

A influência de um programa de reabilitação pulmonar na descontinuidade da matriz extracelular, no estado de saúde e na resposta ao exercício em pacientes com DPOC

The influence of a pulmonary rehabilitation program in oxidative stress, in health status and response to exercise in patients with COPD

ROCHA RS, ROCHA LS, SANTA-MARIA LB, RODRIGUES LC, CARNEIRO SR. A influência de um programa de reabilitação pulmonar na descontinuidade da matriz extracelular, no estado de saúde e na resposta ao exercício em pacientes com dpoc. *R. bras. Ci. e Mov* 2018;26(4):67-75.

RESUMO: A Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) altera a ventilação pulmonar com redução da capacidade de extração de oxigênio, com consequente declínio da tolerância ao exercício físico e qualidade de vida. O objetivo do estudo é comparar os efeitos da reabilitação pulmonar com exercício físico aeróbico no estado de saúde, na tolerância ao exercício e na descontinuidade da matriz extracelular. Estudo experimental, de caráter quantitativo, com amostragem de 18 indivíduos com DPOC moderado a grave. Todos foram submetidos a 3 etapas do estudo, constituindo-se de três avaliações antes do programa, após dez semanas de reabilitação pulmonar, e após vinte semanas, onde foram realizadas: Avaliação geral; Análise do estresse oxidativo (EOx); Aplicação do questionário de vias aéreas 20 (AQ20); Teste de caminhada de 6 minutos, tendo como acompanhamento a escala de Borg modificada. Na análise estatística foi utilizado o teste de D'Agostino para análise de normalidade das variáveis, o Wilcoxon Sign Rank Test para os valores do AQ20, após a constatação de normalidade aplicamos o Teste T para amostras pareadas ou o Wilcoxon Sign Rank Test (distribuição normal e não paramétrica respectivamente) e Teste Kruskal-wallis, destinado a comparar proporções de mesma variável mensurada no EOx. A significância estatística $p < 0,05$ foi adotada. O AQ20 revelou não significância quando aplicado no pré ($10 \pm 1,5$) e pós-reabilitação pulmonar pelo período de 10 ($10 \pm 1,2$) e 20 semanas (8 ± 2). O TC6 não apresentou significância quando comparado pré ($410 \pm 30m$) e pós 10 ($415 \pm 45m$) e 20 semanas ($450 \pm 40m$) o programa de reabilitação. Após a constatação de normalidade, foi obtida significância nos parâmetros do Eox, com $p = \text{valor} < 0,0001$. Pode-se concluir que o protocolo de reabilitação pulmonar com exercício físico reduziu a descontinuidade da matriz extracelular, demonstrando menor estresse oxidativo, sem influencia no estado de saúde e tolerância ao exercício.

Palavras-chave: DPOC; Reabilitação Pulmonar; Estresse oxidativo.

ABSTRACT: Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) alters pulmonary ventilation with reduced oxygen extraction capacity, with a consequent decline in tolerance to physical exercise and quality of life. The objective of the study is to compare the effects of pulmonary rehabilitation with aerobic physical exercise on health status, exercise tolerance and extracellular matrix discontinuity. Experimental study, with quantitative character, with sampling of 18 individuals with moderate to severe COPD. All were submitted 3 stages of the study, constituting three evaluations before the program, after ten weeks of pulmonary rehabilitation, and after twenty weeks, where they were performed: Overall evaluation; Analysis of oxidative stress (EOx); Application of the airway questionnaire 20 (AQ20); A 6-minute walk test, followed by the modified Borg scale. In the statistical analysis, the D'Agostino test was used to analyze the variables normality, the Wilcoxon Sign Rank Test for the AQ20 values, after the normality test we applied the T-Test for paired samples or the Wilcoxon Sign Rank Test and non-parametric, respectively) and Kruskal-wallis test, to compare proportions of the same variable measured in the EOx. Statistical significance was set at $p < 0.05$. The AQ20 revealed no significance when applied in the pre ($10 \pm 1,5$) and post pulmonary rehabilitation for the period of 10 (10 ± 1.2) and 20 weeks (8 ± 2). The 6MWT did not present significance when compared to the rehabilitation program ($410 \pm 30m$) and post 10 ($415 \pm 45m$) and 20 weeks ($450 \pm 40m$). After the normality was verified, the significance was obtained in the Eox parameters, with $p = \text{value} < 0.0001$. It can be concluded that the pulmonary rehabilitation protocol with physical exercise reduced the discontinuity of the extracellular matrix, demonstrating lower oxidative stress.

Key Words: COPD; Pulmonary Rehabilitation; Oxidative stress.

Rodrigo S. B. Rocha^{1,2,3}
Larissa S. de O. Rocha¹
Liliane B. Santa-Maria¹
Luana C. P. Rodrigues¹
Saul Rassy Carneiro⁴

¹Universidade da
Amazônia

²Universidade do Estado
do Pará

³Universidade Metodista
de Piracicaba

⁴Universidade Federal do
Pará

Introdução

A doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) afeta os pulmões ocasionando uma diminuição da função pulmonar, além de outras complicações extrapulmonares como a intolerância ao exercício e diminuição da resistência a fadiga, condições estas ligadas a função mitocondrial e músculo esquelética¹.

O mecanismo de disfunção muscular é aumentado nos pacientes com DPOC, que com o aumento da gravidade e evolução da doença, decorrente da perda da capacidade oxidativa e aumento do estresse oxidativo², a força muscular nos membros agrava-se, principalmente membros inferiores, o que influencia no desempenho do exercício, o aumento da dispneia, piora no estado de saúde, com resultante decréscimo da qualidade de vida³.

Por esse fator, as grandes quantidades de oxigênio e nitrogênio encontrados nos compartimentos respiratórios e a ação dos leucócitos e macrófagos envolvidos na inflamação do DPOC, fazem com que o sistema de defesa acarrete um aumento da carga oxidante ocasionando um desequilíbrio na ação oxidante/antioxidante, resultando no aumento do estresse oxidativo (EOx)⁴.

Para minimizar esses efeitos estruturais e metabólicos o programa de reabilitação atua principalmente após as exacerbações da DPOC, que acontecem devido à deterioração da função do musculoesquelética⁵. O programa de reabilitação pulmonar para pacientes com DPOC baseia-se na realização de exercícios físicos aeróbicos e de moderada intensidade⁶, sendo realizados em esteiras, ciclo ergômetros, com uso de pesos livres ou na piscina⁷. Atuando assim de forma eficaz e segura, pois a aplicação de exercícios terapêuticos se mostrou significativa na melhora da qualidade de vida, no aumento da capacidade para o exercício, redução da hiperinsuflação dinâmica e dispnéia⁸.

Apesar do interesse da comunidade científica perante programas de reabilitação no paciente com DPOC, não se sabe ao certo os efeitos do exercício aeróbico no comportamento do estresse oxidativo, e sua relação com o estado de saúde e capacidade funcional. Sendo assim, o objetivo do estudo foi comparar os efeitos pré e pós-reabilitação pulmonar no estado de saúde, na tolerância ao exercício e no estresse oxidativo.

Materiais e métodos

Aspectos éticos

A pesquisa foi aprovada pelo comitê de ética em pesquisa do Hospital João de Barros Barreto com o parecer de aprovação 1.362879 e do clinical trials NCT02783326. Ao início do estudo todos os voluntários assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Sujeitos da Pesquisa

O estudo foi composto por voluntários com diagnóstico de DPOC, com estágio da doença de moderado a grave, de ambos os sexos, recrutados da população que iniciou ao tratamento de pneumologia no ambulatório de fisioterapia do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB). O período de coleta de dados foi no período entre fevereiro/2016 a setembro/2016.

Participaram do estudo portadores de DPOC em estágios III e IV da doença, segundo critérios da GOLD⁸ e otimizados no tratamento farmacológico para DPOC, de ambos os sexos, com idade entre 50 à 80 anos,

Foram excluídos do estudo voluntários que já participaram de algum programa de reabilitação cardiopulmonar, com problemas musculoesqueléticos, com sinais de desorientação, tontura e mal estar, com doenças cardiopulmonares prévias à DPOC, com insuficiência cardíaca.

A amostra foi composta inicialmente por 18 voluntários. Onde todos passaram pela avaliação geral do HUIBB, responderam ao AQ20, realizaram o TC6 e foram submetidos à coleta da amostra sanguínea para a análise do estresse oxidativo, valores em média, desvio padrão e p-valor. No decorrer da pesquisa foram excluídos 2 voluntários

por problemas de saúde e 2 por desistência do programa, com isso, a amostra ficou composta por 14 voluntários (Figura 1).

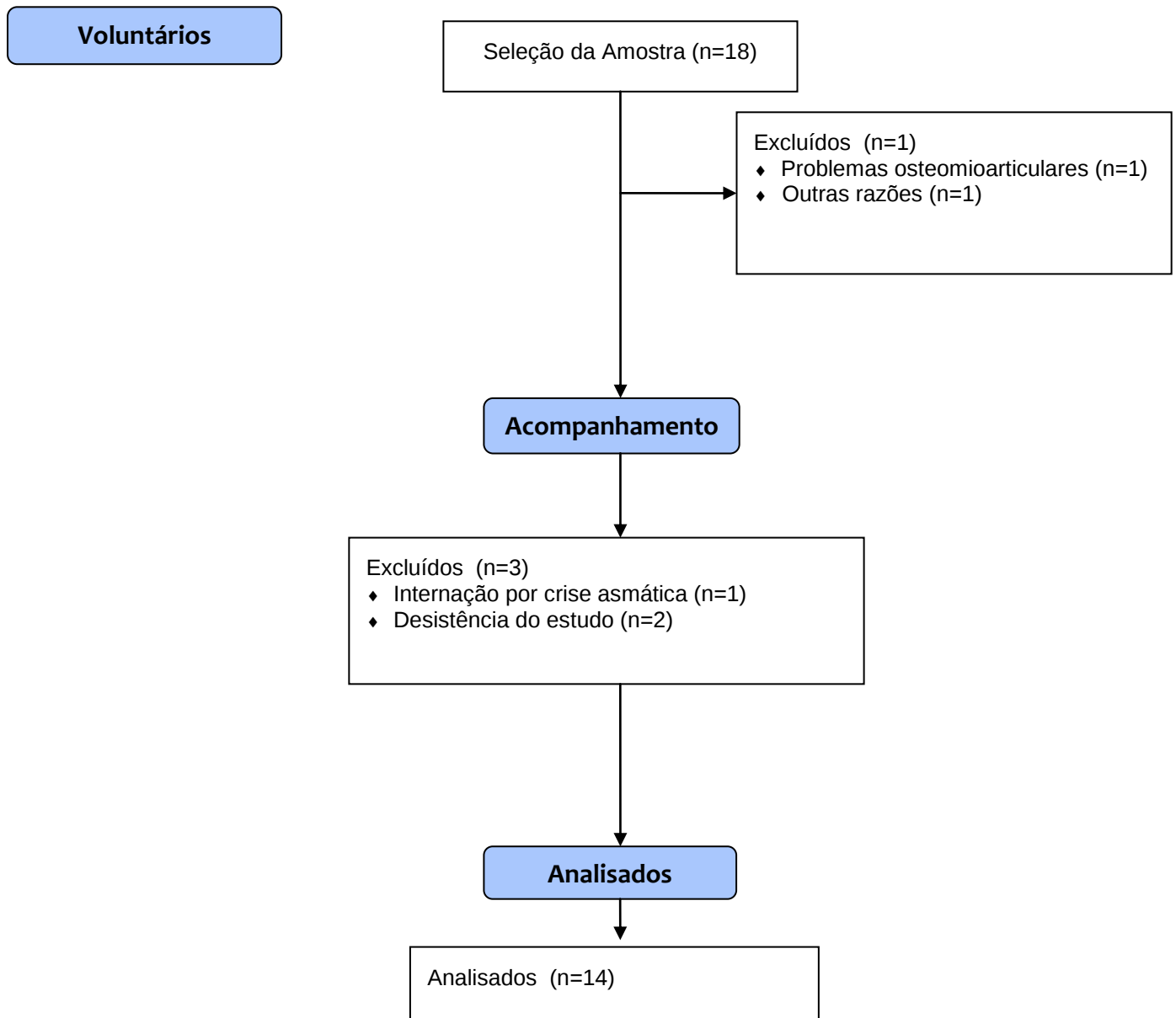


Figura 1. Fluxograma de participação dos voluntários no estudo.

Procedimentos experimentais

Os dados dos voluntários foram coletados antes do início do tratamento, imediatamente ao término do programa de reabilitação de 10 semanas, e após 10 semanas do término do programa de reabilitação. Sendo coletados para o estudo o estresse oxidativo, o teste de caminhada de 6 minutos e o questionário de vias aéreas 20.

A avaliação morfológica do EOX no plasma sanguíneo foi realizada de acordo com o teste denominado de

Microscopia Ótica para a Análise Celular In Vitro ou Teste HLB, também conhecido sob a denominação de *Dry layer oxidative test*, ao qual é referido nesse estudo como morfologia microscópica do EOx no plasma (MEOP).

A MEOP proporciona informações indiretas relativas ao EOx, dentre outras, utilizando-se de seguinte sistema de graduação do percentual da área descontínua do coágulo, presente na lâmina de microscopia: grau I (taxa de EOx normal, com área total de descontinuidade da matriz extracelular (ME) inferior a 10%), grau II (EOx leve, com área de descontinuidade da ME entre 10 a 20%), grau III (EOx moderado, com área de descontinuidade da ME entre 20 a 30%), grau IV (EOx grave, com área de descontinuidade da ME entre 30 a 40%) e, o grau V (EOx muito grave, com área de descontinuidade da ME acima de 40%). A coleta foi realizada pelas pesquisadoras, onde mediante a punção capilar na face medial da polpa digital do quarto dedo da mão esquerda previamente higienizado com álcool, foi feita a coleta da gota de sangue junto a uma lâmina de microscopia por meio de cinco leves toques desta lâmina junto à gota. Após este procedimento, a lâmina foi mantida em lugar protegido de contato com o sangue e em temperatura ambiente (23°C) pelo período de nove minutos, para a efetivação do processo de coagulação do sangue colhido. Ao final deste período, os padrões morfológicos destes coágulos foram observados sob um aumento de 40 vezes para que seja feita a respectiva graduação qualitativa atribuída⁹, após esse procedimento a graduação foi registrada em uma planilha eletrônica para análise estatística.

A análise da descontinuidade da matriz extracelular foi realizada por um pesquisador cego que não conhecia a pesquisa. O sangue coagulado foi estudado através da videomicroscopia (microscópio da marca NIKON), onde foi selecionado o melhor campo histológico, em seguida, foi feita uma foto, que foi analisada pelo programa *Image Pro Plus* onde se visualizam os campos onde não houve coagulação sanguínea, onde foi possível delimitar a área total e as áreas na matriz onde houve descontinuidade, a partir desses valores foi realizado uma regra de três simples onde foram utilizados esses valores para se determinar o percentual de estresse oxidativo. Esse teste de análise permite ter uma noção indireta do nível de estresse oxidativo no paciente estudado além de avaliar sua evolução terapêutica. Após a obtenção do percentual da área total analisada e das aéreas com descontinuidade foi realizado a soma de todas as áreas com descontinuidade e realizado uma regra de três simples para a determinação do percentual de estresse oxidativo.

O teste de caminhada de seis minutos (TC6) é um instrumento clínico frequentemente utilizado como medida de avaliação dos resultados de programas de reabilitação pulmonar¹⁰. No estudo em questão, foi realizado no corredor de 30 metros, os voluntários eram estimulados a andar o mais rápido possível durante os seis minutos, onde o mesmo foi orientado e esclarecido as possíveis alterações cardiorrespiratórias que poderiam surgir, sendo permitido andar devagar, parar, relaxar quando necessário retornando à caminhada quando sentir-se apto a reassumir a caminhada, sem interrupção da contagem do tempo, caminhar sem falar com as pessoas que estavam ao seu redor, caminhar até o cone onde irá contornar sem hesitação. O percurso foi demonstrado pelo examinador antes do início do TC6.

Foi investigado também o estado de saúde com o questionário de vias aéreas 20 (AQ20) é validado e específico para pacientes com asma e DPOC, inclui 20 itens com pontuação de 1 para sim e 0 para não e não se aplica, quanto menor a pontuação melhor o estado de saúde¹¹. As aplicações do AQ20 foram realizadas no mesmo horário, por pesquisadores diferentes (pesquisador 1 e 2) e em ordem aleatória (por sorteio simples) e que não tinham acesso prévio às respostas da primeira aplicação. Este procedimento é utilizado para estudar a reprodutibilidade inter-observador. A primeira aplicação do AQ20 foi realizada pelo pesquisador 1 e após o período de 10 semanas, o AQ20 foi aplicado novamente pelo pesquisador 2, para que haja reprodutibilidade intra-observador. O AQ20 é composto por 20 questões com pontuação de 0 a 20, tendo como opções de resposta “sim”, “não” e “não se aplica”. Quanto maior a pontuação pior a percepção sobre o estado de saúde.

Para a aplicação do protocolo de reabilitação pulmonar os voluntários foram submetidos à realização de

exercício aeróbico em Esteira e Bicicleta horizontal, além de exercícios de fortalecimento de membros inferiores, superiores e alongamento.

O treinamento foi executado 2 vezes na semana, com duração de a 50 minutos de treinamento específico (aeróbico e fortalecimento), por 10 semanas, realizando um total de 20 dias de exercício físico na segunda fase, e por mais 10 semanas em atividade física como foi orientado.

A prescrição do exercício aeróbico foi estabelecida em 20 minutos de esteira e/ou bicicleta. Sendo aplicada a escala de percepção de Borg Modificada^{12,13}, como acompanhamento do nível de esforço, sendo nível de intensidade tolerável 4 na escala de Borg modificada que corresponde ao esforço moderado, tanto para o exercício aeróbico quanto para o resistido.

Os exercícios de fortalecimento envolveram grandes grupos musculares das regiões do ombro, joelho e quadril, em cadeia fechada e aberta, utilizando a Facilitação Neuromuscular Proprioceptiva (PNF) com exercícios de extremidade superior dentro dos movimentos das diagonais do Método Kabat (flexão-adução-rotação externa / flexão abdução-rotação externa / extensão-abdução-rotação interna / extensão-adução rotação interna). Os exercícios seguiram o protocolo 3 séries de 10 repetições, com intervalos de 30 segundos de descanso¹⁴, com alteres.

Análise Estatística

Os dados foram tabulados em uma planilha do Excel 2016, em seguida a análise estatística foi realizada no programa Biostat 5.0. Foi aplicado o teste de D'Agostino para análise de normalidade das variáveis do estresse oxidativo e do teste de caminhada de 6 minutos. Para análise da normalidade da variável AQ20 foi utilizado o teste Wilcoxon Sign Rank Test. Para as comparações múltiplas dos períodos avaliados utilizou-se o teste ANOVA. O nível alfa de significância foi de 5%.

Resultados

Os dados demográficos e clínicos dos voluntários estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1: Características demográficas e clínicas dos pacientes do grupo DPOC. 2016, HUJBB, Belém- PA.

Parâmetros	Grupo DPOC
Idade	65.85 ± 7.88
Sexo Masculino	13
Sexo Feminino	1
Medicamentos	
Spiriva	12
Seretide	10
Duovent N	2

Doenças Associadas

Asma	5
Alergia	3
Uso de Oxigênio	1
Tabagismo (Anterior)	11

Os resultados encontrados na avaliação do questionário AQ20 não demonstrou significância da percepção dos voluntários no estado de saúde nos períodos pré ($10 \pm 1,5$) e pós reabilitação pulmonar pelo período de 10 ($10 \pm 1,2$) e 20 semanas (8 ± 2) ($p=0,80$).

O TC6 não apresentou significância quando comparado pré ($410 \pm 30m$) e pós 10 ($415 \pm 45m$) e 20 semanas ($450 \pm 40m$) ($p=0,15$).

A análise do Eox pela análise da descontinuidade da matriz extracelular demonstrou que os valores encontrados no período pré-programa de reabilitação ($19 \pm 5,5\%$) foram maiores que 10 semanas após protocolo de reabilitação pulmonar ($9 \pm 3,2\%$) ($p=0,01$) e que 20 semanas após protocolo de reabilitação ($7 \pm 3,3\%$) ($p=0,0001$), demonstrando que o estresse oxidativo reduziu de grau III para grau I. A análise da descontinuidade da matriz extracelular nos períodos 10 e 20 semanas também demonstrou diferença significativa entre os períodos ($p=0,01$), as imagens microscópicas das análises de descontinuidade da matriz extracelular durante a pesquisa nos períodos pré e pós-protocolo de reabilitação são demonstrados na figura 2.

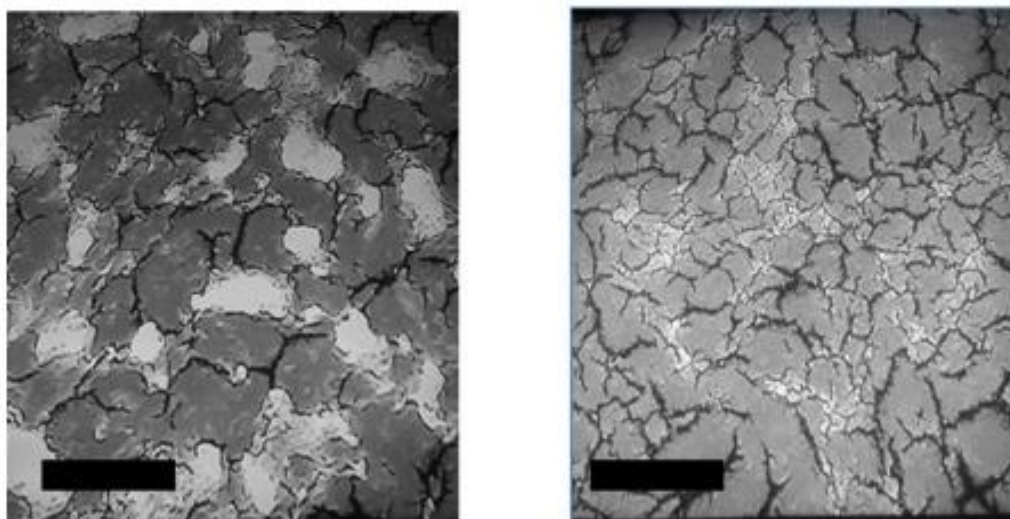


Figura 2. Pré Reabilitação (GRAU III), pós-reabilitação (GRAU I), respectivamente. Barra= $50\mu m$.

Discussão

Os resultados encontrados no estudo demonstram que o protocolo de reabilitação pulmonar com exercício aeróbico foi capaz de reduzir o estresse oxidativo de pacientes com DPOC, no entanto não foi capaz de alterar a percepção do estado de saúde e a tolerância ao exercício físico.

A DPOC é uma doença caracterizada por limitação progressiva de fluxo aéreo, podendo ser irreversível e com

significativos efeitos extrapulmonares que podem contribuir para a gravidade da doença. Um dos principais efeitos sistêmicos é a diminuição da massa muscular ligada à disfunção muscular, que contribui para um pior prognóstico, decorrente do aumento do estresse oxidativo¹⁵, piora no estado de saúde e redução à tolerância ao exercício.

O estresse oxidativo nos pacientes com a DPOC pode ser aumentado principalmente pelo tabagismo ativo independentemente da fase da vida¹⁵, no presente estudo 11 voluntários foram tabagistas em algum período da vida, contribuindo para que no período pré-protocolo o estresse oxidativo estivesse elevado.

No estresse oxidativo ocorre o desequilíbrio entre os sistemas oxidante e antioxidante, no qual o oxidante é predominante. A lipoperoxidação é a principal lesão que causa a oxidação da camada lipídica da membrana muscular, além disso, o estresse oxidativo pode ter como consequências distúrbios nas proteínas de DNA, podendo desenvolver alterações celulares e teciduais¹⁶.

Os mecanismos de perda da capacidade oxidativa muscular na DPOC não são totalmente claros, mas ao que se indica que existe relação com desuso muscular e outros contribuintes específicos da doença, incluindo inflamação, hipóxia e estresse oxidativo. O estresse oxidativo por sua vez é um fator potencialmente associado ao exercício físico¹⁶, fato que pode ser encontrado no presente estudo visto que após o programa de reabilitação pulmonar os houve redução dos níveis de estresse oxidativo. O exercício físico associado ao treinamento muscular potencializa os efeitos antioxidantes, melhorando a tolerância tecidual e gerando aumento das defesas teciduais¹⁷.

Vem sendo amplamente demonstrada a eficácia da reabilitação pulmonar para pacientes com DPOC, no hospital, em ambulatório ou em casa, desde que os requisitos deste programa de gestão global sejam observados, de acordo com as fases e programas de exercícios¹⁸. O protocolo utilizado no presente estudo, apesar do setor de reabilitação estar dentro do hospital, pode ser considerado como de unidade ambulatorial, onde todos os pacientes eram consultados na unidade hospitalar e encaminhados para a realização da reabilitação no ambulatório da instituição.

França *et al.*¹⁹ em estudo realizado com pacientes com DPOC realizando exercício aeróbico com cicloergometro demonstraram melhora da mobilidade torácica, com aumento da ventilação pulmonar, fato que pode explicar os achados encontrados no presente estudo com relação a melhora do estresse oxidativo, a qual depende de um balanço adequado entre as espécies reativas de oxigênio e os fatores antioxidantes.

A deterioração do estado de saúde e a redução da tolerância ao exercício no paciente com a DPOC estão diretamente ligadas à disfunção músculo esquelética¹⁵, no presente estudo apesar da melhora do estresse oxidativo não foram evidenciadas melhoras nessas variáveis avaliadas pelo AQ20 e TC6 após o programa de reabilitação pulmonar.

Os questionários e testes como AQ20 e TC6 são comumente usados como ferramentas para analisar resultados dos benefícios da reabilitação. Entretanto, não há preditivos que os mesmos sejam eficazes em prever a mortalidade. Diante da exacerbação ou estado avançado da doença fazem-se necessários mais estudos direcionados nesse sentido²⁰.

A melhora da percepção do estado de saúde e da tolerância ao exercício físico não necessariamente estão correlacionados com o protocolo de reabilitação, pois mesmo com a mudança ou adaptação do protocolo, a dispnéia e o estado psicológico apresentam maior influência sobre o estado de saúde e aptidão física, o que explica os resultados não significativos dessas variáveis encontrados na pesquisa, ou seja, fica expresso que alguns mecanismos influenciam mais do que outros²¹.

Um ensaio clínico randomizado realizado por Cameron-Tucker²² com 84 pacientes com DPOC demonstrou melhora da distância percorrida avaliada pelo TC6 após programa de reabilitação de 6 semanas, o estudo foi dividido em grupo com supervisão de equipe de saúde e sem supervisão, demonstrando benefícios do exercício físico em ambos grupos, no presente estudo o exercício físico aeróbico foi realizado com supervisão mesmo assim não foi possível observar diferença significativa no TC6, no estudo de Cameron-Tucker *et al.*, não foi controlado o nível de evolução

da DPOC, podendo deste modo incluir pacientes com doença avançada que possuem maior benefício com a realização da reabilitação pulmonar.

Estudo realizado por Trevisan, Porto e Pinheiro²³ realizado com 10 voluntários com DPOC incluiu além do treinamento com exercício aeróbio o treinamento muscular respiratório e encontraram melhora do perfil funcional e da qualidade de vida, diferentemente do presente estudo, isso pode ser explicado pelo fato de que os músculos respiratórios perdem força e capacidade oxidativa com a evolução da DPOC.

O estudo apresenta como limitação do estudo a falta de mensuração dos valores espirométricos entre os períodos pré e pós-aplicação do protocolo, a falta de controle e padronização sobre o uso de drogas ao longo do estudo que podem influenciar na ventilação dos voluntários incluídos no estudo.

Conclusões

Pode-se concluir que o programa de reabilitação pulmonar com treinamento físico aeróbico utilizado no presente estudo foi capaz de reduzir a descontinuidade da matriz extracelular, fato que é correlacionado à redução do nível de estresse oxidativo dos pacientes com DPOC, por outro lado o protocolo utilizado não influenciou a percepção do estado de saúde e capacidade funcional.

Referências

1. Rossman MJ, Trinity JD, Garten RS, Ives SJ, Conklin JD, Barrett-O'Keefe, *et al.* Oral antioxidants improve leg blood flow during exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology.* 2015; 309(5): H977-85.
2. Remels AH, Gosker HR, Langen RC, Schols AM. The mechanisms of cachexia underlying muscle dysfunction in COPD. *Journal of Applied Physiology* (1985). 2013; 114(9): 1253-62.
3. Kim HC, Mofarrahi M, Hussain SN. Skeletal muscle dysfunction in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *International journal of chronic obstructive pulmonary disease.* 2008; 3(4): 637-658.
4. Langen R, Korn S, Wouters E. ROS in the local and systemic pathogenesis of COPD. *Free Radical Biology and Medicine.* 2003; 35(3): 226-235.
5. Ribeiro F, Thériault ME, Debigaré R, Maltais F. Should all patients with COPD be exercise trained. *Journal of applied physiology* (1985). 2013; 114(9): 1300-8.
6. Rocha R, Silva E, Conceição J, Rocha L, Carneiro S, Moreno MA. Effects of Physical Exercise on an Amazonian Population with Chronic Obstructive Pulmonary Disease in Autonomic Heart Rate Modulation. *Journal of Exercise Physiologyonline.* 2017; 20(3): 156-166.
7. Mohammed J, Derom E, Van Oosterwijck J, Da Silva H, Calders P. Evidence for aerobic exercise training on the autonomic function in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD): a systematic review. *Physiotherapy.* 2017; S0031-9406(17): 30061-5.
8. Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, Barnes PJ, Buist SA, Calverley P. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007; 176(6): 532-555.
9. Prado FP, Paludetto DRB, Bachur CAK, Freitas RAL, Zaia JE, Barros Neto TL, *et al.* Oxidative stress in blood plasma in persons who are submitted to cold water immersion after acute physical exercise. *Fisioterapia e Pesquisa.* 2012; 19(3): 215-221.
10. Dajczman E, Wardini R, Kasymjanova G, Préfontaine D, Baltzan MA, Wolkove N. Six minute walk distance is a predictor of survival in patients with chronic obstructive pulmonary disease undergoing pulmonary rehabilitation. *Canadian respiratory journal : journal of the Canadian Thoracic Society.* 2015; 22(4): 225-229.
11. Blanco-Aparicio M, Vázquez I, Pita-Fernández S, Pértiga-Díaz S, Vereja-Hernando H. Utility of brief questionnaires of health-related quality of life (Airways Questionnaire 20 and Clinical COPD Questionnaire) to predict exacerbations in patients with asthma and COPD. *Health and quality of life outcomes.* 2013; 11(85).
12. Kentson M, Tödt K, Skargren E, Jakobsson P, Ernerudh J, Unosson M, *et al.* Factors associated with experience of fatigue, and functional limitations due to fatigue in patients with stable COPD. *Ther Adv Respir Dis.* 2016; 10(5): 410-24.

13. Ijiri N, Kanazawa H, Yoshikawa T, Hirata K. Application of a new parameter in the 6-minute walk test for manifold analysis of exercise capacity in patients with COPD. *International journal of chronic obstructive pulmonary disease*. 2014; 9: 1235-40.
14. Moreno MA, Silva E, Gonçalves M. The effect of proprioceptive neuromuscular facilitation techniques - Kabat Method - on maximum respiratory pressure. *Fisioterapia em Movimento*. 2005; 18(2): 53-61.
15. Yao H, Rahman I. Current concepts on oxidative/carbonyl stress, inflammation and epigenetics in pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2011; 254(2): 72-85.
16. Konokhova Y, Spendiff S, Jagoe RT, Aare S, Kapchinsky S, MacMillan NJ. Failed upregulation of TFAM protein and mitochondrial DNA in oxidatively deficient fibers of chronic obstructive pulmonary disease locomotor muscle. *Skeletal Muscle*. 2016; 6(1): 1-16.
17. Petry ÉR, Alvarenga ML, Cruzat VF, Tirapegui J. Exercise and oxidative stress: mechanisms and effects. *Revista Brasileira Ciência e Movimento*. 2010; 18(4): 90-99.
18. Grosbois JM, Gicquello A, Langlois C, Le Rouzic O, Bart F, Wallaert B, *et al*. Long-term evaluation of home-based pulmonary rehabilitation in patients with COPD. *International journal of chronic obstructive pulmonary disease* 2015; 10: 2037-44.
19. França DC, Vieira DS, Vieira BS, Oliveira TG, Britto RR, Pereira VF. Lower-limb endurance training program influences thoracoabdominal motion of patients with COPD? *Fisioter. Mov.* 2013; 26(1): 141-150.
20. Dajczman E, Wardini R, Kasymjanova G, Préfontaine D, Baltzan MA, Wolkove N. Six minute walk distance is a predictor of survival in patients with chronic obstructive pulmonary disease undergoing pulmonary rehabilitation. *Canadian respiratory journal : journal of the Canadian Thoracic Society*. 2015; 22(4): 225-229.
21. Maury J, Gouzi F, Rigal P, Heraud N, Pincemail J, Molinari N, *et al*. Heterogeneity of Systemic Oxidative Stress Profiles in COPD: A Potential Role of Gender. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2015; 2015: 1-11.
22. Cameron-Tucker HL, Wood-Backer R, Owen C, Joseph L, Walters E. Chronic disease self-management and exercise in COPD as pulmonary rehabilitation: a randomized controlled trial. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2014; 9: 513-523.
23. Cruzat VF, Rogero MM, Borges MC, Tirapegui J. Current aspects about oxidative stress , physical exercise and supplementation. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 2007; 13: 304-310.