Petrescu F, Voican SC, Silosi I. Tumor necrosis factor-alpha serum levels in healthy smokers and nonsmokers. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2010;5:217-22.
39. Tanni SE, Pelegrino NR, Angeleli AY, Correa C, Godoy I. Smoking status and tumor necrosis factor-alpha mediated systemic inflammation in COPD patients. *J Inflamm (Lond)* 2010;7:29.

40. Agustí A, Edwards LD, Rennard SI, MacNee W, Tal-Singer R, Miller BE, et al. Persistent systemic inflammation is associated with poor clinical outcomes in COPD: a novel phenotype. *PLoS One* 2012;7e37483.
41. Fabbri LM, Luppi F, Beghé B, Rabe KF. Update in chronic obstructive pulmonary disease 2005. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;173:1056-65.
42. Reichert J, Araújo A, Gonçalves C, Godoy I, Chatkin J, Sales M. Diretrizes para cessação do tabagismo. *J Bras Pneumol* 2008;34:845-50.
43. Middleton ET, Morice AH. Breath carbon monoxide as an indication of smoking habit. *Chest* 2000;117:758-63.
44. Santos U, Gannam S, Abe J, Esteves P, Filho M, Wakassa T. Emprego da determinação de monóxido de carbono no ar exalado para a detecção do consumo de tabaco. *J Bras Pneumol* 2001;27:231-6.
45. Standardization of Spirometry - 1987 Update. Statement of the American Thoracic Society. *Am Rev Respir Dis* 1987;136:1285-98.
46. Pereira C, Barreto S, Simões J, Pereira F, Gerstler J, Nakatani J. Valores de referência para a espirometria em uma amostra da população brasileira adulta. *J Bras Pneumol* 1992;18:10-22.
47. Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Gómez JM, et al. Bioelectrical impedance analysis--part I: review of principles and methods. *Clin Nutr* 2004;23:1226-43.
48. Kyle UG, Genton L, Karsegard L, Slosman DO, Pichard C. Single prediction equation for bioelectrical impedance analysis in adults aged 20-94 years. *Nutrition* 2001;17:248-53.
49. Schols AM, Soeters PB, Dingemans AM, Mostert R, Frantzen PJ, Wouters EF. Prevalence and Characteristics of Nutritional Depletion in Patients with Stable COPD Eligible for Pulmonary Rehabilitation. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:1151-6.

50. Mathiowetz V, Weber K, Volland G, Kashman N. Reliability and validity of grip and pinch strength evaluations. *J Hand Surg Am* 1984;9:222-6.
51. Nollet F, A B. Strength assessment in postpolio syndrome: validity of a hand-held dynamometer in detecting change. *Arch Phys Med Rehabil* 1990;80:1316-23.
52. O'Shea S, Taylor N, Paratz J. Measuring muscle strength for people with pulmonary disease: retest reliability of hand-held dynamometry. *Arch Phys Med Rehabil* 2007;88:32-6.
53. Possani H, Carvalho M, Probst V, Pitta F, Brunetto A. Comparison between the reduction in muscle force in upper and lower limbs after a fatigue protocol in patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) ASSOBRAFIR Ciência 2009:33-43.
54. Coronell C, Orozco-Levi M, Méndez R, Ramírez-Sarmiento A, Gáldiz JB, Gea J. Relevance of assessing quadriceps endurance in patients with COPD. *Eur Respir J* 2004;24:129-36.
55. Maffiuletti NA, Bizzini M, Desbrosses K, Babault N, Munzinger U. Reliability of knee extension and flexion measurements using the Con-Trex isokinetic dynamometer. *Clin Physiol Funct Imaging* 2007;27:346-53.
56. Martin HJ, Yule V, Syddall HE, Dennison EM, Cooper C, Aihie Sayer A. Is hand-held dynamometry useful for the measurement of quadriceps strength in older people? A comparison with the gold standard Bodex dynamometry. *Gerontology* 2006;52:154-9.
57. Crapo RO, Casaburi R, Coates AL, Enright PL, MacIntyre NR, McKay RT, et al. ATS statement: Guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:111-7.
58. Borg. Escala CR10 de Borg. In: Borg G, Escalas de Borg para dor e esforço percebido. 1ªed. São Paulo Manole 2000:43-7.

59. Ciconelli RM, Ferraz MB, Santos W, Meinão I, Quaresma MR. Tradução para a lingual portuguesa e validação do questionário genérico de avaliação de qualidade de vida SF-36 (Brasil SF-36). *Rev Bras Reumatol* 1999;39:143-150.
60. Zigmond AS, Snaith RP. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand* 1983;67:361-70.
61. Botega NJ, Bio MR, Zomignani MA, Garcia C, Pereira WA. Mood disorders among inpatients in ambulatory and validation of the anxiety and depression scale HAD. *Rev Saude Publica* 1995;29:355-63.
62. Li X, Zheng T, Sang S, Lv L. Quercetin inhibits advanced glycation end product formation by trapping methylglyoxal and glyoxal. *J Agric Food Chem* 2014;62:12152-8.
63. Meerwaldt R, Links T, Zeebregts C, Smit A. Re: "plasma fluorescent oxidation products as potential markers of oxidative stress for epidemiologic studies". *Am J Epidemiol* 2008;167:756-7.
64. de Vos LC, Noordzij MJ, Mulder DJ, Smit AJ, Lutgers HL, Dullaart RP, et al. Skin autofluorescence as a measure of advanced glycation end products deposition is elevated in peripheral artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013;33:131-8.
65. Boschetto P, Campo I, Stendardo M, Casimirri E, Tinelli C, Gorrini M, et al. Plasma sRAGE and N-(carboxymethyl) lysine in patients with CHF and/or COPD. *Eur J Clin Invest* 2013;43:562-9.
66. Hein GE, Köhler M, Oelzner P, Stein G, Franke S. The advanced glycation end product pentosidine correlates to IL-6 and other relevant inflammatory markers in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2005;26:137-41.
67. Chen YJ, Sheu ML, Tsai KS, Yang RS, Liu SH. Advanced glycation end products induce peroxisome proliferator-activated receptor γ down-regulation-related inflammatory signals in human chondrocytes via Toll-like receptor-4 and receptor for advanced glycation end products. *PLoS One* 2013;8:e66611.

68. Paradela-Dobarro B, Raposeiras-Roubín S, Rodiño-Janeiro BK, Grigorian-Shamagian L, García-Acuña JM, Aguiar-Souto P, et al. Statins modulate feedback regulation mechanisms between advanced glycation end-products and C-reactive protein: evidence in patients with acute myocardial infarction. *Eur J Pharm Sci* 2013;49:512-8.
69. Nagano M, Fukami K, Yamagishi S, Sakai K, Kaida Y, Matsumoto T, et al. Tissue level of advanced glycation end products is an independent determinant of high-sensitivity C-reactive protein levels in haemodialysis patients. *Nephrology (Carlton)* 2011;16:299-303.
70. Li J, Hou F, Guo Z, Shan Y, Zhang X, Liu Z. Advanced glycation end products upregulate C-reactive protein synthesis by human hepatocytes through stimulation of monocyte IL-6 and IL-1 beta production. *Scand J Immunol* 2007;66:555-62.
71. Sukkar MB, Wood LG, Tooze M, Simpson JL, McDonald VM, Gibson PG, et al. Soluble RAGE is deficient in neutrophilic asthma and COPD. *Eur Respir J* 2012;39:721-9.
72. Iwamoto H, Gao J, Koskela J, Kinnula V, Kobayashi H, Laitinen T, et al. Differences in plasma and sputum biomarkers between COPD and COPD-asthma overlap. *Eur Respir J* 2014;43:421-9.
73. Cheng DT, Kim DK, Cockayne DA, Belousov A, Bitter H, Cho MH, et al. Systemic soluble receptor for advanced glycation endproducts is a biomarker of emphysema and associated with AGER genetic variants in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;188:948-57.
74. Carolan BJ, Hughes G, Morrow J, Hersh CP, O'Neal WK, Rennard S, et al. The association of plasma biomarkers with computed tomography-assessed emphysema phenotypes. *Respir Res* 2014;15:127.

75. Serapinas D, Narbekovas A, Juskevicius J, Sakalauskas R. Systemic inflammation in COPD in relation to smoking status. *Multidiscip Respir Med* 2011;6:214-9.
76. Tonstad S, Cowan JL. C-reactive protein as a predictor of disease in smokers and former smokers: a review. *Int J Clin Pract* 2009;63:1634-41.
77. Ji J, von Schéele I, Bergström J, Billing B, Dahlén B, Lantz AS, et al. Compartment differences of inflammatory activity in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Res* 2014;15:104.
78. Vestbo J, Agustí A, Wouters EF, Bakke P, Calverley PM, Celli B, et al. Should we view chronic obstructive pulmonary disease differently after ECLIPSE? A clinical perspective from the study team. *Am J Respir Crit Care Med* 2014;189:1022-30.
79. D'hulst AI, Bracke KR, Maes T, De Bleecker JL, Pauwels RA, Joos GF, et al. Role of tumour necrosis factor- α receptor p75 in cigarette smoke-induced pulmonary inflammation and emphysema. *Eur Respir J* 2006;28:102-12.
80. Haren MT, Malmstrom TK, Miller DK, Patrick P, Perry HM, Herning MM, et al. Higher C-reactive protein and soluble tumor necrosis factor receptor levels are associated with poor physical function and disability: a cross-sectional analysis of a cohort of late middle-aged African Americans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2010;65:274-81.
81. Tanni SE. Tese Doutorado. Estado inflamatório sistêmico e gravidade da doença pulmonar obstrutiva crônica. Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2008.
82. Anandha Lakshmi A, Lakshmanan A, Ganesh Kumar P, Saravanan A. Effect of Intensity of Cigarette Smoking on Haematological and Lipid Parameters *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. *J Clin Diagn Res* 2014;8:BC11-3.
83. Wannamethee SG, Shaper AG. Cigarette smoking and serum liver enzymes: the role of alcohol and inflammation. *Ann Clin Biochem* 2010;47:321-6.

84. Sripanidkulchai B, Areejitnusorn P, Sriamporn S, Sripanidkulchai K, Kamsaard S. Serum gamma-glutamyl transpeptidase and alkaline phosphatase of people in Khon Kaen, the northeastern Thailand. *Asian Pac J Cancer Prev* 2004;5:54-7.
85. Horie M, Noguchi S, Tanaka W, Goto Y, Yoshihara H, Kawakami M, et al. Relationships among smoking habits, airflow limitations, and metabolic abnormalities in school workers. *PLoS One* 2013;8:e81145.
86. Slagter SN, van Vliet-Ostaptchouk JV, Vonk JM, Boezen HM, Dullaart RP, Kobold AC, et al. Associations between smoking, components of metabolic syndrome and lipoprotein particle size. *BMC Med* 2013;11:195.
87. Guedes DP, Guedes JE, Barbosa DS, de Oliveira JA. Tobacco use and plasma lipid-lipoprotein profile in adolescents. *Rev Assoc Med Bras* 2007;53:59-63.
88. Wacker ME, Hunger M, Karrasch S, Heinrich J, Peters A, Schulz H, et al. Health-related quality of life and chronic obstructive pulmonary disease in early stages - longitudinal results from the population-based KORA cohort in a working age population. *BMC Pulm Med* 2014;14:134.
89. Guitérrez-Bedmar M, Seguí-Gómez M, Gómez-Gracia E, Bes-Rastrollo M, Martínez-González MA. Smoking status, changes in smoking status and health-related quality of life: findings from the SUN ("Seguimiento Universidad de Navarra") cohort. *Int J Environ Res Public Health* 2009;6:310-20.
90. Sales MP, Oliveira MI, Mattos IM, Viana CM, Pereira ED. The impact of smoking cessation on patient quality of life. *J Bras Pneumol* 2009;35:436-41.
91. Goldenberg M, Danovitch I, IsHak WW. Quality of life and smoking. *Am J Addict* 2014;23:540-62.
92. Saravanan C, Heidhy I. Psychological problems and psychosocial predictors of cigarette smoking behavior among undergraduate students in Malaysia. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15:7629-34.

93. Eisner MD, Blanc PD, Yelin EH, Sidney S, Katz PP, Ackerson L, et al. COPD as a systemic disease: Impact on physical functional limitations. *Am J Med* 2008;121:789-96.
94. Ilgin D, Ozalevli S, Kilinc O, Sevinc C, Cimrin AH, Ucan ES. Gait speed as a functional capacity indicator in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Ann Thorac Med* 2011;6:141-6.
95. Diaz O, Parada A, Ramos C, Klaassen J, Carlos Diaz J, Andresen M, et al. C-Reactive protein levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Rev Med Chile* 2012;140:569-78.
96. Calik-Kutukcu E, Savci S, Saglam M, Vardar-Yagli N, Inal-Ince D, Arikan H, et al. A comparison of muscle strength and endurance, exercise capacity, fatigue perception and quality of life in patients with chronic obstructive pulmonary disease and healthy subjects: a cross-sectional study. *BMC Pulm Med* 2014;14:6.
97. Pirabbasi E, Najafiyani M, Cheraghi M, Shahar S, Abdul Manaf Z, Rajab N, et al. Predictors' factors of nutritional status of male chronic obstructive pulmonary disease patients. *ISRN Nurs* 2012;2012:782626.
98. Breyer MK, Spruit MA, Hanson CK, Franssen FM, Vanfleteren LE, Groenen MT, et al. Prevalence of metabolic syndrome in COPD patients and its consequences. *PLoS One* 2014;9:e98013.
99. Anker SD, John M, Pedersen PU, Raguso C, Cicoira M, Dardai E, et al. ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Cardiology and pulmonology. *Clin Nutr* 2006;25:311-8.
100. Dourado VZ, Tanni SE, Vale SA, Faganello MM, Sanchez FF, Godoy I. Systemic manifestations in chronic obstructive pulmonary disease. *J Bras Pneumol* 2006;32:161-71.

9. Anexos

Anexo 1

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Grupo Tratado)

Título da pesquisa: “ASSOCIAÇÃO ENTRE ESTRESSE OXIDATIVO, INFLAMAÇÃO E MANIFESTAÇÕES SISTÊMICAS EM TABAGISTAS E PACIENTES COM DPOC LEVE E MODERADO”

O objetivo deste estudo será avaliar o estado nutricional, a função muscular, a inflamação no sangue, a quantidade de gordura e de músculos do corpo, o estado geral de saúde e a capacidade de caminhar de fumantes sem doença pulmonar e em pacientes com bronquite crônica ou enfisema pulmonar. O (A) Sr. (a.) está sendo convidado para participar deste estudo porque tem o diagnóstico de tabagismo, de bronquite crônica ou de enfisema pulmonar.

Durante a realização do estudo, o (a) Sr.(a.) terá seu peso e estatura medidos e deverá caminhar, sob supervisão, durante 6 minutos. Deverá também responder a questionários para avaliar a intensidade da sua falta de ar e medir os efeitos da doença na sua saúde, durante aproximadamente 10 minutos. Será submetido à coleta de 20 ml de sangue venoso para dosagem de substâncias que mostram a intensidade da inflamação. Esses exames são regularmente utilizados na avaliação de pacientes com bronquite crônica ou enfisema pulmonar e os riscos associados aos procedimentos utilizados na realização do estudo são mínimos. O estudo não envolve qualquer alteração nos tratamentos que esteja recebendo e a maioria das informações será obtida por meio de questionários e exames não associados com qualquer risco. O teste de caminhada tem risco mínimo porque reproduz a atividade diária de caminhar, apenas de forma controlada.

Caso durante o estudo seja identificado algum problema de saúde que não esteja sob tratamento médico o (a) Sr.(a.) será encaminhado para tratamento adequado sem nenhum custo.

As suas informações e dados pessoais serão utilizados apenas em reuniões de caráter científico e serão mantidos em sigilo profissional.

Qualquer dúvida em relação ao estudo será imediatamente esclarecida pelos pesquisadores ou pelo Comitê de Ética em Pesquisa, e o (a) Sr. (a.) estará livre para retirar seu consentimento e desistir de participar do estudo, em qualquer momento, sem interferência no tratamento que recebe na instituição. Ao entrar nesse estudo, sua identidade não será revelada.

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

Assinatura do participante

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

Assinatura da pesquisadora

Responsável Legal: _____ Data: _____

Pesquisadora: Laura Miranda de Oliveira Caram
Endereço: Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP
Botucatu – SP- Cep: 18600-000
Tel: 14-38801171
Email: laucaram@hotmail.com

Orientadora: Irma de Godoy
Departamento de Clínica Médica – Disciplina de Pneumologia
Endereço: Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP
Botucatu – SP- Cep: 18600-000
Tel: 14-38801171
Email: irma@fmb.unesp.br

Co-orientadora: Suzana Erico Tanni
Departamento de Clínica Médica – Disciplina de Pneumologia
Endereço: Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP
Botucatu – SP- Cep: 18600-000
Tel: 14-38801171
Email: suzanapneumo@hotmail.com

Colaboradora: Camila Renata Corrêa
Departamento de Clínica Médica – Laboratório Experimental
Endereço: Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP
Botucatu – SP- Cep: 18600-000
Tel: 14-38116339
Email: ccorrea@fmb.unesp.br

Colaboradora: Renata Ferrari
Departamento de Clínica Médica – Disciplina de Pneumologia
Endereço: Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP
Botucatu – SP- Cep: 18600-000
Tel: 14-38801171
Email: renataferrarifisio@gmail.com

Colaborador: André Luís Bertani
Departamento de Clínica Médica – Disciplina de Pneumologia
Endereço: Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP
Botucatu – SP- Cep: 18600-000
Tel: 14-38801171
Email: andrelubert@gmail.com

Colaborador: Mariana Gobbo Braz
Departamento de Anestesiologia
Endereço: Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP
Botucatu – SP- Cep: 18600-000
Tel: 14-38801650
Email: mgbraz@hotmail.com

Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)
Endereço: Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP
Botucatu – SP- Cep: 18600-000
Tel: 14-38801608/38801609

Anexo 2

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Grupo Controle)

Título da pesquisa: “ASSOCIAÇÃO ENTRE ESTRESSE OXIDATIVO, INFLAMAÇÃO E MANIFESTAÇÕES SISTÊMICAS EM TABAGISTAS E PACIENTES COM DPOC LEVE E MODERADO”

O objetivo deste estudo será avaliar o estado nutricional, a função muscular, a inflamação no sangue, a quantidade de gordura e de músculos do corpo, o estado geral de saúde e a capacidade de caminhar de fumantes sem doença pulmonar e em pacientes com bronquite crônica ou enfisema pulmonar. O (A) Sr. (a.) está sendo convidado a participar porque não apresenta as doenças avaliadas neste estudo e os dados da sua avaliação servirão apenas para comparação com aqueles obtidos nos pacientes fumantes ou com doença pulmonar.

Durante a realização do estudo, o (a) Sr.(a.) terá seu peso, estatura e força muscular medidos e as quantidades de gordura e músculo do seu corpo serão estimadas. O (A) Sr.(a.) deverá caminhar, sob supervisão, durante 6 minutos e responder a questionários para avaliar a sua qualidade de vida, durante aproximadamente 10 minutos e identificar eventuais sintomas de ansiedade e/ou depressão. Será coletado 20 ml do seu sangue venoso para avaliar se o (a) Sr.(a.) tem algum grau de inflamação.

Os riscos associados aos procedimentos utilizados na realização do estudo são mínimos. O teste de caminhada reproduz a atividade diária de caminhar, apenas de forma controlada.

As suas informações e dados pessoais serão utilizados apenas em reuniões de caráter científico e serão mantidos em sigilo profissional. O (A) Sr.(a.) será informado sobre os resultados dos seus exames e na eventualidade de alguma alteração ser encontrada terá os esclarecimentos necessários e será encaminhado para tratamento quando indicado.

Qualquer dúvida em relação ao estudo será imediatamente esclarecida pelos pesquisadores ou pelo Comitê de Ética em Pesquisa, e o (a) Sr. (a.) estará livre para retirar seu consentimento e desistir de participar do estudo, em qualquer momento, sem interferência no relacionamento que tem com a instituição. Ao entrar nesse estudo, sua identidade não será revelada.

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

Assinatura do participante

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

Assinatura da pesquisadora

Responsável Legal: _____ Data: _____

Pesquisadora: Laura Miranda de Oliveira Caram
Endereço: Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP
Botucatu – SP- Cep: 18600-000
Tel: 14-38801171
Email: laucaram@hotmail.com

Orientadora: Irma de Godoy
Departamento de Clínica Médica – Disciplina de Pneumologia
Endereço: Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP
Botucatu – SP- Cep: 18600-000
Tel: 14-38801171
Email: irma@fmb.unesp.br

Co-orientadora: Suzana Erico Tanni
Departamento de Clínica Médica – Disciplina de Pneumologia
Endereço: Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP
Botucatu – SP- Cep: 18600-000
Tel: 14-38801171
Email: suzanapneumo@hotmail.com

Colaboradora: Camila Renata Corrêa
Departamento de Clínica Médica – Laboratório Experimental
Endereço: Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP
Botucatu – SP- Cep: 18600-000
Tel: 14-38116339
Email: ccorrea@fmb.unesp.br

Colaboradora: Renata Ferrari
Departamento de Clínica Médica – Disciplina de Pneumologia
Endereço: Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP
Botucatu – SP- Cep: 18600-000
Tel: 14-38801171
Email: renataferrarifisio@gmail.com

Colaborador: André Luís Bertani
Departamento de Clínica Médica – Disciplina de Pneumologia
Endereço: Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP
Botucatu – SP- Cep: 18600-000
Tel: 14-38801171
Email: andrelubert@gmail.com

Colaborador: Mariana Gobbo Braz
Departamento de Anestesiologia
Endereço: Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP
Botucatu – SP- Cep: 18600-000
Tel: 14-38801650
Email: mgbraz@hotmail.com

Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)
Endereço: Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP
Botucatu – SP- Cep: 18600-000
Tel: 14-38801608/38801609

Anexo 3

Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu



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



Registrado no Ministério da Saúde
em 30 de abril de 1997

Botucatu, 05 de novembro de 2012

Of. 543/2012

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

Prezada Dr^a. Irma,

De ordem do Senhor Coordenador, informo que o Projeto de Pesquisa (Protocolo CEP 4415-2012) Associação entre estresse oxidativo, inflamação e manifestações sistêmicas em tabagistas e pacientes com DPOC leve e moderado, a ser conduzido por Laura Miranda de Oliveira Caram, orientada por Vossa Senhoria, co-orientado por Suzana Erico Tanni Minamoto, com a colaboração de André Luis Bertani, Camila Renata Correa Camacho, Mariana Gobbo Braz e Renata Ferrari, recebeu do relator parecer favorável, aprovado em reunião de 05/11/2012.

Situação do Projeto: APROVADO. Os pesquisadores deverão apresentar ao CEP ao final da execução do Projeto o "Relatório Final de Atividades".

Atenciosamente,

Alberto Santos Capelluppi
Secretário do CEP

Anexo 4

Versão Brasileira do Questionário de Qualidade de Vida -SF-36

1- Em geral você diria que sua saúde é:

Excelente	Muito Boa	Boa	Ruim	Muito Ruim
1	2	3	4	5

2- Comparada há um ano atrás, como você se classificaria sua idade em geral, agora?

Muito Melhor	Um Pouco Melhor	Quase a Mesma	Um Pouco Pior	Muito Pior
1	2	3	4	5

3- Os seguintes itens são sobre atividades que você poderia fazer atualmente durante um dia comum. Devido à sua saúde, você teria dificuldade para fazer estas atividades? Neste caso, quando?

Atividades	Sim, dificulta muito	Sim, dificulta um pouco	Não, não dificulta de modo algum
a) Atividades Rigorosas, que exigem muito esforço, tais como correr, levantar objetos pesados, participar em esportes árduos.	1	2	3
b) Atividades moderadas, tais como mover uma mesa, passar aspirador de pó, jogar bola, varrer a casa.	1	2	3
c) Levantar ou carregar mantimentos	1	2	3
d) Subir vários lances de escada	1	2	3
e) Subir um lance de escada	1	2	3
f) Curvar-se, ajoelhar-se ou dobrar-se	1	2	3
g) Andar mais de 1 quilômetro	1	2	3
h) Andar vários quarteirões	1	2	3
i) Andar um quarteirão	1	2	3
j) Tomar banho ou vestir-se	1	2	3

4- Durante as últimas 4 semanas, você teve algum dos seguintes problemas com seu trabalho ou com alguma atividade regular, como consequência de sua saúde física?

	Sim	Não
a) Você diminui a quantidade de tempo que se dedicava ao seu trabalho ou a outras atividades?	1	2
b) Realizou menos tarefas do que você gostaria?	1	2
c) Esteve limitado no seu tipo de trabalho ou a outras atividades.	1	2
d) Teve dificuldade de fazer seu trabalho ou outras atividades (p. ex. necessitou de um esforço extra).	1	2

5- Durante as últimas 4 semanas, você teve algum dos seguintes problemas com seu trabalho ou outra atividade regular diária, como consequência de algum problema emocional (como se sentir deprimido ou ansioso)?

	Sim	Não
a) Você diminui a quantidade de tempo que se dedicava ao seu trabalho ou a outras atividades?	1	2
b) Realizou menos tarefas do que você gostaria?	1	2
c) Não realizou ou fez qualquer das atividades com tanto cuidado como geralmente faz.	1	2

6- Durante as últimas 4 semanas, de que maneira sua saúde física ou problemas emocionais interferiram nas suas atividades sociais normais, em relação à família, amigos ou em grupo?

De forma nenhuma	Ligeiramente	Moderadamente	Bastante	Extremamente
1	2	3	4	5

7- Quanta dor no corpo você teve durante as últimas 4 semanas?

Nenhuma	Muito leve	Leve	Moderada	Grave	Muito grave
1	2	3	4	5	6

8- Durante as últimas 4 semanas, quanto a dor interferiu com seu trabalho normal (incluindo o trabalho dentro de casa)?

De maneira alguma	Um pouco	Moderadamente	Bastante	Extremamente
1	2	3	4	5

9- Estas questões são sobre como você se sente e como tudo tem acontecido com você durante as últimas 4 semanas. Para cada questão, por favor dê uma resposta que mais se aproxime de maneira como você se sente, em relação às últimas 4 semanas.

	Todo Tempo	A maior parte do tempo	Uma boa parte do tempo	Alguma parte do tempo	Uma pequena parte do tempo	Nunca
a) Quanto tempo você tem se sentindo cheio de vigor, de vontade, de força?	1	2	3	4	5	6
b) Quanto tempo você tem se sentido uma pessoa muito nervosa?	1	2	3	4	5	6
c) Quanto tempo você tem se sentido tão deprimido que nada pode animá-lo?	1	2	3	4	5	6
d) Quanto tempo você tem se sentido calmo ou tranquilo?	1	2	3	4	5	6
e) Quanto tempo	1	2	3	4	5	6

você tem se sentido com muita energia?						
f) Quanto tempo você tem se sentido desanimado ou abatido?	1	2	3	4	5	6
g) Quanto tempo você tem se sentido esgotado?	1	2	3	4	5	6
h) Quanto tempo você tem se sentido uma pessoa feliz?	1	2	3	4	5	6
i) Quanto tempo você tem se sentido cansado?	1	2	3	4	5	6

10- Durante as últimas 4 semanas, quanto de seu tempo a sua saúde física ou problemas emocionais interferiram com as suas atividades sociais (como visitar amigos, parentes, etc.)?

Todo Tempo	A maior parte do tempo	Alguma parte do tempo	Uma pequena parte do tempo	Nenhuma parte do tempo
1	2	3	4	5

11- O quanto verdadeiro ou falso é cada uma das afirmações para você?

	Definitivamente verdadeiro	A maioria das vezes verdadeiro	Não sei	A maioria das vezes falso	Definitivamente falso
a) Eu costumo adoecer um pouco mais facilmente que as outras pessoas	1	2	3	4	5
b) Eu sou tão saudável quanto qualquer pessoa que eu conheço	1	2	3	4	5
c) Eu acho que a minha saúde vai piorar	1	2	3	4	5
d) Minha saúde é excelente	1	2	3	4	5

Anexo 5

Avaliação do Nível de Ansiedade e Depressão – Escala HAD

1) Eu me sinto tensa(o) ou contraída(o):

- (3) A maior parte do tempo
- (2) Boa parte do tempo
- (1) De vez em quando
- (0) Nunca

2) Eu ainda sinto gosto pelas mesmas coisas de antes:

- (0) Sim, do mesmo jeito que antes
- (1) Não tanto quanto antes
- (2) Só um pouco
- (3) Já não consigo ter prazer em nada

3) Eu sinto uma espécie de medo, como se alguma coisa ruim fosse acontecer:

- (3) Sim, e de jeito muito forte
- (2) Sim, mas não tão forte
- (1) Um pouco, mas isso não me preocupa
- (0) Não sinto nada disso

4) Dou risada e me divirto quando vejo coisas engraçadas:

- (0) Do mesmo jeito que antes
- (1) Atualmente um pouco menos
- (2) Atualmente bem menos
- (3) Não consigo mais

5) Estou com a cabeça cheia de preocupações:

- (3) A maior parte do tempo
- (2) Boa parte do tempo
- (1) De vez em quando
- (0) Raramente

6) Eu me sinto alegre:

- (3) Nunca
- (2) Poucas vezes
- (1) Muitas vezes
- (0) A maior parte do tempo

7) Consigo ficar sentado à vontade e me sentir relaxado:

- (0) Sim, quase sempre
- (1) Muitas vezes
- (2) Poucas vezes
- (3) Nunca

8) Eu estou lenta(o) para pensar e fazer coisas:

- (3) Quase sempre
- (2) Muitas vezes

- (1) De vez em quando
- (0) Nunca

9) Eu tenho uma sensação ruim de medo, como um frio na barriga ou um aperto no estômago:

- (0) Nunca
- (1) De vez em quando
- (2) Muitas vezes
- (3) Quase sempre

10) Eu perdi o interesse em cuidar da minha aparência:

- (3) Completamente
- (2) Não estou mais me cuidando como eu deveria
- (1) Talvez não tanto quanto antes
- (0) Me cuido do mesmo jeito que antes

11) Eu me sinto inquieta(o), como se eu não pudesse ficar parada(o) em lugar nenhum:

- (3) Sim, demais
- (2) Bastante
- (1) Um pouco
- (0) Não me sinto assim

12) Fico animada(o) esperando animado as coisas boas que estão por vir:

- (0) Do mesmo jeito que antes
- (1) Um pouco menos que antes
- (2) Bem menos do que antes
- (3) Quase nunca

13) De repente, tenho a sensação de entrar em pânico:

- (3) A quase todo momento
- (2) Várias vezes
- (1) De vez em quando
- (0) Não sinto isso

14) Consigo sentir prazer quando assisto um bom programa de televisão, de rádio, ou quando leio alguma coisa:

- (0) Quase sempre
- (1) Várias vezes
- (2) Poucas vezes
- (3) Quase nunca

Escala de Ansiedade: [] pontos Escala de Depressão [] pontos.

Questões Ansiedade – 1,3,5,7,9,11 e 13 Depressão – 2,4,6,8,10,12 e 14

Avaliação no Escore obtido: 0 – 7 pontos: Improvável

8 – 11 pontos: Possível (questionável ou duvidosa)

12 – 21 pontos: Provável