

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**ESTABILIDADE DE MEMBRANA DE ERITRÓCITOS EM PACIENTES
PORTADORES DE DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA EM
OXIGENIOTERAPIA DOMICILIAR PROLONGADA**

FLAVIANA FERREIRA GOMES

UBERLÂNDIA

2018

FLAVIANA FERREIRA GOMES

**ESTABILIDADE DE MEMBRANA DE ERITRÓCITOS EM PACIENTES
PORTADORES DE DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA EM
OXIGENIOTERAPIA DOMICILIAR PROLONGADA**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde, da Faculdade
de Medicina da Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito parcial para a
obtenção do título de Mestre em Ciências da
Saúde.**

Área de concentração: Ciências da Saúde

Orientador: Prof. Dr. Thulio Marquez Cunha

Co-orientador: Prof. Dr. Nilson Penha-Silva

UBERLÂNDIA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

G633e
2018 Gomes, Flaviana Ferreira, 1984
Estabilidade de membrana de eritrócitos em pacientes portadores de
doença pulmonar obstrutiva crônica em oxigenioterapia domiciliar
prolongada [recurso eletrônico] / Flaviana Ferreira Gomes. - 2018.

Orientador: Thulio Marquez Cunha.

Coorientador: Nilson Penha-Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.816>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Ciências médicas. 2. Doença pulmonar obstrutiva crônica. 3.
Eritrócitos. 4. Oxigenoterapia. I. Cunha, Thulio Marquez, (Orient.). II.
Penha-Silva, Nilson, (Coorient.). III. Universidade Federal de
Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. IV.
Título.

CDU: 61

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947

FOLHA DE APROVAÇÃO

Flaviana Ferreira Gomes

ESTABILIDADE DE MEMBRANA DE ERITRÓCITOS EM PACIENTES PORTADORES DE DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA EM OXIGENIOTERAPIA DOMICILIAR PROLONGADA

Presidente da banca (orientador): Prof. Dr. Thulio Marquez Cunha

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde.

Banca Examinadora

Titular: Prof. Dr. Carlos Fernando Ronchi

Instituição: Faculdade de Educação Física e Fisioterapia (FAEFI), Universidade Federal de Uberlândia

Titular: Prof. Dr. Rodrigo Abensur Athanazio

Instituição: Instituto do Coração (InCor) - HC – FMUSP, Universidade de São Paulo

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha mãe Geralda por sempre me apoiar em todos momentos da minha vida; ao meu esposo Dercio Ronieri pelo carinho e compreensão; e a minha filha Ana Cecília por me dar forças e ânimo para continuar a caminhada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus pelo dom da vida e por ter colocado no meu caminho pessoas especiais e por me dar força e saúde por lutar pelos meus sonhos...

À minha mãe Geralda por não medir esforços pela minha educação e por estar sempre presente ao meu lado, me apoiando em tudo, por ser minha maior incentivadora e inspiração.

Ao meu esposo Dercio Ronieri pelo carinho, atenção e compreensão, por ser tão companheiro.

À minha filha Ana Cecília por ter me dado a oportunidade de conhecer um amor verdadeiro e maior de todos e por ser a razão de continuar a lutar.

Ao Prof. Dr. Thulio Marquez Cunha pela orientação e oportunidade de desenvolver este trabalho e aprender um pouco de como ser pesquisadora.

Ao Prof. Dr. Nilson Penha-Silva, meu co-orientador, pelas valiosas contribuições nessa pesquisa e por sua serenidade.

Aos colegas do laboratório de Função Pulmonar e Fisiologia do Exercício, Natália Cristina Martins Nunes Mendes, Débora Lara Zuza Scheucher, Tatiane Martins Lima Crosara, Michelle Godoy Canazza Damian, Vinícius Pafume de Oliveira.

Aos colegas do Laboratório de Biofísicoquímica (LaBFiQ), Alice Vieira da Costa, Carla Cristina Alves Andrade, Jaqueline Aimê dos Reis Vilela, Lara Ferreira Paraiso, Lucas Tadeu de Andrade, Lucas Moreira Cunha, Luciana Alves de Medeiros, Marcelo Costa Júnior, Márcia Aires Rodrigues de Freitas, Marco Aurélio Ferreira de Jesus Leite, Maria Aparecida Knychala, Mario da Silva Garrote-Filho, Morun Bernardino Neto, Ricardo Rodrigues, Rodney Coelho da Paixão, Rosiane Soares Saturnino, Wener Barbosa Resende, Ubirajara Coutinho Filho, obrigada pelas discussões em diferentes áreas do conhecimento.

À amiga Natássia Caroline Resende Corrêa, amiga de longa data, que sempre me acompanha não só na vida profissional como também na vida pessoal, obrigada por todo incentivo, ajuda e por ser essa tremenda companheira, uma irmã que não tive, mas que o mundo e o coração escolheu para assim ser.

Aos voluntários, participantes da pesquisa, agradeço pela confiança e disponibilidade em colaborarem com o desenvolvimento científico.

Aos colegas da turma de mestrado, pelos momentos de aprendizado compartilhados.

Aos funcionários do serviço de atenção domiciliar (SAD), pela acolhida e ajuda no desenvolvimento da pesquisa, em especial a Erlylian Adriana Martins dos Santos e a Ana Elizabeth Cunha Guimarães de Almeida.

Aos funcionários do laboratório de Análises Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, pelo carinho e atenção com os voluntários, em especial a Angelita Alves Mendes, Camila Dias de Castro, Ed Carlos da Silva, Meirieleme Marina Araújo de Lima, Reginaldo José de Faria, Rosemeire Rodrigues Borges Barbosa.

À Universidade Federal de Uberlândia, pelo incentivo ao estudo e pesquisa.

A todos aqueles que de alguma forma tornaram realizável este percurso, permitindo a aquisição de um conjunto de vivências e conhecimento relevantes. Manifesto aqui o meu sincero agradecimento.

“Minha energia é o desafio, minha motivação é o impossível, e é por isso que eu preciso ser, à força e a esmo, inabalável”.

Augusto Branco

RESUMO

Introdução: A Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) é uma doença debilitante, que apresenta inflamação sistêmica e é causada por agentes irritantes como a fumaça de cigarro. Os pacientes com essa doença apresentam uma redução do fluxo aéreo, que não é completamente reversível, e tem um declínio progressivo em sua qualidade de vida ao longo da progressão da doença. A DPOC tem sido associada a um aumento no estresse oxidativo do corpo, o que pode alterar a estabilidade da membrana dos eritrócitos. **Objetivos:** O objetivo desse estudo foi investigar a existência de associações entre a estabilidade da membrana de eritrócitos e variáveis respiratórias, bioquímicas e hematológicas em pacientes com DPOC em Oxigenoterapia Domiciliar Prolongada (ODP), comparado a voluntários saudáveis. **Material e métodos:** O estudo consistiu em uma população de 145 homens, 74 do grupo controle e 71 com DPOC em ODP. Testes hematológicos e bioquímicos foram feitos e a avaliação da estabilidade osmótica de eritrócitos foi realizada. Adicionalmente, o teste de caminhada de 6 minutos foi realizado e a função pulmonar foi testada por espirometria. **Resultados:** Os voluntários com DPOC apresentaram maior estabilidade de eritrócitos, tanto em condições isotônicas quanto hipotônicas, em relação ao sangue, com menores níveis de hemoglobina e menores valores de concentração de hemoglobina corpuscular média, assim como maiores níveis de volume corpuscular médio e variação no tamanho de eritrócitos. O status de ferro e os níveis de bilirrubina total e indireta, albumina, triglicérides, colesterol total (C), VLDL-C e LDL-C foram menores no grupo com DPOC, sugerindo uma tendência à má-nutrição. A estabilidade osmótica de eritrócitos foi inversamente correlacionada com indicadores de função pulmonar, índice de massa corporal e capacidade física nesse grupo. **Conclusões:** Indivíduos com DPOC em ODP mostraram eritrócitos osmoticamente mais estáveis e heterogêneos, mas o aumento na estabilidade osmótica foi associada a uma piora na função pulmonar, índice de massa corporal e capacidade física.

Palavras-chave: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC); Oxigenioterapia Domiciliar Prolongada (ODP); Estabilidade Osmótica; Eritrócito.

ABSTRACT

Introduction: Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) is a debilitating and systemic inflammatory disease caused by irritants such as cigarette smoke. Patients present airflow reduction, which is not completely reversible and have progressive decreasing on life quality during disease progression. COPD has been associated with an increase on body's oxidative stress which can modify erythrocyte's membrane stability. **Objective:** The aim of this work is to investigate the existence of associations between erythrocyte membrane stability and respiratory, biochemical and hematological variables in patients with COPD in Long-Term Oxygen Therapy (LTOT) compared to healthy volunteers. **Material and methods:** The study population consisted of 145 men, 74 of the control group and 71 with COPD in LTOT. Biochemical and hematologic tests and evaluation of the erythrocytes osmotic stability were performed. Additionally, the six-minute walk test was applied and the pulmonary function was tested by spirometry. **Results:** The volunteers with COPD presented erythrocytes with greater stability both in isotonic and hypotonic conditions in relation to blood, concomitantly with lower hemoglobin levels and lower values of mean corpuscular hemoglobin concentration, as well as higher values of mean corpuscular volume and red-cell distribution width. Iron status and blood levels of total and indirect bilirubin, albumin, triglycerides, total cholesterol (C), VLDL-C and LDL-C were lower in the COPD group, suggesting a tendency to malnutrition. The erythrocytes osmotic stability was inversely correlated with the indicators of lung function, body mass index and physical capacity in this group. **Conclusions:** Individuals with COPD in LTOT showed osmotically more stable and heterogeneous erythrocytes, but this increased erythrocytes stability was associated with worsening of lung function, body mass index and physical capacity.

Key-words: Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD); Long-Term Oxygen Therapy (LTOT); Osmotic Stability; Red Blood Cell (RBC).

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Associação dos sintomas, classificação espirométrica e futuros riscos de exacerbações.....	20
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação espirométrica GOLD	18
Tabela 2: Questionário mMRC	19

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1/H₅₀: inverso da concentração de NaCl capaz de promover 50% de hemólise

Ác. Fólico: ácido fólico

Ác. Úrico: ácido úrico

Alb: albumina

A_{max}: Absorbância máxima

A_{min}: Absorbância mínima ou prévia

B₁₂: vitamina B12

BD: bilirrubina direta

BI: bilirrubina indireta

BT: bilirrubina total

CAT: COPD assessment test

CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média

CTF: capacidade total de ligação do ferro

CVF_{pos}: capacidade vital forçada pós-broncodilatador

CVF_{pre}: capacidade vital forçada pré-broncodilatador

CVL_{pos}: capacidade vital lenta pós-broncodilatador

CVL_{pre}: capacidade vital lenta pré-broncodilatador

DPA: Doença Pulmonar Avançada

DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

dX: variação da concentração de sal responsável pela transição de hemólise

Fe: ferro sérico

FOE: Fragilidade osmótica eritrocitária

Gli: glicose

GOLD: Global Initiative for Chronic Obstrutive Lung Disease

GSH: glutationa reduzida

H₅₀: concentração de NaCl capaz de promover 50% de hemólise

Hb: hemoglobina

HbA1c: hemoglobina glicada

HCM: hemoglobina corpuscular média

Hcy: homocisteína

HDL-c: lipoproteína de alta densidade

Ht: hematócrito

IMC: índice de massa corporal

IST: índice de saturação de transferrina

LDH: lactato desidrogenase

LDL-c: lipoproteína de baixa densidade

MDA: malondialdeído

mMRC: Modified British Medical Research Council

MPV: volume plaquetário médio

NaCl: Cloreto de sódio

ODP: Oxigenioterapia Domiciliar Prolongada

pCO₂: pressão parcial de dióxido de carbono

PCR: proteína C-reativa

Plt: plaquetas

pO₂: pressão parcial de oxigênio

RBC: contagem de células vermelhas do sangue

RDW: Red Cell Distribution Width (variação no tamanho dos eritrócitos)

Retic: reticulócitos

ROS: espécies reativas de oxigênio

SaO₂: saturação de oxigênio

SOD: atividade superóxido dismutase

t-C: colesterol total

TGC: triglicérides

VCM: volume corpuscular médio

VEF_{1pos}/CVL_{pos}: razão entre volume expiratório forçado no primeiro segundo e capacidade vital lenta pós-broncodilatador

VEF_{1pos}: volume expiratório forçado no primeiro segundo pós-broncodilatador

VEF_{1pre}/CVL_{pre}: razão entre volume expiratório forçado no primeiro segundo e capacidade vital lenta pré-broncodilatador

VEF_{1pre}: volume expiratório forçado no primeiro segundo pré-broncodilatador

VEF_{1pos}/CVF_{pos}: razão entre o volume expiratório forçado no primeiro segundo e a capacidade vital forçada pós-broncodilatador

VEF_{1pre}/CVF_{pre}: razão entre o volume expiratório forçado no primeiro segundo e a capacidade vital forçada pré-broncodilatador

VLDL-c: lipoproteína de muita baixa densidade

VR: volume residual

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	16
2.1 DOENÇA PULMONAR AVANÇADA (DPA).....	16
2.2 DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA (DPOC).....	16
2.2.1 <i>Manifestações Sistêmicas e Comorbidades</i>	21
2.2.2 <i>Diagnóstico da DPOC</i>	21
2.2.3 <i>Tratamento da DPOC</i>	22
2.2.4 <i>Mecanismos Responsáveis pelas Alterações na DPOC</i>	23
2.3 MEMBRANAS BIOLÓGICAS.....	26
2.3.1 <i>Estrutura e Composição das Membranas Biológicas</i>	27
2.3.2 <i>Fluidez, Funcionalidade, Deformabilidade e Estabilidade das Membranas</i>	27
2.3.3 <i>Eritrócito como Modelo de Estudo</i>	28
3 OBJETIVOS	33
3.1 OBJETIVO GERAL	33
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
4 ARTIGO	34
REFERÊNCIAS.....	58
APÊNDICE 1 – MODELO DE TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	75
ANEXO 1 – QUESTIONÁRIO MODIFICADO DO <i>BRITISH MEDICAL RESEARCH COUNCIL</i> (mMRC) PARA AVALIAR A GRAVIDADE DA DISPNEIA	77
ANEXO 2 – COPD ASSESSMENT TEST (CAT).....	78
ANEXO 3 – QUESTIONÁRIO DO HOSPITAL SAINT GEORGE SOBRE PROBLEMAS RESPIRATÓRIOS (SGRQ).....	79

1 INTRODUÇÃO

A DPOC é uma das principais causas de doença e de morte em todo o mundo, representando um custo econômico e social significativo. No núcleo familiar, provoca preocupação, limita a vida social e o lazer; compromete o orçamento e abrevia a vida. No campo profissional, reduz a produtividade, antecipa a aposentadoria, e é causa de pagamentos de pensões e de benefícios. No Sistema Único de Saúde, motiva atendimentos frequentes em prontos-socorros e ambulatórios, sendo causa frequente de hospitalizações, o que provoca despesas elevadas para governo e sociedade (Campos, 2004).

Pelo fato da DPOC frequentemente se desenvolver em tabagistas de meia idade com longo tempo de exposição, esses pacientes muitas vezes têm uma variedade de outras doenças relacionadas ao tabagismo ou envelhecimento. A DPOC em si também tem efeitos extrapulmonares (sistêmicos) importantes que levam a condições de comorbidades. Anormalidades nutricionais, perda de peso e disfunção do músculo esquelético são efeitos extrapulmonares bem reconhecidos da DPOC e os pacientes tem alto risco para infarto do miocárdio, osteoporose, infecção respiratória, fraturas ósseas, depressão, distúrbio do sono, anemia e glaucoma (Gold, 2018).

Assim, esse trabalho se propôs a investigar a estabilidade de membranas de eritrócitos e os perfis hematológico, bioquímico, hormonal e funcional em pacientes com DPOC em ODP, em comparação com indivíduos saudáveis. Isto se justifica, uma vez que a ocorrência de danos aos eritrócitos, em decorrência do estresse oxidativo observado em pacientes com DPOC, sobretudo aqueles com DPA, e de outras alterações presentes na doença, deve afetar as trocas gasosas e elevar a gravidade da doença. Além disso, esse trabalho contém análises inéditas, uma vez que não há na literatura atual estudos que verificaram a associação entre a estabilidade de membrana de eritrócitos e a DPOC em ODP.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 DOENÇA PULMONAR AVANÇADA (DPA)

A doença pulmonar avançada (DPA) é caracterizada pelo desenvolvimento de diversas anormalidades estruturais e funcionais pulmonares e sistêmicas com baixo potencial de reversibilidade, a despeito do tratamento instituído. DPA é definida como toda pneumopatia crônica não neoplásica na sua fase final. A maioria dos portadores de DPA é constituída por indivíduos idosos que apresentam função pulmonar e trocas gasosas bastante comprometidas. Estas condições determinam cronicamente limitação nas atividades de vida diária, impacto negativo no estado mental e social, frequentes exacerbações da doença e inúmeras internações, reconhecidos fatores de risco para maior morbi-mortalidade (Menezes *et al.*, 2005; Gold, 2017).

Clinicamente, pacientes com DPA podem apresentar um ou mais dos seguintes sintomas e sinais: dispneia, tosse, intolerância aos esforços, hipoxemia e/ou hipercapnia, desnutrição e/ou caquexia, ansiedade e/ou depressão (Sbpt, 2004).

As doenças pulmonares mais prevalentes que, em sua fase final, se enquadram na definição de DPA, são classificadas em obstrutivas, restritivas, vasculares e síndromes de hipoventilação. As insuficiências respiratórias crônicas obstrutivas compreendem doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), bronquiectasia e outras bronquiolites. Já as restritivas abrangem pacientes com doenças intersticiais e doenças neuromusculares. E nas doenças vasculares pulmonares se encaixam pacientes com hipertensão pulmonar primária e secundária, e tromboembolismo pulmonar crônico (Selecky *et al.*, 2005; Machado, 2006). Destas, a mais importante é a DPOC, uma vez que há altas taxas de morbi-mortalidade (Jardim *et al.*, 2004).

2.2 DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA (DPOC)

A DPOC é uma doença respiratória que pode ser prevenida e, após diagnóstico, se torna tratável, sendo caracterizada por sintomas respiratórios persistentes e limitação do fluxo aéreo devido a anormalidades das vias aéreas e/ou alveolares, geralmente causadas por exposição significativa a partículas ou gases nocivos (Gold, 2018). A obstrução do fluxo aéreo geralmente é progressiva e está relacionada a uma resposta inflamatória anormal dos pulmões à inalação de partículas e/ou gases tóxicos, sobretudo à fumaça de cigarro (Gold, 2017). Embora na DPOC haja comprometimento dos pulmões, ela também produz consequências sistêmicas

significativas (exarcebações e comorbidades) que contribuem para a gravidade da doença (Gold, 2017).

A *American Thoracic Society* (ATS) define DPOC como “uma doença caracterizada pela presença de limitação do fluxo aéreo devido à bronquite crônica ou enfisema. A obstrução ao fluxo aéreo é geralmente progressiva, podendo ser acompanhada pela hiperatividade das vias aéreas, e ser parcialmente reversível” (Ats, 1995). A *European Respiratory Society* (ERS) a define como “redução máxima de fluxo expiratório forçado e lento esvaziamento dos pulmões, a qual é lentamente progressiva e geralmente irreversível aos recursos médicos atualmente disponíveis” (Siafakas *et al.*, 1995).

O termo DPOC é entendido como uma síndrome clínica englobando diferentes doenças, variando de bronquite obstrutiva crônica, onde há obstrução de pequenas vias aéreas, ao enfisema, o qual é caracterizado pelo alargamento dos espaços aéreos e a destruição do parênquima pulmonar, perda da elasticidade pulmonar, e o fechamento das pequenas vias aéreas (Barnes, 2000; Wouters, 2005).

Os pacientes portadores de DPOC apresentam alteração da função pulmonar, dispneia e disfunção dos músculos esqueléticos periféricos. Esses fatores levam à intolerância ao exercício e à piora progressiva do condicionamento físico, chegando a limitar as atividades da vida diária. Isto pode provocar isolamento social, ansiedade, depressão e dependência. Além disso, esses pacientes normalmente apresentam alterações no peso e na composição corporal, fatores que também podem colaborar para a sua limitação física. A incapacidade física, perda de produtividade e piora da qualidade de vida agravam-se substancialmente com a progressão da DPOC (Zanchet *et al.*, 2005).

A DPOC é o resultado da interação entre fatores genéticos e diferentes estímulos ambientais, os quais incluem o tabagismo e a queima de biomassa. As exposições a poluentes ambientais e profissionais, fatores genéticos, hiper-responsividade das vias aéreas, determinados eventos perinatais e doenças da infância, infecções broncopulmonares recorrentes e fatores dietéticos também são fatores de risco para a DPOC (Fletcher e Peto, 1977; Gold *et al.*, 1996; Cheng *et al.*, 2004).

Como principal fator genético tem-se a deficiência de alfa 1 antitripsina, que é o principal inibidor circulante das proteases (Pauwels *et al.*, 2001), produzida principalmente pelos hepatócitos. A principal função desta é inibir a elastase leucocitária, enzima que, se não for inativada, destrói as proteínas do tecido conjuntivo pulmonar, causando lesão nos alvéolos (Borges-Osório e Robinson, 2013). Quanto aos fatores ambientais, temos a exposição à

poluição atmosférica (tipo, quantidade e tempo de exposição ao poluente), alergias, clima frio, exposição ocupacional ao cádmio e à sílica e tabagismo, entre outros (Wouters, 2005).

A limitação do fluxo aéreo é caracterizada pela redução do fluxo expiratório, detectada por espirometria, com redução não totalmente reversível do Volume Expiratório Forçado no Primeiro Segundo (VEF_1) e da relação VEF_1 / Capacidade Vital Forçada (CVF) (Pessoa e Pessoa, 2009).

No sentido de facilitar e estabelecer critérios diagnósticos, padronizar recursos terapêuticos e estabelecer marcadores prognósticos, recomenda-se uma classificação simples da severidade da doença em quatro estágios. Este estadiamento depende: do grau da limitação do fluxo de ar conforme medido pela espirometria; das trocas gasosas, sendo a hipercapnia (aumento de pressão de dióxido de carbono sanguíneo) indicativo de redução da sobrevida; da falência respiratória (pressão arterial de oxigênio menor de 60 mmHg com ou sem pressão de gás carbônico maior do que 50 mmHg, respirando ao nível do mar); e das limitações sintomáticas, onde o achado clínico de maior relevância é a dispneia (Tabela 1) (Gold, 2018).

Tabela 1: Classificação espirométrica GOLD

Em pacientes com $VEF_1/CVF < 0,70$		
Classificação segundo GOLD	Estádio da DPOC	Valores de VEF_1
GOLD 1	Leve	$VEF_1 \geq 80\%$
GOLD 2	Moderado	$50\% \leq VEF_1 < 80\%$
GOLD 3	Grave	$30\% \leq VEF_1 < 50\%$
GOLD 4	Muito Grave	$VEF_1 < 30\%$

Fonte: GOLD, 2018 (Gold, 2018).

Atualmente, a classificação dos pacientes quanto à gravidade leva em consideração: sintomas; espirometria (avaliação da função pulmonar), e riscos de exacerbação. Existem vários questionários validados para avaliar os sintomas desses pacientes. O sintoma marcante, que leva o paciente a procurar atendimento médico e causa limitação e ansiedade no paciente é a dispneia. Pacientes com doenças pulmonares descrevem dispneia como um esforço grande para respirar, sensação de peso, fome de ar ou estar ofegante. Os questionários que atualmente são recomendados pelo GOLD para quantificar o impacto da dispneia são: o mMRC – Anexo 1 (*Modified British Medical Research Council dyspnea scale*), o questionário CAT – Anexo 2

(*COPD Assessment Test*) e o *St George Respiratory Questionnaire* – Anexo 3 (SGRQ). O mMRC funciona bem com outras medidas de nível de saúde e prevê risco de mortalidade futura (Gold, 2018).

Tabela 2: Questionário mMRC

mMRC grau 0	Eu só fico sem folego com exercícios intensos	
mMRC grau 1	Eu fico com falta de ar quando ando depressa ou subo uma ladeira levemente inclinada	
mMRC grau 2	Eu ando mais devagar em terreno plano que as pessoas de mesma idade por causa da falta de ar, ou eu preciso parar para respirar quando ando normalmente	
mMRC grau 3	Eu paro para respirar após andar em terreno plano uns 100 metros ou após alguns minutos	
mMRC grau 4	Eu sinto muita falta de ar para sair de casa ou sinto falta de ar ao me vestir e despir	

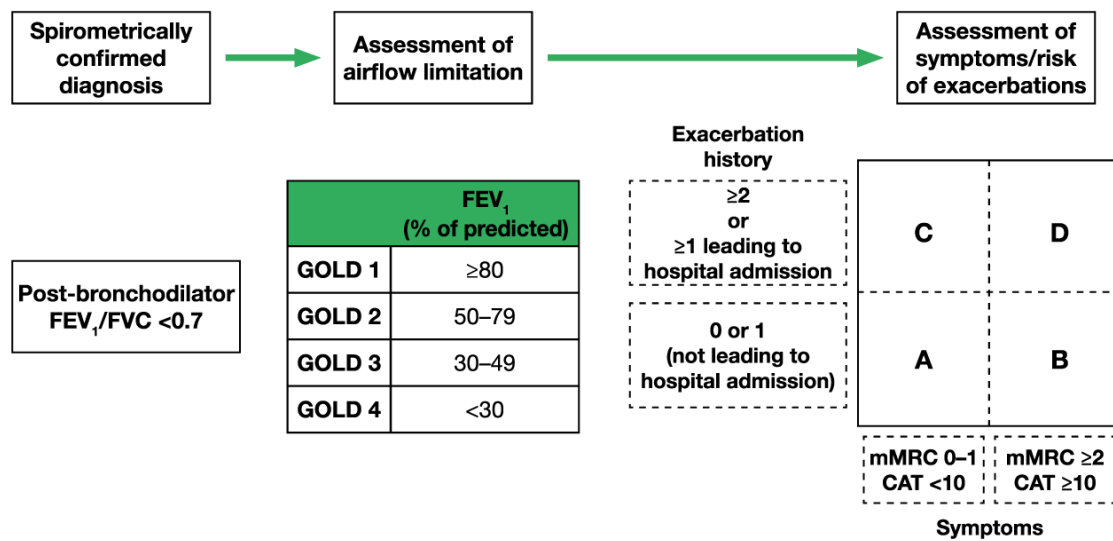
Fonte: GOLD, 2018 (Gold, 2018).

O CAT é composto de oito perguntas que avaliam tosse, catarro, aperto no peito, falta de ar, limitações nas atividades domiciliares, confiança em sair de casa, sono e energia. Para cada item, o paciente escolhe apenas uma opção de resposta, cuja pontuação varia de zero a cinco. Ao final do teste, soma-se a pontuação de todas as respostas e, assim, avalia-se o impacto clínico da doença pulmonar conforme a pontuação de estratificação do estudo de desenvolvimento e validação do CAT. Os resultados variam de acordo com a faixa dos escores obtidos, classificados da seguinte forma em relação ao impacto clínico: 6-10 pontos, leve; 11-20, moderado; 21-30, grave; e 31-40, muito grave (Gold, 2018).

No questionário SGRQ, um instrumento para avaliar a qualidade de vida, cada domínio tem uma pontuação máxima possível; os pontos de cada resposta são somados e o total é referido como um percentual deste máximo. Valores acima de 10% refletem uma qualidade de vida alterada naquele domínio. Alterações iguais ou maiores que 4% após uma intervenção, em qualquer domínio ou na soma total dos pontos, indica uma mudança significativa na qualidade de vida dos pacientes (Souza *et al.*, 2000).

A relação dos sintomas, valores espirométricos, comorbidades e riscos de exacerbação permitem uma avaliação e traçar o tratamento ideal para o paciente (Gold, 2018).

Figura 1: Associação dos sintomas, classificação espirométrica e futuros riscos de exacerbações



FEV₁=forced expiratory volume in the first second; FVC=forced vital capacity; mMRC=modified Medical Research Council; CAT=COPD assessment test.

Fonte: GOLD, 2018 (Gold, 2018).

Para avaliar o risco de exacerbações deve-se determinar se o paciente está inserido na parte inferior da caixa (baixo risco) ou da parte superior da caixa (alto risco):

- Pacientes do grupo A: baixo risco, menos sintomas. Pacientes com classificação em leve ou moderado no estadio da DPOC, nenhuma ou 1 exacerbação no ano e mMRC grau 0 ou 1 ou pontuação no CAT < 10.
- Pacientes do grupo B: baixo risco, mais sintomas. Pacientes com classificação em leve ou moderado no estadio da DPOC, nenhuma ou 1 exacerbação no ano e mMRC grau ≥ 2 ou pontuação no CAT ≥ 10.
- Pacientes do grupo C: alto risco, menos sintomas. Pacientes com classificação em grave ou muito grave no estadio da DPOC, ≥ 2 exacerbação no ano e mMRC grau 0-1 ou pontuação no CAT < 10.
- Pacientes do grupo D: alto risco, mais sintomas. Pacientes com classificação em grave ou muito grave no estadio da DPOC, e ≥ 2 exacerbação no ano e mMRC grau ≥ 2 ou pontuação no CAT ≥ 10.

Esta abordagem, combinada com uma avaliação de possíveis comorbidades, reflete a complexidade da doença pulmonar melhor do que a análise unidimensional de limitação que o

fluxo aéreo, usado anteriormente para o estadiamento da doença, e constitui a base para tratamento (Gold, 2018).

2.2.1 Manifestações Sistêmicas e Comorbidades

As manifestações sistêmicas e comorbidades associadas à DPOC relacionam-se com a gravidade da doença e podem incluir fraqueza muscular periférica, osteoporose, falência cardíaca, depressão e câncer (Sin e Man, 2003). Também podem aparecer alterações hematológicas, como anemia e policitemia, se manifestando principalmente na presença de hipoxemia (Similowski *et al.*, 2006), efeitos endócrinos, como osteoporose e caquexia, e disfunção muscular.

Perda de peso e de massa muscular, assim como depleção de tecidos orgânicos, são frequentemente encontrados em doentes com DPOC. Essas alterações indicam pior prognóstico devido ao comprometimento da função muscular periférica e diminuição da capacidade de exercício, juntamente com a dispneia provocada pela obstrução parcial das vias aéreas (Poulain *et al.*, 2003). Eles também possuem uma diminuição da sua atividade física global, com consequente piora progressiva da função pulmonar. O progressivo quadro clínico associa-se a inaptidão física e a inatividade, levando a piora da dispneia a esforços físicos cada vez maiores, com grave comprometimento da qualidade de vida (Rodrigues *et al.*, 2002).

Esses pacientes desenvolvem alterações no perfil de aminoácidos no plasma e nos músculos esqueléticos (Jagoe e Engelen, 2003). Concentrações séricas mais baixas de glutamato, glutamina e alanina foram achadas em pacientes enfisematosos com depleção nutricional (Schols *et al.*, 1993). Além disso, os aminoácidos de cadeia ramificada apresentam-se em baixas concentrações plasmáticas nos pacientes com DPOC (Yoneda *et al.*, 2001).

2.2.2 Diagnóstico da DPOC

O diagnóstico da DPOC é realizado com a presença de um quadro clínico compatível caracterizado por dispneia progressiva aos esforços, tosse e expectoração, associado à exposição aos fatores de risco, sendo o principal deles o tabagismo. Faz-se então a espirometria, onde a demonstração da limitação do fluxo aéreo é dada pela relação $VEF_1/CVF < 0,70$ pós-broncodilatador (pós-BD) confirmando assim o diagnóstico (Neder e Nery, 2002). A espirometria é a medida acessível mais bem padronizada, a mais reprodutível e a mais objetiva

para limitação do fluxo aéreo. Os exames são avaliados comparando-se os valores obtidos com valores de referência com base na idade, altura, peso e gênero (Gold, 2018).

A avaliação diagnóstica complementar pode ser realizada com radiografia simples de tórax em projeção pósterio-anterior e perfil, hemograma, oximetria em repouso, eletrocardiografia em repouso, ecocardiografia, e dosagem de alfa-1 antitripsina. Na avaliação complementar diagnóstica inicial, aconselha-se também identificar comorbidades, verificar o estado nutricional, avaliar sintomas psiquiátricos (especialmente depressão) e demonstrar o perfil de risco cardiovascular, frequentemente elevado nesses pacientes (Jardim *et al.*, 2004).

2.2.3 Tratamento da DPOC

No tratamento deve-se verificar a gravidade da doença, avaliando-se o nível de comprometimento da função pulmonar, a intensidade dos sintomas e da incapacidade, a frequência das exacerbações e a presença de complicações como insuficiência ventilatória hipercápnica e *cor pulmonale* (Jardim *et al.*, 2004).

O tratamento da DPOC estável consiste na cessação do tabagismo, reabilitação pulmonar, vacinação antigripal e anti-pneumocócica, uso de drogas broncodilatadoras inalatórias, corticóides inalatórios, inibidores da fosfodiesterase-4 e oxigenoterapia domiciliar prolongada (ODP) (Gold, 2018).

A terapia farmacológica é usada para prevenir e controlar os sintomas, diminuir a frequência e gravidade das exacerbações e melhorar a tolerância ao exercício. Nenhuma das atuais medicações para DPOC tem demonstrado mudança no longo declínio da função pulmonar que é o controle da doença (Gold, 2018). Os medicamentos mais utilizados no tratamento da doença são: broncodilatadores, os quais são os medicamentos mais importantes na terapêutica da DPOC, podendo ser usados tanto na doença estável quanto na exacerbada; corticoides sistêmicos, que são recomendados nas exacerbações da DPOC; e corticoides inalados na doença estável, em algumas situações específicas (Oliveira, 2001).

A ODP é considerada um tratamento não farmacológico fundamental para os pacientes com DPOC. A manutenção de nível mínimo e estável de oxigênio no sangue é de suma importância para a homeostase orgânica. A suplementação de oxigênio melhora a sobrevivência de pacientes com hipoxemia crônica e sua prescrição é preconizada nos consensos sobre o tema. Os principais benefícios do oxigênio para o organismo são a redução do trabalho ventilatório e a melhora das funções cardiovascular e muscular (Campos, 2006).

Outro fator importante do oxigênio suplementado é a redução do estresse miocárdico e arritmias cardíacas além da manutenção de níveis normais do hematócrito, evitando a policitemia secundária devida à hipoxemia (Sbpt, 2000; Viegas Caa *et al.*, 2000).

A normalização da PaO₂ tem sido a base de ensaios, com o objetivo de prolongar a sobrevida dos pacientes com DPOC e hipoxemia grave em repouso. Se não for tratada, a hipóxia pode progredir à hipóxia tecidual, o que tem efeitos adversos sobre a função de órgão vital (Sbpt, 2000). Hipoxemia pode induzir vasodilatação dos leitos vasculares periféricos, causando um aumento da frequência cardíaca e débito cardíaco para resultar na melhoria da oferta de oxigênio. Altos níveis de eritropoietina, em decorrência da hipoxemia persistente, induzem eritrocitose secundária, numa tentativa de aumentar a capacidade de oxigênio, o que também pode provocar o aumento da viscosidade do sangue. Todos estes mecanismos podem levar ao deterioramento das funções cardíacas e conduzir a hipertensão pulmonar, disfunção do ventrículo direito, e policitemia secundária grave, levando a aumento significativo da mortalidade (O'donnell *et al.*, 2001).

Estudos clássicos constataram que o uso da ODP por mais de 15 h/dia em pacientes com doenças respiratórias crônicas aumenta a sobrevida de pacientes com hipoxemia grave (Nott, 1980; Mrc, 1981). Seu uso está indicado em pacientes que, conforme (Gold, 2018), apresentam:

- PaO₂ ≤ 55 mmHg ou SatO₂ ≤ 88%, com ou sem hipercapnia confirmada 2 vezes ao longo de um período de 3 semanas, ou
- PaO₂ = 55 a 60 mmHg ou SaO₂ = 89%, com evidências de hipertensão pulmonar, ou policitemia (hematócrito > 55%)

Conforme a literatura mundial, a oxigenoterapia domiciliar contribui para redução da mortalidade, melhoria do estado funcional, ameniza a dispneia devastadora e melhora bastante a qualidade de vida dos pacientes (Tanni Es *et al.*, 2007).

A suplementação de oxigênio não só foi mostrada para controle da ventilação, mas também na regulação do fluxo sanguíneo pulmonar e modulação da expressão de genes e na atividade celular e interação em todo o corpo (Stevenson *et al.*, 2005). Estes efeitos sugerem que os benefícios da oxigenoterapia em longo prazo podem exceder os efeitos metabólicos e ter um impacto sobre o reforço da remodelação ou reparação do pulmão (Jardim *et al.*, 2004; Tanni Es *et al.*, 2007).

2.2.4 Mecanismos Responsáveis pelas Alterações na DPOC

Cavalcante e Bruin (2009) (Cavalcante e Bruinn, 2009) apontam quatro mecanismos responsáveis pelas alterações observadas na DPOC: o estresse oxidativo (EO), a inflamação, o desequilíbrio do sistema protease-antiprotease e a apoptose.

2.2.4.1 Estresse Oxidativo

O estresse oxidativo ocorre quando, através de mecanismos de defesa antioxidantes, espécies reativas de oxigênio (ROS) são produzidas e causam efeitos prejudiciais, como lesão de lipídeos de membrana, proteínas e DNA (Macnee, 2001).

Há uma relação direta do estresse oxidativo com os mecanismos responsáveis pela manutenção do quadro clínico bem como pela exacerbação da DPOC em ODP. Uma melhor compreensão da participação de biomarcadores oxidativos na doença deve permitir o desenvolvimento de novas estratégias de monitoração e tratamento da doença (Barnes *et al.*, 2003).

Biomarcadores do estresse oxidativo estão elevados no ar exalado e condensado, no muco e na circulação sistêmica dos pacientes com DPOC. O estresse oxidativo aumenta ainda mais nas exacerbações. Os oxidantes são gerados por fumaça de cigarro e outros particulados inalados, e liberados de células inflamatórias ativadas como macrófagos e neutrófilos. Também pode acontecer uma redução nos antioxidantes endógenos em pacientes com DPOC. O estresse oxidativo tem várias consequências adversas nos pulmões, incluindo ativação de genes inflamatórios, inativação de antiproteases, hipersecreção mucosa e estimulação do aumento da exsudação plasmática. É também responsável por uma redução da atividade das histona-deacetilases nos tecidos pulmonares dos pacientes com DPOC, o que pode levar a uma expressão elevada de genes inflamatórios como também à redução na ação anti-inflamatória dos corticoides (Gold, 2018).

Os principais sítios e processos celulares geradores de oxidantes são a mitocôndria, os microsomas e os sistemas enzimáticos xantina/xantina oxidase e, em maior escala, NADPH oxidase (Finkel e Holbrook, 2000; Park *et al.*, 2009). No trato respiratório, as principais fontes endógenas de oxidantes são os macrófagos alveolares, as células epiteliais, as células endoteliais e as células inflamatórias recrutadas, tais como neutrófilos, eosinófilos, monócitos e linfócitos (Rajendrasozhan *et al.*, 2008). Já os oxidantes exógenos são provenientes de poluentes atmosféricos, tais como ozônio, dióxido de nitrogênio, dióxido de enxofre e, em especial, a fumaça do cigarro (Rajendrasozhan *et al.*, 2008).

Os principais componentes do sistema antioxidante enzimático são a SOD (enzima superóxido dismutase), a catalase e a glutathiona-peroxidase (GPx), as quais agem no início da cadeia de formação das espécies reativas, evitando o acúmulo dos radicais $O_2^{\cdot-}$ e H_2O_2 . Os antioxidantes não-enzimáticos incluem compostos produzidos *in vivo*, tais como a glutathiona reduzida (GSH), a ubiquinona, o ácido úrico e as proteínas de transporte de metais de transição (transferrina e ceruloplasmina), e compostos obtidos diretamente da dieta, tais como o betacaroteno e as vitaminas C e E (Macnee, 2000; Vasconcelos *et al.*, 2007). Já os principais antioxidantes do fluido do trato respiratório incluem a mucina, a GSH, o ácido úrico, proteínas (especialmente albumina) e o ácido ascórbico (Macnee, 2000).

O estresse oxidativo pode ser medido pela quantificação direta da produção de oxidantes ou, indiretamente, pela quantificação de produtos decorrentes da peroxidação de lipídeos (lipoperoxidação) de membrana (Owen, 2005), resultante do desequilíbrio entre agentes pró- e antioxidantes (Lima e Abdalla, 2001; Kruidenier *et al.*, 2003), tais como 8-isoprostano (8-iso), 4-hidroxinonal (4-HNE) e malondialdeído (MDA), no espaço alveolar, no ar exalado, no escarro ou no sangue (Owen, 2005).

A peroxidação de fosfolipídeos de membrana se caracteriza pela incorporação de oxigênio molecular a um ácido graxo polinsaturado, o que leva à degradação oxidativa, com produção de hidrocarbonetos e aldeídos de baixa massa molar, como o malondialdeído (MDA). Essa alteração afeta propriedades típicas da membrana, como a permeabilidade, resultando em perda da seletividade da troca iônica e liberação de enzimas lisossomais hidrolíticas, além da formação de produtos citotóxicos que incluem o malondialdeído (MDA), o 4-hidroxinonal (4-HNE) e os isoprostanos (Lima e Abdalla, 2001). Decorrente a isso, pode haver degeneração estrutural de proteínas ou ativação de fatores proteicos que seriam responsáveis pelo desenvolvimento de processos neoplásicos (Barnes, 2009).

2.2.4.2 Inflamação

Em resposta ao estresse oxidativo, o processo inflamatório está aumentado por causa dos pequenos episódios de oxidação provocados pelos marcadores inflamatórios, como as citocinas (IL-1, IL-6, IL-3 e TN- α), angiotensina II e os fatores de crescimento, sendo que em condições normais, as mesmas são apontadas como sinalizadores da resposta inflamatória (Barnes *et al.*, 2003; Barnes, 2009).

A maioria das inflamações nos pacientes DPOCíticos acontecem nas vias aéreas periféricas (bronquíolos) e no parênquima do pulmão. Os bronquíolos são obstruídos pela fibrose e pela infiltração de macrófagos e linfócitos T (Barnes, 2000).

O papel crucial do processo inflamatório na patogênese da doença é indicado pela associação de uma resposta inflamatória anormal dos pulmões a partículas nocivas ou gases, com a limitação das vias aéreas na DPOC (Wouters, 2005). No decorrer do processo inflamatório da DPOC, os neutrófilos e macrófagos liberam múltiplas proteinases, as quais destroem o tecido do parênquima pulmonar, resultando no enfisema e estimulando a secreção de muco (Barnes, 2000).

2.2.4.3 Desequilíbrio do Sistema Protease-Antiprotease

Existem evidências persuasivas da existência de um desequilíbrio entre as proteases, que destroem os componentes do tecido conjuntivo dos pulmões dos pacientes com DPOC, e as antiproteases, que limitam a ação daquelas proteases (Barnes *et al.*, 2003). Várias proteases, derivadas das células inflamatórias e células epiteliais, têm sua concentração aumentada em pacientes com DPOC. Há evidências de que essas proteases possam interagir entre si. Destruição por essas proteases da elastina, uma importante proteína presente no tecido conjuntivo do parênquima pulmonar, é uma característica, possivelmente irreversível, do enfisema pulmonar (Gold, 2018). A ativação de proteases pelas ROS leva também a redução da ação da alfa-1-antitripsina.

2.2.4.4 Apoptose

Já a apoptose nos portadores de DPOC, segundo Kanazawa e Yoshikawa (2005) (Kanazawa e Yoshikawa, 2005), é um mecanismo essencial para a manutenção da estrutura celular dos pulmões, ou seja, de proteção. Porém, esse mecanismo sob o desequilíbrio presente do estresse oxidativo acarreta danos às células epiteliais dos pulmões, favorecendo o desenvolvimento do enfisema, bem como a ativação de enzimas mitocondriais, principalmente a caspase-3.

2.3 MEMBRANAS BIOLÓGICAS

2.3.1 Estrutura e Composição das Membranas Biológicas

Todas as células possuem uma membrana plasmática, mas as células eucarióticas têm o núcleo e organelas intracelulares também delimitadas por membranas (Campbell, 2000; Mohandas e Gallagher, 2008). As membranas constituem uma barreira seletiva que possibilita a ocorrência dentro da célula de reações químicas que não seriam possíveis no meio extracelular (Alberts *et al.*, 1997; Storry, 2000; Nelson e Cox, 2008).

As membranas biológicas são estruturas complexas compostas por lipídeos, proteínas e carboidratos (Singer e Nicolson, 1972). Elas formam a barreira que separa uma célula da outra, garantindo a individualidade e permeabilidade seletiva de cada célula (Cullis e De Kruijff, 1979; Nelson e Cox, 2008). As membranas biológicas têm uma estrutura trilaminar, sendo as lâminas externas de natureza hidrofílica e a lâmina interna de natureza hidrofóbica (Cooper, 1977).

Embora a membrana seja composta por diferentes classes de lipídeos, os predominantes são os fosfolipídeos, podendo representar até 95% destes na membrana (Cooper, 1977), mas também existem derivados de fosfolipídeos como ácidos graxos livres, mono- e di-acilgliceróis. O colesterol também é um importante lipídeo encontrado nas membranas de células eucarióticas (Cribier *et al.*, 1993).

As proteínas estruturais e os lipídeos da membrana se associam ao citoesqueleto subjacente por interações proteína-proteína e proteína-lipídeo (Bennett e Stenbuck, 1979; Branton *et al.*, 1981; Cohen, 1983; Marchesi, 1983; Chasis e Shohet, 1987), os quais são essenciais para determinação da deformabilidade e estabilidade da membrana (Chasis e Mohandas, 1986).

A composição de uma membrana varia de acordo com a função por ela desempenhada (Storry, 2004). Quando se analisa as monocamadas interna e externa de uma mesma membrana quanto ao conteúdo lipídico, proteico e glicídico ainda pode ser encontradas variações em sua composição (Di *et al.*, 2006).

2.3.2 Fluidéz, Funcionalidade, Deformabilidade e Estabilidade das Membranas

Para se manter fisiologicamente ativa, a membrana deve apresentar um grau intermediário de fluidez, a chamada fluidez crítica de membrana, que se situa entre o estado sólido e líquido. A fluidez de membrana está relacionada à natureza e concentração lipídeos em seu núcleo hidrofóbico. Uma maior quantidade de ácidos graxos polinsaturados nos

fosfolipídios aumenta a fluidez da membrana, pois enfraquece as ligações intermoleculares de van der Waals. Ao contrário, uma quantidade maior de colesterol irá enrijecer a membrana, devido à maior proporção de anéis inflexíveis de colesterol (Cooper *et al.*, 1975).

A deformabilidade é a medida de extensão da distorção que a membrana do eritrócito pode sofrer quando submetida a uma pressão externa definida (Bernardino Neto, 2011); ela é determinada principalmente por fatores geométricos, como a relação superfície-volume da célula, e pela viscosidade do fluido intracelular (sobretudo pela presença de hemoglobina) (Tomaiuolo, 2014). Já a estabilidade é a capacidade da membrana de resistir contra a ação de fatores que podem comprometer sua estrutura e, conseqüentemente, suas funções (Bernardino Neto, 2011).

É através da manutenção de características próprias das membranas, como fluidez e estabilidade, que a célula suporta estresses externos e garante sua integridade e funcionalidade (Garcia *et al.*, 2005). Porém, um aumento excessivo na estabilidade irá prejudicar sua funcionalidade (Pollard e Wyn Jones, 1979). Portanto, estabilidade e funcionalidade não são propriedades equivalentes, uma vez que uma maior estabilidade de membrana não coincide necessariamente com a melhor funcionalidade (Abad *et al.*, 2010).

A estabilidade da membrana pode ser aumentada pela capacidade da própria célula em aumentar a concentração de fosfolipídios com ácidos graxos saturados e de colesterol na dupla camada lipídica. A produção e concentração de solutos orgânicos de baixa massa molar, denominados osmólitos, é outra estratégia celular de preservação da estabilidade celular (Pollard e Wyn Jones, 1979; De Freitas *et al.*, 2010; Tomaiuolo, 2014).

A estabilidade das membranas biológicas é fundamental para o desempenho das funções das células: a ausência da integridade da membrana em células animais pode afetar a fisiologia normal dessa célula e levá-la à morte (Mcneil e Steinhardt, 1997). Do mesmo modo, a fluidez da membrana também é essencial para que a célula permaneça ativa, sendo que essa fluidez precisa estar entre limites ideais para que a função normal das células possa ser exercida (Garcia *et al.*, 2005).

A estabilidade de membrana também depende da intensidade e velocidade de degeneração de seus constituintes estruturais pelas agressões advindas do ambiente e do próprio metabolismo celular (Arvelos, 2011).

2.3.3 Eritrócito como Modelo de Estudo

O eritrócito constitui um modelo muito utilizado para avaliação da estabilidade de membranas, pelo fato da sua lise poder ser acompanhada pela liberação de hemoglobina, que pode ser quantificada por espectrofotometria na região visível do espectro (Marks e Johnson, 1958; De Freitas *et al.*, 2013; Paraiso *et al.*, 2017). Além disso, os eritrócitos são também de relativamente fácil acesso e podem ser obtidos com baixo custo (Nelson e Cox, 2008).

O ambiente no qual o eritrócito é encontrado é um fator decisivo na determinação da composição e na fluidez da membrana celular. Esse ambiente pode ser mudado em decorrência da dieta, atividade física e muitas doenças (Singer e Nicolson, 1972; Schick e Schick, 1985; Martinez *et al.*, 1996; Vaya *et al.*, 2008).

A principal função dos eritrócitos é transportar o oxigênio dos pulmões para os tecidos e auxiliar no transporte do dióxido de carbono dos tecidos para os alvéolos pulmonares; para isso, o dióxido de carbono tem que se difundir para o interior do eritrócito (Wang e Popel, 1993; Alberts *et al.*, 1997; Tomaiuolo, 2014).

2.3.3.1 Estabilidade de Eritrócitos

Um teste muito usado, de baixo custo e elevada eficiência na avaliação da estabilidade das membranas (Marks e Johnson, 1958; Mascarenhas Netto *et al.*, 2014; Paraiso *et al.*, 2017) é a fragilidade osmótica eritrocitária (FOE).

A FOE pode ser definida como a resistência dos eritrócitos à hemólise contra soluções de 0 a 0,9 g/dL de NaCl em água destilada (Marks e Johnson, 1958; Walski *et al.*, 2014). O controle do volume celular pela eliminação ativa de solutos é um dos mecanismos pelo qual a lise da membrana eritrocitária é evitada *in vivo* (Walski *et al.*, 2014). As células, quando suspensas em meio hipotônico aumentam até atingir um volume crítico de hemólise antes de serem lisadas.

A fragilidade osmótica eritrocitária expressa a habilidade das membranas em manter sua integridade estrutural quando expostas a esse estresse hiposmótico (Aldrich e Saunders, 2001). Nesse tipo de teste, o monitoramento da lise eritrocitária pode ser feito convenientemente mediante a leitura de absorbância da hemoglobina liberada no meio em decorrência da lise, com a utilização de espectrofotômetro com comprimento de onda ajustado em 540 nm (Moeckel *et al.*, 2002; Walski *et al.*, 2014).

A fragilidade osmótica *in vitro* é dependente de: (1) características do meio de suspensão, onde o pH e a tonicidade são controlados pelo teste de fragilidade osmótica; (2)

número total de constituintes osmóticos ativos, o qual determina o volume celular em qualquer ambiente externo e (3) volume hemolítico crítico, que é considerado um parâmetro complexo, pois é dependente da quantidade e qualidade de fatores associados aos lipídios de membrana (Suhail *et al.*, 2010).

À medida que aumenta a concentração de agente caotrópico ou diminui a tonicidade do meio, aumenta a lise dos eritrócitos. A curva de lise gerada através da diminuição da tonicidade do meio por decréscimo na concentração salina é dada por uma sigmoide. A curva de regressão sigmoideal da absorvância gerada pela liberação de hemoglobina em função da concentração salina possui um caráter semelhante aos sistemas cooperativos saturáveis. A liberação de hemoglobina parte de um platô mínimo estável (A_{\min}), que se refere ao valor estacionário mínimo de absorvância, onde os níveis de hemoglobina livre no meio são usualmente bem baixos. Como esta hemoglobina é liberada no meio em condições de salinidade equivalentes àquela existente no sangue, A_{\min} constitui o parâmetro de estabilidade de membrana que mais representa a tendência de ocorrência de hemólise *in vivo*. Maiores valores de A_{\min} significam existência de eritrócitos menos estáveis, mesmo em condições isotônicas com o sangue. À medida que a concentração salina no meio diminui, há um aumento gradativo da lise eritrocitária, que, a partir de um determinado ponto sofre uma aceleração exponencial. Ao atingir o ponto intermediário da curva, a liberação de hemoglobina sofre uma desaceleração hiperbólica, até atingir um platô máximo estável (representado pela sigla A_{\max}), que se refere ao valor estacionário máximo de absorvância (Penha-Silva *et al.*, 2007; Penha-Silva *et al.*, 2008; Bernardino Neto *et al.*, 2013; De Arvelos *et al.*, 2013; De Freitas *et al.*, 2013). A variação na concentração de sal (X) necessária para promover a transição entre os valores de A_{\min} e A_{\max} equivale a quatro vezes o valor do parâmetro dX . O ponto intermediário da concentração salina em que há 50% de lise dos eritrócitos presente no sistema é representado pela variável H_{50} (Bernardino Neto *et al.*, 2013; Cunha *et al.*, 2014).

O parâmetro dX é diretamente proporcional à estabilidade, uma vez que quanto maior a variação na concentração salina para promoção de hemólise (maior dX), maior é a estabilidade de membrana do eritrócito. Como a estabilidade de membrana é inversamente proporcional à fragilidade osmótica, pode-se dizer que há uma menor fragilidade osmótica dos eritrócitos quanto maior é o valor de dX .

O parâmetro H_{50} é proporcional à fragilidade osmótica dos eritrócitos. Por isso, a utilização de sua forma inversa, $1/H_{50}$, é que representa efetivamente a estabilidade osmótica daquelas células.

Como dX é efetivamente uma variável de estabilidade osmótica de eritrócitos, as razões dX/H_{50} e dX/A_{\min} , são diretamente proporcionais à estabilidade de membrana de eritrócitos, uma vez que A_{\min} e H_{50} tem relações inversas com a estabilidade dessas células.

A estabilidade de eritrócitos pode ser afetada por muitos fatores, tais como composição da membrana, volume, tamanho e forma, tipo e quantidade de hemoglobina, viscoelasticidade e composição química e estrutural das membranas (Perk *et al.*, 1964). Além disso, também afetam a estabilidade de eritrócitos variações fisiológicas (variações pós-prandiais) ou patológicas (hemoglobinopatias, presença de hematozoários, uremia, cirrose, processos autoimunes, hepatopatias e insuficiência renal) (Jain, 1973; Stasiw *et al.*, 1977), dentre outros fatores, como pequenas alterações no pH, temperatura, idade, quantidade de O_2 e de CO_2 (Suess *et al.*, 1948) e vários tipos de drogas (Seeman, 1966; Aki e Yamamoto, 1991; De Freitas *et al.*, 2010).

A sensibilidade dos eritrócitos à concentração de colesterol no meio extracelular (Cooper *et al.*, 1975; Schick e Schick, 1985) é apoiada pelos estudos que revelaram a existência de relação entre os níveis de colesterol plasmático de pacientes com hipercolesterolemia familiar e o aumento da concentração de colesterol na membrana de eritrócitos (Vayá *et al.*, 1993; Martinez *et al.*, 1998; Michalska-Malecka *et al.*, 2008; Spengler *et al.*, 2008). Mudanças no teor e natureza de ácidos graxos também podem influenciar a fragilidade osmótica de membranas de células vermelhas sanguíneas (Yajima, 1985; Caliskan *et al.*, 2000; Mineo e Hara, 2005).

A idade do eritrócito exerce influência tanto na fragilidade osmótica de eritrócitos (Bautista *et al.*, 2003) quanto no padrão de assimetria da membrana, uma vez que o envelhecimento leva a alterações na composição em fosfolipídeos (Rifkind *et al.*, 1983), afetando propriedades elétricas da membrana e o equilíbrio entre a célula e o meio (Mutus *et al.*, 2000).

Uma maior estabilidade dos eritrócitos contra estresse hipotônico e desnaturação por etanol foi encontrada com o aumento da idade também de voluntárias humanas (Penha-Silva *et al.*, 2007).

Em suma, a estabilidade de membrana pode ser afetada por vários fatores, que incluem agentes estabilizantes como os osmólitos, e agentes desnaturantes como os extremos de temperatura (Cunha *et al.*, 2007; Penha-Silva *et al.*, 2008) e de pH (De Freitas *et al.*, 2008) e uma gama variada de solutos caotrópicos.

Muitas outras variáveis do complexo sistema que é o sangue humano também podem influenciar na estabilidade de membrana de eritrócitos. Elevações na concentração de

homocisteína no sangue, por exemplo, estão associadas com alterações na composição da membrana em fosfolípidos e, conseqüentemente, em sua estabilidade (Mascarenhas-Neto, 2009). Alterações nas concentrações plasmáticas de eletrólitos e albumina (Fonseca *et al.*, 2010) e nos níveis sanguíneos de fatores nutricionais que afetam a eritropoiese, como ferro, folato e cianocobalamina (Alves De Rezende *et al.*, 2009; Toh *et al.*, 2009) também devem ser citados.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a estabilidade de membranas de eritrócitos nos pacientes com DPOC em ODP através de ensaios de fragilidade osmótica em comparação com indivíduos saudáveis.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os perfis hematológico, bioquímico, hormonal e funcional dos pacientes com DPOC em ODP, para estabelecer possíveis relações com a estabilidade da membrana de eritrócitos nessa doença, em comparação com indivíduos saudáveis;
- Avaliar a correlação entre estabilidade de membranas de eritrócitos e gravidade do DPOC.

4 ARTIGO

Erythrocyte stability in volunteers with chronic obstructive pulmonary disease in long-term oxygen therapy

Submetido para o periódico Chest.

TITLE PAGE

Total words of the abstract: **203**

Total words of text: **3227**

Erythrocyte stability in volunteers with chronic obstructive pulmonary disease in long-term oxygen therapy

Flaviana Ferreira Gomes, Alice Vieira da Costa, Mário da Silva Garrote-Filho, Luciana Alves de Medeiros, Nilson Penha-Silva and Thúlio Marquez Cunha

AFFILIATIONS: From Faculty of Medicine; Federal University of Uberlândia, Uberlândia, MG, Brazil (Flaviana Ferreira Gomes and Thulio Marquez Cunha) and Laboratory of Biophysical Chemistry (Alice Vieira da Costa, Luciana Alves de Medeiros, Mario da Silva Garrote-Filho and Nilson Penha-Silva) of the Federal University of Uberlândia, Uberlândia, MG, Brazil.

Funding/support

CORRESPONDENCE TO: Thulio Marquez Cunha, MD, PhD, Laboratório de Função Pulmonar e Fisiologia Clínica do Exercício, Hospital de Clínicas, Universidade Federal de Uberlândia, Avenida Pará, 1888, Campus Umuarama, Uberlândia, MG, 38405-320, Brazil; e-mail: thulio.cunha@ufu.br

Conflict of interest

None of the authors have a conflict of interest to declare.

ABBREVIATIONS: COPD, *chronic obstructive pulmonary* disease; A_{\max} , absorbance at 540 nm associated with lysis of the entire erythrocyte population; A_{\min} , absorbance at 540 nm associated with the initial lysis of the erythrocyte population in isotonic medium with blood; dX , variation in NaCl concentration responsible for total hemolysis; $1/H_{50}$, inverse of NaCl concentration capable of promoting 50% hemolysis; BMI, body mass index; Hb, hemoglobin; Ht, hematocrit; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; MCV, mean corpuscular volume; MPV, mean platelet volume; Plt, platelets;

RBC, red blood cell; RDW, red cell distribution width; Rtc, reticulocytes; WBC, white blood cells; B₁₂, B12 vitamin; CRP, C-reactive protein; Fe, serum iron; Folate, folic acid; Glu, glucose; HbA_{1c}, glycated hemoglobin; Hcy, homocysteine; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; HSA, human serum albumin; LDH, lactate dehydrogenase; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; t-C, total cholesterol; TGC, triglycerides; TIBC, total iron binding capacity; TSI, transferrin saturation index; Urate, uric acid; VLDL-C, very low-density lipoprotein cholesterol; tB, total bilirubin; dB, direct bilirubin; iB, indirect bilirubin; 6MWT, six-minute walk test; FEV_{1 post-BD}, forced expiratory volume in the first second after (post) use of BD; FEV_{1 pre-BD}, forced expiratory volume in the first second before (pre) use of bronchodilator (BD); FVC_{post-BD}, forced vital capacity after (post) use of BD; FVC_{pre-BD}, forced vital capacity before (pre) use of BD; pCO₂, partial pressure of carbon dioxide; pO₂, oxygen partial pressure; SaO₂, arterial oxyhemoglobin saturation; SVC, slow vital capacity; IC, inspiratory capacity; TLC, total lung capacity; RV, residual volume.

ABSTRACT

Background: Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) is a systemic inflammatory disease caused by irritants such as cigarette smoke. The aim of the study was to evaluate the erythrocytes osmotic stability in subjects with COPD in Long-Term Oxygen Therapy (LTOT) compared to healthy subjects.

Methods: The study population consisted of 145 men, 74 of the control group and 71 with COPD in LTOT. Biochemical and hematologic tests and evaluation of the erythrocytes osmotic stability were performed.

Results: The volunteers with COPD presented erythrocytes with greater stability both in isotonic and hypotonic conditions in relation to blood, concomitantly with lower hemoglobin levels and lower values of mean corpuscular hemoglobin concentration, as well as higher values of mean corpuscular volume and red-cell distribution width. Iron status and blood levels of total and indirect bilirubin, albumin, triglycerides, total cholesterol (C), VLDL-C and LDL-C were lower in the COPD group, suggesting a tendency to malnutrition. The erythrocytes osmotic stability was inversely correlated with the indicators of lung function, body mass index and physical capacity in this group.

Conclusions: Individuals with COPD in LTOT showed osmotically more stable and heterogeneous erythrocytes, but this increased erythrocytes stability was associated with worsening of lung function, body mass index and physical capacity.

Key Words: Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD); Long-Term Oxygen Therapy (LTOT); Osmotic Stability; Red Blood Cell (RBC).

In the world, Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) is currently the fourth leading cause of death, with a tendency to be the third cause in 2020 (Gold, 2017). The most severe cases of this disease usually require the use of Long-Term Oxygen Therapy (LTOT) (Weitzenblum *et al.*, 1985; Chaouat *et al.*, 1999; Haidl *et al.*, 2004).

COPD is a systemic inflammatory disease caused by irritants such as cigarette smoke. In addition to chronic inflammation, the disease has been associated with an increase in the body's oxidative stress (Bukowska *et al.*, 2015; Zinellu *et al.*, 2016). Since erythrocytes, which are the cells that transport oxygen through the body, are important targets of inflammatory and oxidative aggression, this suggests that these cells are being affected in COPD.

These aggressions are particularly exerted on constituents of the erythrocyte membrane, which affects a membrane property called stability (De Arvelos *et al.*, 2013; De Freitas *et al.*, 2013; Mascarenhas Netto *et al.*, 2014; Paraiso *et al.*, 2017). The erythrocyte membrane stability can be evaluated by the osmotic fragility test, which consists of lysing these cells by exposure to a medium with a hypotonic gradient (Marks e Johnson, 1958; Penha-Silva *et al.*, 2007; Paraiso *et al.*, 2017).

Despite the great diversity of publications involving associations of erythrocyte behavior with chronic degenerative diseases, no study has yet evaluated the osmotic stability of erythrocytes in patients with COPD in LTOT. The present work aims to fill this gap by investigating the existence of associations between erythrocyte membrane stability and respiratory, biochemical and hematological variables in patients with COPD in LTOT compared to healthy volunteers.

Methods

Study Design and Subjects

This study was previously approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Uberlândia, with certificate #48509815.2.0000.5152, and registered in the Clinical Trial platform of the US National Library of Medicine of NIH under number NCT02732444.

This is a cross-sectional, observational study comparing 2 groups composed of male subjects aged over 40 years: a group of patients with COPD in LTOT, composed of 71 individuals recruited from the Oxygen Therapy Outpatient Clinic of the Clinical Hospital of the Federal University of Uberlândia (CH-FUU); and a control group, composed of 74 healthy individuals (without heart disease and pneumopathy), non-smokers, recruited in the local community of the city of Uberlândia (Figure 1).

Inclusion criteria for the COPD group were: FEV₁/FVC_{post-BD} ratio < 70%, partial oxygen pressure (PaO₂) ≤ 55 mmHg or oxygen saturation (SaO₂) ≤ 88% at room air; or values of PaO₂ between 55-60 or SaO₂ < 90%, with evidence of pulmonary hypertension or polycythemia. In both groups, those who used hypolipidemic drugs, such as statins and fibrates, were excluded. In the specific case of volunteers with COPD, those who had an exacerbation of their clinical condition in the last four weeks and who presented associated severe heart disease were excluded.

Procedures

Biochemical and Hematologic Analyzes

Hematologic parameters were determined using Cell-Dyn 3700 automated analyzer (Abbott), while the biochemical parameters were determined using the Cobas C501, C601 (Roche Diagnostics) and D-10 (Bio-Rad) analyzers. For the gasometric evaluations, an automated gasometer Cobas B221 (Roche Diagnostics) was used. At the time of collection of blood samples patients were fasted for 12 to 14 hours. All analyzes were performed at the Laboratory of Clinical Analyzes of CH-FUU.

Evaluation of Erythrocyte Osmotic Stability

Increasing concentrations of NaCl (0-9%) were used to create an osmotic gradient in which erythrocytes were incubated and lysis at each concentration was quantified by spectrophotometry as described in the literature (Cunha *et al.*, 2007; Penha-Silva *et al.*, 2007; Penha-Silva *et al.*, 2008; Bernardino Neto *et al.*, 2013; Rodrigues De Freitas *et al.*, 2016; Paraiso *et al.*, 2017). Each assay used a duplicate series of 15 tubes, each with 1 mL of saline at its respective concentration, totaling 30 experimental points. After preincubation for 10 min at 37 °C, the tubes received 20 µL of blood and were then gently stirred and incubated at 37 °C for 30 min. The tubes were then centrifuged for 10 minutes at 1300 x g and their supernatants had their absorbance values at 540 nm (A_{540}) recorded for construction of the osmotic lysis curve by plotting these absorbance values as a function of the salt concentration (X), using the Boltzman equation:

$$A_{540} = \frac{A_{min} - A_{max}}{1 + e^{(X-H_{50})/dX}} + A_{max}$$

where A_{min} and A_{max} are the mean absorbance values at 540 nm (A_{540}) in the lower and upper plateaus of the curve, respectively; H_{50} is the concentration of NaCl (X) in which there is 50% hemolysis; and dX is the change in salt concentration required to bring the erythrocytes from their basal state of lysis (A_{min}) to 100% lysis (A_{max}). These statistical adjustments were made using the software Origin 9.1 (Microcal, Northampton, MA, USA).

The parameter H_{50} is a measure of the osmotic fragility, since the higher the H_{50} value, the lower the erythrocyte osmotic stability. This is why the $1/H_{50}$ ratio effectively expresses the erythrocyte osmotic stability (Bernardino Neto, 2011). But dX is a parameter of osmotic stability, since higher dX values express greater erythrocyte stability.

Pulmonary Function Testing by Spirometry

Lung function test was performed before and after the inhalation of 400 µg salbutamol via metered aerosol in a computer-controlled spirometer system (CPFS-D USB™, MCG Diagnostics Corporation, St. Paul, Minnesota). Airflow was measured using a Pitot tube (PreVent Pneumotach™, MCG Diagnostics Corporation, St. Paul, Minnesota), which was calibrated daily considering the temperature, humidity and barometric pressure of the location. The volunteers completed at least three forced and slow acceptable expiratory maneuvers, with at least two of them being reproducible, according to the criteria of the Brazilian Society of Pulmonology and Tisiology (Culver *et al.*, 2017). The variables measured were: forced vital capacity (FVC), slow vital capacity (SVC), forced expiratory volume in the first second (FEV₁) and inspiratory capacity (IC) in liters (L) and percentage of predicted value (% pred). The FEV₁ and FVC values were used to generate the FEV₁/FVC ratio, which was given as a percentage. For SVC and IC measurement, volunteers were instructed to inhale deeply to achieve the presumed total lung capacity (TLC), and then slowly exhale until reaching the residual volume (RV), with further deep inspiration.

Six-Minute Walk Test (6MWT)

The exercise capacity was inferred by the 6MWT in accordance with the guidelines established by the American Thoracic Society (ATS) (Ats, 1995). Stopwatch, pulse oximeter, heart rate monitor, sphygmomanometer and stethoscope were the equipment used in the test.

The tests were always performed by the same examiners, previously trained, in a track of 30 meters, free of obstacles, with chairs positioned at each one of its extremities. Participants were instructed to walk as fast as possible for six minutes, encouraged with standardized phrases every minute. If necessary, individuals could rest, but with the timer remaining on, and under instruction to continue the test as soon as possible, until the end of the sixth minute.

Vital signs (systemic blood pressure, heart rate and respiratory rate) level of dyspnea (Borg scale) (Ats, 2002) and oxygen saturation were measured before, during and after the test.

The result of the 6MWT was used to generate a percentage value referring to the distance that each patient should have covered (6MWT_{pred}), using the equation: obtained value ÷ predicted value x 100%, where the predicted value was calculated according to the equation described by Enright e Sherril (Enright e Sherril, 1998): distance walked in the 6MWT, given in meters = (7.57 x height, given in cm) - (5.02 x age, given in years) - (1,76 x weight, given in kg) - 309 m.

Sampling Calculus and Statistical Analyzes

The sample size calculated for analysis using Student's t-test or equivalent, with statistical power of 0.8 and significance of 0.05, was 64 individuals in each group (Bussab e Moretin, 2013).

The results obtained for each variable were analyzed for normality using the Shapiro-Wilk test. The comparison between groups of the results of variables that presented normal distribution was made using Student's t-test for independent samples. The comparisons of variables with non-normal distribution were done using the Mann-Whitney test. Correlation analyzes between pairs of variables with normal distribution used the Pearson test, but when at least one of the variables had a non-normal distribution, the correlation analyzes were done using the Spearman test. The significance level adopted in all analyzes was 0.05 and the confidence interval was 95%. All analyzes were performed using SPSS 22 (IBM Inc., Chicago, IL, USA).

Results

The results for the variables of anthropometric measurements, pulmonary function and walking test of the control and COPD groups are shown in Table 1. The mean age of the volunteers of both groups was similar, but the volunteers of the COPD group presented lower weight, lower BMI and worse values of the lung function tests in relation to the control group, as would be expected.

The results obtained for the erythrocyte stability, hematimetric and biochemical variables are presented in Table 2.

Before presenting these results it is important to highlight that the chronic inflammatory condition of the disease is consistent with the existence of higher WBC counts and higher levels of CRP in volunteers with COPD.

Regarding the membrane stability variables, the COPD group presented higher values of dX and an A_{\min} value that was 50% lower in relation to the control group. This higher value of dX means that the erythrocytes of volunteers from the COPD group were osmotically more stable *in vitro*, and the lower value of A_{\min} means that their erythrocytes were more stable even in isotonic conditions with blood.

Regarding the hematimetric variables, the volunteers of the COPD group presented lower levels of hemoglobin and lower values of MCHC, besides higher values of MCV and

RDW. In addition, COPD volunteers also had lower levels of iron, total iron binding capacity (TIBC), ferritin, albumin, and total and indirect bilirubin.

As for the lipid profile, the volunteers in the COPD group presented lower values of triglycerides, total cholesterol, VLDL-C and LDL-C, as well as higher levels of HDL-C in relation to the control group.

The present study also investigated the existence of associations between all variables studied. The statistically significant results of the correlation analyzes presented by the erythrocyte stability variables of the group COPD volunteers were presented in Table 3.

The stability variable dX presented negative a correlation with A_{\min} and a positive correlation with RDW. Although not shown in Table 3, significant negative correlations were observed between RDW and MCHC ($\rho = -0.31$), iron ($\rho = -0.37$) and transferrin saturation index ($\rho = 0.33$).

Significant negative correlations were also found between $1/H_{50}$ and $FEV_{1\text{ pre-BD}}$, $FEV_{1\text{ post-BD}}$, $FEV_1/FVC_{\text{pre-BD}}$ e $FEV_1/FVC_{\text{post-BD}}$, as well as with the predicted percentage of 6MWT ($6MWT_{\text{pred}}$). A significant negative correlation was also observed between $1/H_{50}$ and BMI.

Discussion

The present study appears to be the first to evaluate the membrane stability of erythrocytes in people with COPD in LTOT. This is very relevant, since it is the transport of oxygen that can ensure or not the effectiveness of the results of lung function.

Two indicators of osmotic stability of erythrocytes revealed that volunteers in the COPD group had erythrocytes more stable than those in the control group. These indicators were the variables dX and A_{\min} .

The largest value of dX in the COPD group indicates the need for a greater variation in salt concentration to lyse the entire population of erythrocytes contained in the blood sample used in the test. This shows the existence of erythrocytes osmotically more stable under the *in vitro* conditions of the assay.

On the other hand, the lower A_{\min} value in the COPD group indicates the occurrence of lower initial lysis, under isotonic conditions with the blood. Among the membrane stability variables, A_{\min} is the variable that most closely approximates the *in vivo* behavior of erythrocytes. This suggests that volunteers with COPD would have more stable erythrocytes also *in vivo*.

However, the presence of more stable erythrocytes in the blood of the volunteers with COPD does not appear to be a physiologically desirable feature, due to other hematologic, biochemical and respiratory changes concomitantly present in this group, since some of these changes appear to be due to malnutrition.

The lower levels of iron and hemoglobin make a lot of sense with the lower MCHC values. On the other hand, lower levels of total and indirect bilirubin suggest that lower levels of hemoglobin would not be due to an increase in the rate of heme degradation, since total and indirect bilirubin levels were lower in the COPD group. This suggests that the decrease in iron and hemoglobin levels has a nutritional origin. On the other hand, the highest MCV values in this group are suggestive of nutritional deficiency of folate and/or cobalamin. Indeed, although there was no significant difference between the groups regarding serum vitamin B₁₂ levels, the folic acid levels were significantly lower in the COPD group. It is also important to emphasize that the lower levels of albumin of these patients, in view of lower levels of hepatic function indicators (total and indirect bilirubin) are also suggestive of protein malnutrition.

The lower values of triglycerides, total cholesterol, LDL-C and VLDL-C presented by the COPD group suggest that malnutrition that volunteers with COPD tend to present is not selective, since blood energy intake indicators are also declining in this population.

As higher values of A_{\min} indicate the occurrence of increased lysis of erythrocytes under isotonic conditions with blood, the negative correlation of dX with A_{\min} means that volunteers who had erythrocytes with greater membrane stability under *in vitro* conditions (greater dX) also had lower lysis in isotonic conditions with blood (lower A_{\min}). This should mean that the enhanced stability of erythrocytes *in vitro* is associated with greater stability under conditions equivalent to osmotic environment of erythrocytes *in vivo*. The lower values of iron and hemoglobin, present concomitantly with higher MCV values, justify the lower MCHC values in this group and certainly also the higher osmotic stability of erythrocytes. The lower the hemoglobin concentration (MCHC), the lower is the osmotic pressure inside the cell and, consequently, the greater is the resistance to lysis by hypotonicity (Hladky e Rink, 1978).

On the other hand, the positive correlation between dX and RDW shows that individuals with more stable erythrocytes also had a greater volume variability of these cells. Once a rise in RDW may be due to a reduction in iron levels (Buch *et al.*, 2011; Sultana *et al.*, 2013), the positive association observed between dX and RDW suggests that such increase in the erythrocyte stability is not a necessarily desirable condition in this population. Indeed, significant negative correlations were observed between RDW and MCHC, iron and transferrin saturation index. This suggests that the tendency to have erythrocytes osmotically more stable

in volunteers with COPD is associated with the tendency to present anemia. In fact, anemia is a frequent alteration in COPD and has a great impact on the quality of life of these patients, increasing health spending and the morbidity and mortality of the disease (Sarkar *et al.*, 2015).

This positive association between dX and RDW deserves better appreciation, since an increase in RDW was associated with the severity of COPD (Tertemiz *et al.*, 2016). Another cause of increase in the value of RDW is the decrease in deformability of erythrocytes. Less deformable erythrocytes generally have irregular shapes (Meiselman, 1981) and do not return to their original shape easily, creating erythrocyte populations of different sizes and conformations. Indeed, some studies have shown lower erythrocyte deformability in COPD (Santini *et al.*, 1997; Coppola *et al.*, 1999; Ugurlu *et al.*, 2017). As in animal model, a continuous reduction in deformability was associated with the progression of an inflammatory response (Silva-Herdade *et al.*, 2016), the lower deformability of erythrocytes described in COPD may be due to the inflammatory condition of the disease, demonstrated in this study by means of increased leukocyte count and CRP values.

In addition, another possible cause of change in RDW is the occurrence of change in erythrocyte membrane composition. In fact, elevations in cholesterol and phospholipids, together with reduced protein content, were reported in more severe cases of COPD, with reduced protein content having been negatively correlated with FEV₁ (Gangopadhyay *et al.*, 2012).

It is also possible that this hematologic change is related to the predominance of mature erythrocytes in the circulation, since the problem group presented a borderline decrease in the reticulocytes count. This indicates that erythrocyte turnover would be decreased in volunteers with COPD. In fact, this is consistent with the decrease in total and indirect bilirubin levels, which indicate a decrease in erythrocyte clearance (Memon *et al.*, 2016), and with the lower levels of iron, which means the existence of a restrictive condition to erythropoiesis (Cavill, 2002). Certainly, this predominance of more mature erythrocytes, which have less deformability, impairs the adequate supply of oxygen to the tissues, worsening the clinical condition of the patient with COPD, mainly in exacerbations of the disease (Ugurlu *et al.*, 2017).

The idea that the increased osmotic stability of erythrocytes in the COPD group is not a desirable characteristic can be confirmed by associations of a erythrocyte stability variable, $1/H_{50}$, and physiological indicators of pulmonary function and physical ability. The significant negative correlations observed between $1/H_{50}$ and FEV_{1 pre-BD}, FEV_{1 post-BD}, FEV₁/FVC_{pre-BD} e FEV₁/FVC_{post-BD}, as well as with the predicted percentage of 6MWT (6MWT_{pred}) means that volunteers with osmotically stable erythrocytes were the ones who had a worse lung evaluation

and physical ability. On the other hand, the significant negative correlation also observed between $1/H_{50}$ and BMI suggests the existence of an association of this greater osmotic stability of erythrocytes with a poor nutritional condition, since the nutritional status exerts a great influence on BMI, particularly in COPD.

The chronic inflammatory status of the disease (Fabbri e Rabe, 2007; Young Oh e Sin, 2012) generates a progressive physical disability (Nazir e Erbland, 2009; Gold, 2017), which limits the chewing and use of food (Schols *et al.*, 1998; Schols, 2000), generating a catabolic state that contributes to the weight loss (Agusti e Soriano, 2008; Barnes e Celli, 2009) responsible for the reduction observed in the BMI of COPD group (Table 1). The decrease in iron status and the levels of albumin, folic acid, TGC, t-C, VLDL-C and LDL-C, observed in the COPD group in relation to the control (Table 2) are in agreement with the worsening of the nutritional status of volunteers with COPD. This is very relevant because a nutritional status characterized by low BMI and low blood levels of cholesterol and albumin is related to the poor survival of patients with COPD in LTOT (Toth *et al.*, 2004). In this sense, Rawal and Yadav recently emphasized the need to incorporate nutritional management into COPD patient care, since malnutrition is a risk factor for worsening quality of life and increased risk of disease exacerbation (Rawal e Yadav, 2015).

A nutritional factor that deserves prominence in COPD is folate, since folate intake in the diet of low-weight elderly with severe COPD generally does not reach daily recommendations (Andersson *et al.*, 2007). Indeed, lower levels of folate, but not of cobalamin, were found in volunteers with COPD from the present study. These results are consistent with those reported by Fimognari *et al.*, who found lower levels of folate and pyridoxine, but not of cobalamin, together with higher levels of plasma homocysteine (Hcy) in volunteers with COPD compared to a control group (Fimognari *et al.*, 2009). Hcy is considered an indicator of increased cardiovascular risk (Baszczuk e Kopczynski, 2014; Shenoy *et al.*, 2014) and also a possible predictor of a decline in pulmonary function (Kai *et al.*, 2006; Nunomiya *et al.*, 2013). The use of Hcy in metabolism is dependent on the blood levels of pyridoxine, folate and cobalamin; and that is why the deficiency of these nutritional factors leads to elevated levels of Hcy (Gonzalez-Gross *et al.*, 2007). In our study, blood levels of Hcy were not different between groups, probably because, although smaller, folic acid levels were within the reference range (Table 2).

In summary, this study demonstrated that individuals with COPD in LTOT exhibit osmotically more stable and heterogeneous erythrocytes in relation to individuals without this disease. This increased osmotic stability of erythrocytes occurred concomitantly with

worsening in hematologic and biochemical indicators of malnutrition, and was statistically associated with worsening of lung function and exercise capacity. As red blood cells act in conjunction with the lungs in the distribution of oxygen and CO₂ elimination by the body, it is very important to keep attention on nutritional indicators that affect the processes related to homeostasis of these cells in the body, when dealing with patients with COPD.

Acknowledgments

The authors would like to thank the *Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento* (CNPq) for the productivity grant awarded to Nilson Penha-Silva, the *Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais* (FAPEMIG) and to the *Universidade Federal de Uberlândia* (UFU), especially to the *Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde* (PPGCS), which made possible the accomplishment of this research.

Author contributions

All authors contributed equally to the planning, development and writing of the present study.

Financial/nonfinancial disclosures

This research was carried out with funds from the Federal University of Uberlândia.

Role of sponsors

Sponsors did not interfere in the research.

References

1. GOLD. Global Strategy for the Diagnosis Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2017; <http://goldcopd.org>. Accessed 01/22, 2018.
2. Haidl P, Clement C, Wiese C, Dellweg D, Kohler D. Long-term oxygen therapy stops the natural decline of endurance in COPD patients with reversible hypercapnia. *Respiration*. 2004;71(4):342-347.
3. Weitzenblum E, Sautegeau A, Ehrhart M, Mammosser M, Pelletier A. Long-term oxygen therapy can reverse the progression of pulmonary hypertension in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis*. 1985;131(4):493-498.

4. Chaouat A, Weitzenblum E, Kessler R, et al. A randomized trial of nocturnal oxygen therapy in chronic obstructive pulmonary disease patients. *Eur Respir J*. 1999;14:1002-1008.
5. Bukowska B, Sicinska P, Pajak A, et al. Oxidative stress and damage to erythrocytes in patients with chronic obstructive pulmonary disease--changes in ATPase and acetylcholinesterase activity. *Biochem Cell Biol*. 2015;93(6):574-580.
6. Zinellu E, Zinellu A, Fois AG, Carru C, Pirina P. Circulating biomarkers of oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review. *Respir Res*. 2016;17(1):150.
7. de Arvelos LR, Rocha VC, Felix GP, et al. Bivariate and multivariate analyses of the influence of blood variables of patients submitted to Roux-en-Y gastric bypass on the stability of erythrocyte membrane against the chaotropic action of ethanol. *J Membr Biol*. 2013;246(3):231-242.
8. de Freitas MV, Marquez-Bernardes LF, de Arvelos LR, et al. Influence of age on the correlations of hematological and biochemical variables with the stability of erythrocyte membrane in relation to sodium dodecyl sulfate. *Hematology*. 2013.
9. Mascarenhas Netto RC, Fabbri C, de Freitas MV, et al. Influence of Plasmodium vivax malaria on the relations between the osmotic stability of human erythrocyte membrane and hematological and biochemical variables. *Parasitol Res*. 2014;113(3):863-874.
10. Paraiso LF, Goncalves EOAF, Cunha LM, et al. Effects of acute and chronic exercise on the osmotic stability of erythrocyte membrane of competitive swimmers. *PLoS One*. 2017;12(2):e0171318.
11. Marks PA, Johnson AB. Relationship between the age of human erythrocytes and their osmotic resistance. *Journal of Clinical Investigation*. 1958;11(37):1542-1548.
12. Penha-Silva N, Firmino CB, de Freitas Reis FG, et al. Influence of age on the stability of human erythrocyte membranes. *Mech Ageing Dev*. 2007;128(7-8):444-449.
13. Penha-Silva N, Arvelos LR, Cunha CC, et al. Effects of glycerol and sorbitol on the thermal dependence of the lysis of human erythrocytes by ethanol. *Bioelectrochemistry*. 2008;73(1):23-29.
14. Cunha CC, Arvelos LR, Costa JO, Penha-Silva N. Effects of glycerol on the thermal dependence of the stability of human erythrocytes. *J Bioenerg Biomembr*. 2007;39(4):341-347.
15. Rodrigues de Freitas MA, da Costa AV, Paraiso LF, Filho MG, Debs Diniz AL, Penha-Silva N. 59 Influence of severe preeclampsia on the relations of the stability of

- erythrocyte membrane with biochemical and hematological variables and Doppler indices of the ophthalmic artery. *Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health*. 2016;6(3):206.
16. Bernardino Neto M, de Avelar EB, Jr., Arantes TS, et al. Bivariate and multivariate analyses of the correlations between stability of the erythrocyte membrane, serum lipids and hematological variables. *Biorheology*. 2013;50(5-6):305-320.
 17. Bernardino Neto M. *Análises de correlações entre estabilidade de membrana de eritrócitos, níveis séricos de lipídeos e variáveis hematimétricas*. Uberlândia: Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia; 2011.
 18. Culver BH, Graham BL, Coates AL, et al. Recommendations for a Standardized Pulmonary Function Report. An Official American Thoracic Society Technical Statement. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017;196(11):1463-1472.
 19. ATS. Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease. . *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;152(5 Pt 2):S77-121.
 20. ATS. Statement: Guidelines for the Six-Minute Walk Test. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166:111-117.
 21. Enright PL, Sherrill DL. Reference equations for the six-minute walk in healthy adults. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;158(5 Pt 1):1384-1387.
 22. Bussab WO, Moretin PA. *Estatística Básica*. São Paulo: Saraiva. 2013;8a edição.
 23. Hladky SB, Rink TJ. Osmotic behaviour of human red blood cells: an interpretation in terms of negative intracellular fluid pressure. *J Physiol*. 1978;274:437-446.
 24. Buch AC, Karve PP, Panicker NK, Singru SA, Gupta SC. Role of red cell distribution width in classifying microcytic hypochromic anaemia. *J Indian Med Assoc*. 2011;109(5):297-299.
 25. Sultana GS, Haque SA, Sultana T, Ahmed AN. Value of red cell distribution width (RDW) and RBC indices in the detection of iron deficiency anemia. *Mymensingh Med J*. 2013;22(2):370-376.
 26. Sarkar M, Rajta PN, Khatana J. Anemia in Chronic obstructive pulmonary disease: Prevalence, pathogenesis, and potential impact. *Lung India*. 2015;32(2):142-151.
 27. Tertemiz KC, Ozgen Alpaydin A, Sevinc C, Ellidokuz H, Acara AC, Cimrin A. Could "red cell distribution width" predict COPD severity? *Rev Port Pneumol (2006)*. 2016;22(4):196-201.

28. Meiselman HJ. Morphological determinants of red cell deformability. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 1981;156:27-34.
29. Coppola L, Verrazzo G, Esposito G, et al. Hemorheological and cardiovascular effects of exercise training in the rehabilitation of elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Archives of Gerontology and Geriatrics.* 1999;28:1-8.
30. Santini MT, Straface E, Cipri A, Peverini M, Santulli M, Malorni W. Structural alterations in erythrocytes from patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Haemostasis.* 1997;27(4):201-210.
31. Ugurlu E, Kilic-Toprak E, Can I, Kilic-Erkek O, Altinisik G, Bor-Kucukatay M. Impaired Hemorheology in Exacerbations of COPD. *Can Respir J.* 2017;2017:1286263.
32. Silva-Herdade AS, Andolina G, Faggio C, Calado A, Saldanha C. Erythrocyte deformability - A partner of the inflammatory response. *Microvasc Res.* 2016;107:34-38.
33. Gangopadhyay S, Vijayan VK, Bansal SK. Lipids of erythrocyte membranes of COPD patients: a quantitative and qualitative study. *COPD.* 2012;9(4):322-331.
34. Memon N, Weinberger BI, Hegyi T, Aleksunes LM. Inherited disorders of bilirubin clearance. *Pediatr Res.* 2016;79(3):378-386.
35. Cavill I. Erythropoiesis and iron. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2002;15(2):399-409.
36. Young Oh J, Sin DD. Lung inflammation in COPD: why does it matter? *F1000 Medicine Reports.* 2012;4(23):1-5.
37. Fabbri LM, Rabe KF. From COPD to chronic systemic inflammatory syndrome? *Lancet.* 2007;370(9589):797-799.
38. Nazir SA, Erbland ML. Chronic Obstructive Pulmonary Disease An Update on Diagnosis and Management Issues in Older Adults. *Drugs Aging.* 2009;26(10):813-831.
39. Schols AM. Nutrition in chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Opin Pulm Med.* 2000;6(2):110-115.
40. Schols AM, Slangen J, Volovics L, Wouters EF. Weight loss is a reversible factor in the prognosis of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157(6 Pt 1):1791-1797.
41. Barnes PJ, Celli BR. Systemic manifestations and comorbidities of COPD. *Eur Respir J.* 2009;33(5):1165-1185.
42. Agusti A, Soriano JB. COPD as a systemic disease. *COPD.* 2008;5(2):133-138.

43. Toth S, Tkacova R, Matula P, Stubna J. Nutritional depletion in relation to mortality in patients with chronic respiratory insufficiency treated with long-term oxygen therapy. *Wien Klin Wochenschr.* 2004;116(17-18):617-621.
44. Rawal G, Yadav S. Nutrition in chronic obstructive pulmonary disease: A review. *J Transl Int Med.* 2015;3(4):151-154.
45. Andersson I, Gronberg A, Slinde F, Bosaeus I, Larsson S. Vitamin and mineral status in elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Respir J.* 2007;1(1):23-29.
46. Fimognari FL, Loffredo L, Di Simone S, et al. Hyperhomocysteinaemia and poor vitamin B status in chronic obstructive pulmonary disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2009;19(9):654-659.
47. Baszczuk A, Kopczynski Z. [Hyperhomocysteinemia in patients with cardiovascular disease]. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2014;68:579-589.
48. Shenoy V, Mehendale V, Prabhu K, Shetty R, Rao P. Correlation of serum homocysteine levels with the severity of coronary artery disease. *Indian J Clin Biochem.* 2014;29(3):339-344.
49. Nunomiya K, Shibata Y, Abe S, et al. Hyperhomocysteinaemia predicts the decline in pulmonary function in healthy male smokers. *Eur Respir J.* 2013;42(1):18-27.
50. Kai S, Nomura A, Morishima Y, et al. The effect of smoking-related hyperhomocysteinemia on spirometric declines in chronic obstructive pulmonary disease in elderly Japanese. *Arch Gerontol Geriatr.* 2006;42(2):117-124.
51. Gonzalez-Gross M, Sola R, Albers U, et al. B-vitamins and homocysteine in Spanish institutionalized elderly. *Int J Vitam Nutr Res.* 2007;77(1):22-33.

Captions of Figures

Figure 1. Flow chart of the volunteers' recruitment process.

Figure 2. Boltzmann's sigmoidal curve used to describe the ratio of erythrocyte lysis, given by absorbance at 540 nm, with NaCl concentration in a volunteer with CODP. H_{50} is the concentration of NaCl capable of promoting 50% hemolysis; dX is the change in salt concentration capable of promoting 100% hemolysis; A_{\min} is the minimum absorbance presented by the sample under isotonic condition with blood; and A_{\max} is the maximum absorbance associated with lysis of the whole erythrocyte population of the blood sample used in the test.

Figure 1

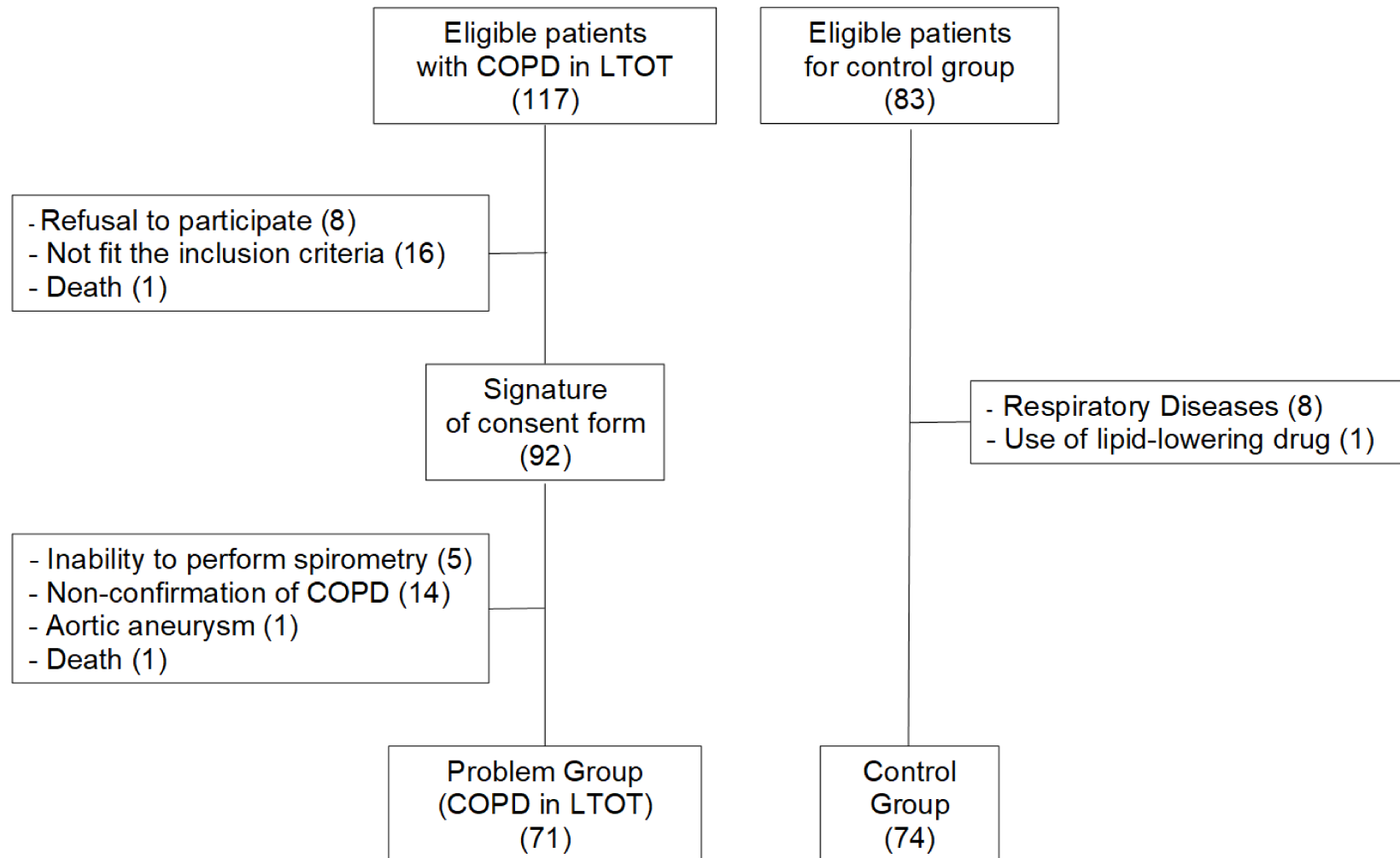


Figure 2

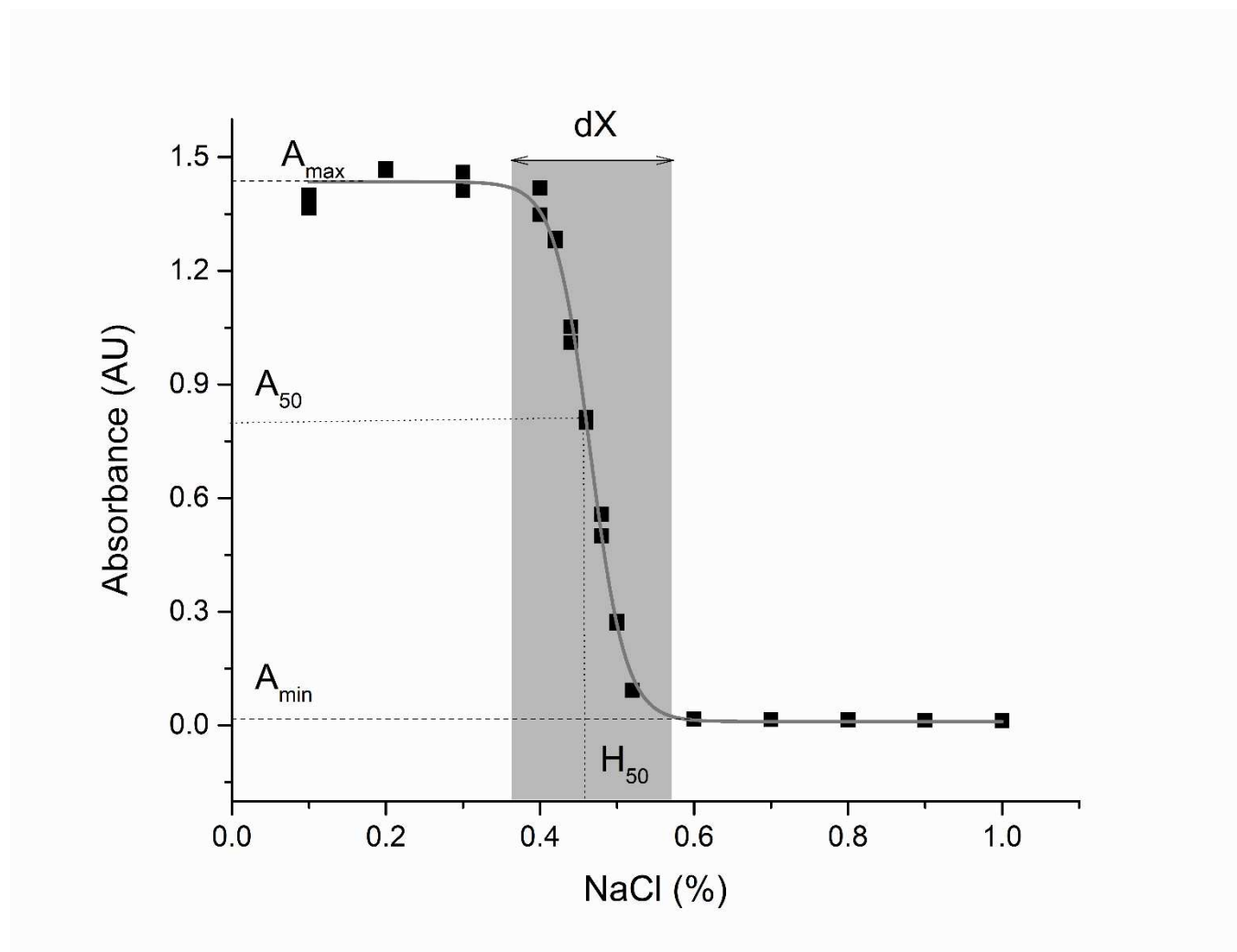


Table 1] Variables of anthropometric measures and pulmonary function of volunteers of control and problem (COPD in LTOT) groups

	Control	COPD/LTOT	p
Age (years)	70.4±10.6	72.5±10.0	0.181
Weight (kg)	70.0 (64.0-82.0)	69.0 (50.0-77.0)	0.003
Height (m)	1.66±0.07	1.65±0.08	0.479
BMI (kg/m ²)	26.4 (24.3-29.7)	23.1 (19.5-28.3)	< 0.001
6MWT (m)	509.2±90.4	284.4±126.9	< 0.001
6MWT _{pred} (%)	108.8±19.7	62.3±27.0	< 0.001
FEV _{1 pre-BD} (%)	103.0 (90.0-111.0)	35.0 (26.0-50.0)	< 0.001
FEV _{1 post-BD} (%)	105.0 (91.0-112.0)	37.5 (30.0-54.0)	< 0.001
FVC _{pre-BD} (%)	97.0±12.3	67.34±19.2	< 0.001
FVC _{post-BD} (%)	95.9±11.7	71.6±20.6	< 0.001
FEV ₁ /FVC _{pre-BD} (%)	79.0 (76.0-83.0)	40.0 (34.0-54.0)	< 0.001
FEV ₁ /FVC _{post-BD} (%)	82.0 (77.0-85.0)	39.5 (34.0-56.0)	< 0.001
pO ₂ (mmHg)	82.6±9.8	56.1±12.2	< 0.001
pCO ₂ (mmHg)	36.1 (34.8-39.0)	44 (38.1-50.8)	< 0.001
SaO ₂ (%)	96.1 (95.5-96.9)	88.2 (83.1-91.8)	< 0.001

*Values expressed as mean ± SD for variables with normal distribution, and median (IQR) for variables with non-parametric distribution.

Abbreviations: COPD, *chronic obstructive pulmonary disease*; LTOT, long-term oxygen therapy; BMI, body mass index; 6MWT, six-minute walk test; 6MWT_{pred}, percent (%) predicted 6MWT; FEV_{1 pre-BD}, forced expiratory volume in the first second before (pre) use of bronchodilator (BD); FEV_{1 post-BD}, forced expiratory volume in the first second after (post) use of BD; FVC_{pre-BD}, forced vital capacity before (pre) use of BD; FVC_{post-BD}, forced vital capacity after (post) use of BD; pO₂, oxygen partial pressure; pCO₂, partial pressure of carbon dioxide; SaO₂, arterial oxyhemoglobin saturation.

Table 2] Osmotic stability of erythrocytes, erythrogram and blood biochemistry of volunteers of the control and problem (COPD in LTOT) groups*

	Control	COPD/LTOT	p
dX (g/dL NaCl)	0.01 (0.01-0.02)	0.02 (0.01-0.02)	<0.001
1/H ₅₀ (g/dL NaCl) ⁻¹	2.3 (2.23-2.39)	2.32 (2.23-2.38)	0.472
A _{min} (abs)	0.02±0.01	0.01±0.01	0.01
A _{max} (abs)	1.26 (1.18-1.31)	1.24 (1.14-1.32)	0.321
RBC (million/mm ³)	4.84±0.52	4.7±0.81	0.126
Hb (g/dL)	14.6 (13.7-15.5)	13.9 (13.1-15.1)	0.023
Ht (%)	41.53±3.98	41.98±6.34	0.815
MCH (pg)	30.3 (29.1-31)	29.9 (28.5-31.2)	0.257
MCV (fL)	86.1 (83.2-88.3)	90.2 (86.8-93)	<0.001
MCHC (g/dL)	34.96±1.14	33.22±1.33	<0.001
RDW (%)	12.9 (12.3-13.3)	13.8 (13.1-14.6)	<0.001
Rtc (%)	0.7 (0.4-1.2)	0.5 (0.3-1.1)	0.08
Plt (10 ³ /mm ³)	209 (177-256)	226 (178-265)	0.222
MPV (fL)	10.4 (10-11)	10.4 (9.6-11.2)	0.569
WBC (10 ³ /mm ³)	6.3 (5.2-7.4)	7.4 (6.3-9.3)	<0.001
Eosinophil (10 ³ /mm ³)	179.2 (113.5-336.8)	238.7 (102.0-298.3)	0.112
tC (mg/dL)	183.95±35.6	171.57±34.99	0.033
TGC (mg/dL)	124.7 (96-189)	88 (75-117)	<0.001
HDL-C (mg/dL)	39 (34-46)	45 (38-53.9)	<0.001
LDL-C (mg/dL)	118 (98-134)	100 (82-119)	0.002
VLDL-C (mg/dL)	25 (19-38)	18 (15-24)	<0.001
Glu (mg/dL)	103 (96-113)	98 (91-107)	0.023
Urate (mg/dL)	6.2 (5.3-7.6)	6.1 (5-7.1)	0.431
HSA (g/dL)	4.28 (4.13-4.4)	4.07 (3.89-4.25)	<0.001
Fe (µg/dL)	105.43±28.86	89.25±34.96	0.002
TSI (%)	35.9 (28.46-46.03)	33.79 (24.91-43.27)	0.113
TIBC (µg/dL)	286.21±40.59	267.2±50.82	0.022
Ferritin (ng/mL)	240.8 (149.4-357)	190.2 (73.4-291.4)	0.042
B ₁₂ (pg/mL)	337.1 (267.7-471.7)	407.9 (286.7-556.6)	0.055
Folate (ng/mL)	11.48 (8.62-15.36)	7.96 (6.75-11.09)	<0.001

Hcy (micromol/L)	12.05 (9.98-15.05)	12.08 (9.63-16.26)	0.967
LDH (U/L)	174 (155-196)	183 (160-231)	0.09
HbA1c (%)	5.6 (5.3-5.9)	5.8 (5.3-6.3)	0.046
CRP (mg/dL)	0.16 (0.08-0.41)	0.52 (0.18-1.17)	<0.001
tB (mg/dL)	0.6 (0.45-0.78)	0.49 (0.37-0.64)	0.018
dB (mg/dL)	0.21 (0.16-0.27)	0.18 (0.14-0.24)	0.057
iB (mg/dL)	0.39 (0.29-0.53)	0.31 (0.22-0.42)	0.008

*Values expressed as mean \pm SD for variables with normal distribution, and median (IQR) for variables with non-parametric distribution.

Abbreviations: COPD, *Chronic obstructive pulmonary* disease; LTOT, long-term oxygen therapy; A_{\max} , absorbance at 540 nm associated with lysis of the entire erythrocyte population; A_{\min} , absorbance at 540 nm associated with the initial lysis of the erythrocyte population in isotonic medium with blood; $1/H_{50}$, inverse of NaCl concentration capable of promoting 50% hemolysis; dX, variation in NaCl concentration responsible for total hemolysis; BMI, body mass index; RBC, red blood cell; Hb, hemoglobin; Ht, hematocrit; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCV, mean corpuscular volume; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; RDW, red cell distribution width; Rtc, reticulocytes; Plt, platelets; MPV, mean platelet volume; WBC, white blood cells; t-C, total cholesterol; TGC, triglycerides; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; VLDL-C, very low-density lipoprotein cholesterol; Glu, glucose; Urate, uric acid; HSA, human serum albumin; Fe, serum iron; TSI, transferrin saturation index; TIBC, total iron binding capacity; B₁₂, B12 vitamin; Folate, folic acid; Hcy, homocysteine; LDH, lactate dehydrogenase; HbA1c, glycated hemoglobin; CRP, C-reactive protein; tB, total bilirubin; dB, direct bilirubin; iB, indirect bilirubin.

Table 3] Pearson (r) or Spearman (ρ) coefficient values for the significant correlations observed with erythrocyte membrane stability variables in volunteers with chronic obstructive pulmonary disease in long-term oxygen therapy

RBC Stability Variable	Other Variables	r or ρ	p
1/H _{so} (0)	BMI (0)	-0.33	0.005
	6MWT (1)	0.25	0.035
	6MWT _{pred} % (1)	-0.34	0.004
	FEV ₁ pre-BD (0)	-0.36	0.002
	FEV ₁ post-BD (0)	-0.35	0.003
	FEV ₁ /FVC _{pre-BD} (0)	-0.40	0.001
	FEV ₁ /FVC _{post-BD} (0)	-0.39	0.001
	FEV ₁ /SVC _{pre-BD} (0)	-0.41	0.001
	FEV ₁ /SVC _{post-BD} (0)	-0.37	0.003
	pCO ₂ (0)	-0.24	0.041
	HCO ₃ (1)	-0.25	0.035
	TGC (0)	-0.29	0.014
	VLDL-C (0)	-0.29	0.015
B ₁₂ (0)	0.24	0.045	
dX (0)	A _{min} (1)	-0.42	< 0.001
	RDW (0)	0.32	0.007
	Fe (1)	-0.24	0.043
	dB (0)	0.25	0.039
A _{min} (1)	FEV ₁ pre-BD (0)	0.25	0.038
	FEV ₁ /FVC _{pre-BD} (0)	0.25	0.039
	FEV ₁ /FVC _{post-BD} (0)	0.24	0.050
	pCO ₂ (0)	-0.24	0.041
	HCO ₃ (1)	-0.27	0.025

The digits 0 and 1 written in parentheses after the variable name indicate non normal and normal distribution, respectively. Associations between pairs of variables with normal distribution were analyzed by Pearson's correlation and described by the coefficient r. Associations involving one or both variables with non-normal distribution were analyzed by Spearman's correlation and described by the coefficient ρ .

REFERÊNCIAS

ABAD, C. et al. Effect of magnesium sulfate on the osmotic fragility and lipid peroxidation of intact red blood cells from pregnant women with severe preeclampsia. **Hypertens Pregnancy**, v. 29, n. 1, p. 38-53, Jan 2010. ISSN 1525-6065 (Electronic) 1064-1955 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19412839> >. <https://doi.org/10.3109/10641950902777713>

AGUSTI, A.; SORIANO, J. B. COPD as a systemic disease. **COPD**, v. 5, n. 2, p. 133-8, Apr 2008. ISSN 1541-2555 (Print) 1541-2563 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18415812> >. <https://doi.org/10.1080/15412550801941349>

AKI, H.; YAMAMOTO, M. Drug binding to human erythrocytes in the process of ionic drug-induced hemolysis. Flow microcalorimetric approaches. **Biochem Pharmacol**, v. 41, n. 1, p. 133-8, Jan 1 1991. ISSN 0006-2952 (Print) 0006-2952 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1986737> >. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(91\)90021-V](https://doi.org/10.1016/0006-2952(91)90021-V)

ALBERTS, B. et al. **Biologia molecular da célula**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997.

ALDRICH, K.; SAUNDERS, D. K. Comparison of erythrocyte osmotic fragility among ectotherms and endotherms at three temperatures. **Journal of Thermal Biology**, v. 26, n. 3, p. 179-182, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0306-4565\(00\)00040-1](https://doi.org/10.1016/S0306-4565(00)00040-1).

ALVES DE REZENDE, C. H. et al. Dependence of the geriatric depression scores on age, nutritional status, and haematologic variables in elderly institutionalized patients. **J Nutr Health Aging**, v. 13, n. 7, p. 617-21, Aug 2009. ISSN 1760-4788 (Electronic) 1279-7707 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19621197> >.

ANDERSSON, I. et al. Vitamin and mineral status in elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease. **Clin Respir J**, v. 1, n. 1, p. 23-9, Jul 2007. ISSN 1752-699X (Electronic) 1752-6981 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20298274> >. <https://doi.org/10.1111/j.1752-699X.2007.00003.x>

ARVELOS, C. C. C. **Influência de combinações de diferentes caotrópicos no espectro visível da hemoglobina e na estabilidade de membrana de eritrócitos humanos**. 2011. 95 f. (Tese). Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

ATS. Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease. . **Am J Respir Crit Care Med**, v. 152, n. 5 Pt 2, p. S77-121, Nov 1995. ISSN 1073-449X (Print) 1073-449X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7582322> >.

_____. Statement: Guidelines for the Six-Minute Walk Test. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 166, p. 111-117, 2002. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.166.1.at1102>

BARNES, P. J. Chronic obstructive pulmonary disease. **N Engl J Med**, v. 343, n. 4, p. 269-80, Jul 27 2000. ISSN 0028-4793 (Print) 0028-4793 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10911010> >. <https://doi.org/10.1056/NEJM200007273430407>

_____. Role of HDAC2 in the pathophysiology of COPD. **Annu Rev Physiol**, v. 71, p. 451-64, 2009. ISSN 1545-1585 (Electronic) 0066-4278 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18817512> >. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.010908.163257>

BARNES, P. J.; CELLI, B. R. Systemic manifestations and comorbidities of COPD. **Eur Respir J**, v. 33, n. 5, p. 1165-85, May 2009. ISSN 1399-3003 (Electronic) 0903-1936 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19407051> >. <https://doi.org/10.1183/09031936.00128008>

BARNES, P. J.; SHAPIRO, S. D.; PAUWELS, R. A. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms. **Eur Respir J**, v. 22, n. 4, p. 672-88, Oct 2003. ISSN 0903-1936 (Print) 0903-1936 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14582923> >. <https://doi.org/10.1183/09031936.03.00040703>

BASZCZUK, A.; KOPCZYNSKI, Z. [Hyperhomocysteinemia in patients with cardiovascular disease]. **Postepy Hig Med Dosw (Online)**, v. 68, p. 579-89, Jan 2 2014. ISSN 1732-2693 (Electronic) 0032-5449 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24864108> >. <https://doi.org/10.5604/17322693.1102340>

BAUTISTA, M. L. et al. Cord blood red cell osmotic fragility: a comparison between pre-term and full-term newborn infants. **Early Human Development**, v. 72, n. 1, p. 37-46, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0378-3782\(03\)00009-4](https://doi.org/10.1016/S0378-3782(03)00009-4)

BENNETT, V.; STENBUCK, P. J. The membrane attachment protein for spectrin is associated with band 3 in human erythrocyte membranes. **Nature**, v. 280, n. 5722, p. 468-473, 1979.

BERNARDINO NETO, M. **Análises de correlações entre estabilidade de membrana de eritrócitos, níveis séricos de lipídeos e variáveis hematimétricas**. 2011. 100 f. (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

BERNARDINO NETO, M. et al. Bivariate and multivariate analyses of the correlations between stability of the erythrocyte membrane, serum lipids and hematological variables. **Biorheology**, v. 50, n. 5-6, p. 305-20, 2013. ISSN 1878-5034 (Electronic) 0006-355X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24398611> >. <https://doi.org/10.3233/BIR-130641>

BESTALL, J. et al. Usefulness of the Medical Research Council (MRC) dyspnoea scale as a measure of disability in patients with chronic obstructive pulmonary disease. **Thorax**, v. 54, n. 7, p. 581-586, 1999. <http://dx.doi.org/10.1136/thx.54.7.581>

BORGES-OSÓRIO, M. R.; ROBINSON, W. M. **Genética Humana**. Porto Alegre: Artmed, 2013. ISBN 978-85-65852-90-6.

BRANTON, D.; COHEN, C. M.; TYLER, J. Interaction of cytoskeletal proteins on the human erythrocyte membrane. **Cell**, v. 24, n. 1, p. 24-32, Apr 1981. ISSN 0092-8674 (Print) 0092-8674 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6453651> >. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(81\)90497-9](https://doi.org/10.1016/0092-8674(81)90497-9)

BUCH, A. C. et al. Role of red cell distribution width in classifying microcytic hypochromic anaemia. **J Indian Med Assoc**, v. 109, n. 5, p. 297-9, May 2011. ISSN 0019-5847 (Print) 0019-5847 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22187759> >.

BUKOWSKA, B. et al. Oxidative stress and damage to erythrocytes in patients with chronic obstructive pulmonary disease--changes in ATPase and acetylcholinesterase activity. **Biochem Cell Biol**, v. 93, n. 6, p. 574-80, Dec 2015. ISSN 1208-6002 (Electronic) 0829-8211 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26369587> >. <https://doi.org/10.1139/bcb-2015-0066>

BUSSAB, W. O.; MORETIN, P. A. Estatística Básica. **São Paulo: Saraiva**, v. 8a edição, 2013.

CALISKAN, S. et al. Effect of simvastatin therapy on blood and tissue ATP levels and erythrocyte membrane lipid composition. **Res Exp Med (Berl)**, v. 199, n. 4, p. 189-94, Feb 2000. ISSN 0300-9130 (Print) 0300-9130 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10743676> >.

CAMPBELL, M. K. **Bioquímica**). . Porto Alegre, Brasil: Artmed., 2000.

CAMPOS, H. S. O preço da DPOC. **Pulmão**, v. 13, n. 1, p. 5-7, 2004.

CAMPOS, H. S. Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica: mais do que apenas uma doença pulmonar. **Boletim de Pneumologia Sanitária**, v. 14, n. 1, p. 27-32, 2006.

CAVALCANTE, A. G. M.; BRUINN, P. F. C. O papel do estresse oxidativo na DPOC: conceitos e atuais perspectivas. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 35, n. 12, p. 1227-1237, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132009001200011>

CAVILL, I. Erythropoiesis and iron. **Best Pract Res Clin Haematol**, v. 15, n. 2, p. 399-409, Jun 2002. ISSN 1521-6926 (Print) 1521-6926 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12401314> >. <https://doi.org/10.1053/beha.2002.0004>

CHAOUAT, A. et al. A randomized trial of nocturnal oxygen therapy in chronic obstructive pulmonary disease patients. **Eur Respir J**, v. 14, p. 1002-1008, 1999.

CHASIS, J. A.; MOHANDAS, N. Erythrocyte membrane deformability and stability: two distinct membrane properties that are independently regulated by skeletal protein associations. **The journal of cell biology**, v. 103, n. 2, p. 343-350, 1986. <https://doi.org/10.1083/jcb.103.2.343>

CHASIS, J. A.; SHOHET, S. B. Red cell biochemical anatomy and membrane properties. **Annu Rev Physiol**, v. 49, p. 237-48, 1987. ISSN 0066-4278 (Print) 0066-4278 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3551800> >. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.49.030187.001321>

CHENG, S. L. et al. Genetic polymorphism of epoxide hydrolase and glutathione S-transferase in COPD. **Eur Respir J**, v. 23, n. 6, p. 818-24, Jun 2004. ISSN 0903-1936 (Print) 0903-1936 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15218992> >. <https://doi.org/10.1183/09031936.04.00104904>

COHEN, C. M. The molecular organization of the red cell membrane skeleton. **Semin Hematol**, v. 20, n. 3, p. 141-58, Jul 1983. ISSN 0037-1963 (Print) 0037-1963 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6226100> >. <https://doi.org/10.1056/NEJM197708182970707>

COOPER, R. A. Abnormalities of cell-membrane fluidity in the pathogenesis of disease. **N Engl J Med**, v. 297, n. 7, p. 371-7, Aug 18 1977. ISSN 0028-4793 (Print) 0028-4793 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/327326> >. <https://doi.org/10.1056/NEJM197708182970707>

COOPER, R. A. et al. Modification of red cell membrane structure by cholesterol-rich lipid dispersions. A model for the primary spur cell defect. **J Clin Invest**, v. 55, n. 1, p. 115-26, Jan 1975. ISSN 0021-9738 (Print) 0021-9738 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/162782> >. <https://doi.org/10.1172/JCI107901>

COPPOLA, L. et al. Hemorheological and cardiovascular effects of exercise training in the rehabilitation of elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v. 28, p. 1-8, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0167-4943\(98\)00115-0](https://doi.org/10.1016/S0167-4943(98)00115-0)

CRIBIER, S.; MORROT, G.; ZACHOWSKI, A. Dynamics of the membrane lipid phase. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 48, n. 1, p. 27-32, Jan 1993. ISSN 0952-3278 (Print) 0952-3278 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8424120> >. [https://doi.org/10.1016/0952-3278\(93\)90006-I](https://doi.org/10.1016/0952-3278(93)90006-I)

CULLIS, P. R.; DE KRUIJFF, B. Lipid polymorphism and the functional roles of lipids in biological membranes. **Biochim Biophys Acta**, v. 559, n. 4, p. 399-420, Dec 20 1979. ISSN 0006-3002 (Print) 0006-3002 (Linking). Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/391283> >. [https://doi.org/10.1016/0304-4157\(79\)90012-1](https://doi.org/10.1016/0304-4157(79)90012-1)

CULVER, B. H. et al. Recommendations for a Standardized Pulmonary Function Report. An Official American Thoracic Society Technical Statement. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 196, n. 11, p. 1463-1472, Dec 1 2017. ISSN 1535-4970 (Electronic) 1073-449X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29192835> >. <https://doi.org/10.1164/rccm.201710-1981ST>

CUNHA, C. C. et al. Effects of glycerol on the thermal dependence of the stability of human erythrocytes. **J Bioenerg Biomembr**, v. 39, n. 4, p. 341-7, Aug 2007. ISSN 0145-479X (Print) 0145-479X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17917799> >. <https://doi.org/10.1007/s10863-007-9092-z>

CUNHA, L. M. et al. Kinetics of hypotonic lysis of human erythrocytes. **Analytical Methods**, v. 6, n. 5, p. 1377, 2014. ISSN 1759-9660/1759-9679. <https://doi.org/10.1039/C3AY41404C>

DE ARVELOS, L. R. et al. Bivariate and multivariate analyses of the influence of blood variables of patients submitted to Roux-en-Y gastric bypass on the stability of erythrocyte membrane against the chaotropic action of ethanol. **J Membr Biol**, v. 246, n. 3, p. 231-42, Mar 2013. ISSN 1432-1424 (Electronic) 0022-2631 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23344659> >. <https://doi.org/10.1007/s00232-013-9524-0>

DE FREITAS, M. V. et al. Influence of the use of statin on the stability of erythrocyte membranes in multiple sclerosis. **J Membr Biol**, v. 233, n. 1-3, p. 127-34, Feb 2010. ISSN 1432-1424 (Electronic) 0022-2631 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20146058> >. <https://doi.org/10.1007/s00232-010-9232-y>

DE FREITAS, M. V. et al. Influence of age on the correlations of hematological and biochemical variables with the stability of erythrocyte membrane in relation to sodium dodecyl sulfate. **Hematology**, Nov 28 2013. ISSN 1607-8454 (Electronic) 1024-5332 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24290772> >. <https://doi.org/10.1179/1607845413Y.0000000145>

DE FREITAS, M. V. et al. Influence of aqueous crude extracts of medicinal plants on the osmotic stability of human erythrocytes. **Toxicol In Vitro**, v. 22, n. 1, p. 219-24, Feb 2008. ISSN 0887-2333 (Print) 0887-2333 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17855047> >. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2007.07.010>

DI, L. et al. Effect of asymmetric distribution of phospholipids in ghost membrane from rat blood on peroxidation induced by ferrous ion. **FEBS Lett**, v. 580, n. 2, p. 685-90, Jan 23 2006. ISSN 0014-5793 (Print) 0014-5793 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16412425> >. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.12.056>

ENRIGHT, P. L.; SHERRILL, D. L. Reference equations for the six-minute walk in healthy adults. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 158, n. 5 Pt 1, p. 1384-7, Nov 1998. ISSN 1073-449X (Print) 1073-449X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9817683> >. <https://doi.org/10.1164/airccm.158.5.9710086>

FABBRI, L. M.; RABE, K. F. From COPD to chronic systemic inflammatory syndrome? **Lancet**, v. 370, n. 9589, p. 797-9, Sep 1 2007. ISSN 1474-547X (Electronic) 0140-6736 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17765529> >. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61383-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61383-X)

FIMOGNARI, F. L. et al. Hyperhomocysteinaemia and poor vitamin B status in chronic obstructive pulmonary disease. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v. 19, n. 9, p. 654-9, Nov 2009. ISSN 1590-3729 (Electronic) 0939-4753 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19282159> >. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2008.12.006>

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, n. 6809, p. 239-47, Nov 9 2000. ISSN 0028-0836 (Print) 0028-0836 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11089981> >. <https://doi.org/10.1038/35041687>

FLETCHER, C.; PETO, R. The natural history of chronic airflow obstruction. **Br Med J**, v. 1, n. 6077, p. 1645-8, Jun 25 1977. ISSN 0007-1447 (Print) 0007-1447 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/871704> >.

FONSECA, L. C. et al. Influence of the albumin concentration and temperature on the lysis of human erythrocytes by sodium dodecyl sulfate. **J Bioenerg Biomembr**, v. 42, n. 5, p. 413-8, Oct 2010. ISSN 1573-6881 (Electronic) 0145-479X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20857184> >. <https://doi.org/10.1007/s10863-010-9310-y>

GANGOPADHYAY, S.; VIJAYAN, V. K.; BANSAL, S. K. Lipids of erythrocyte membranes of COPD patients: a quantitative and qualitative study. **COPD**, v. 9, n. 4, p. 322-31, Aug 2012. ISSN 1541-2563 (Electronic) 1541-2563 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22497562> >. <https://doi.org/10.3109/15412555.2012.668581>

GARCIA, J. J. et al. Effects of trace elements on membrane fluidity. **J Trace Elem Med Biol**, v. 19, n. 1, p. 19-22, 2005. ISSN 0946-672X (Print) 0946-672X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16240667> >. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.07.007>

GOLD. Global Strategy for the Diagnosis Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2013. Acesso em: 11/02.

_____. Global Strategy for the Diagnosis Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2017. Disponível em: < <http://goldcopd.org> >. Acesso em: 01/22.

_____. Global Strategy for the Diagnosis Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2018. Acesso em: 02/10.

GOLD, D. R. et al. Effects of cigarette smoking on lung function in adolescent boys and girls. **N Engl J Med**, v. 335, n. 13, p. 931-7, Sep 26 1996. ISSN 0028-4793 (Print) 0028-4793 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8782500> >. <https://doi.org/10.1056/NEJM199609263351304>

GONZALEZ-GROSS, M. et al. B-vitamins and homocysteine in Spanish institutionalized elderly. **Int J Vitam Nutr Res**, v. 77, n. 1, p. 22-33, Jan 2007. ISSN 0300-9831 (Print) 0300-9831 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17685092> >. <https://doi.org/10.1024/0300-9831.77.1.22>

HAILD, P. et al. Long-term oxygen therapy stops the natural decline of endurance in COPD patients with reversible hypercapnia. **Respiration**, v. 71, n. 4, p. 342-7, Jul-Aug 2004. ISSN 0025-7931 (Print) 0025-7931 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15316206> >. <https://doi.org/10.1159/000079637>

HLADKY, S. B.; RINK, T. J. Osmotic behaviour of human red blood cells: an interpretation in terms of negative intracellular fluid pressure. **J Physiol**, v. 274, p. 437-46, Jan 1978. ISSN 0022-3751 (Print) 0022-3751 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24115> >. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1978.sp012158>

JAGOE, R. T.; ENGELEN, M. P. Muscle wasting and changes in muscle protein metabolism in chronic obstructive pulmonary disease. **Eur Respir J Suppl**, v. 46, p. 52s-63s, Nov 2003. ISSN 0904-1850 (Print) 0904-1850 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14621107> >. <https://doi.org/10.1183/09031936.03.00004608>

JAIN, N. C. Osmotic fragility of erythrocytes of dogs and cats in health and in certain hematologic disorders. **Cornell Vet**, v. 63, n. 3, p. 411-23, Jul 1973. ISSN 0010-8901 (Print) 0010-8901 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4782558> >.

JARDIM, J. R.; OLIVEIRA, J. A.; NASCIMENTO, O. II Congresso Brasileiro de DPOC/SBPT. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 30, n. 5, p. S1-S42, 2004.

KAI, S. et al. The effect of smoking-related hyperhomocysteinemia on spirometric declines in chronic obstructive pulmonary disease in elderly Japanese. **Arch Gerontol Geriatr**, v. 42, n. 2, p. 117-24, Mar-Apr 2006. ISSN 0167-4943 (Print) 0167-4943 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16125804> >. <https://doi.org/10.1016/j.archger.2005.06.003>

KANAZAWA, H.; YOSHIKAWA, J. Elevated oxidative stress and reciprocal reduction of vascular endothelial growth factor levels with severity of COPD. **Chest**, v. 128, n. 5, p. 3191-7, Nov 2005. ISSN 0012-3692 (Print) 0012-3692 (Linking). Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16304261> >.

<https://doi.org/10.1378/chest.128.5.3191>

KRUIDENIER, L. et al. Intestinal oxidative damage in inflammatory bowel disease: semi-quantification, localization, and association with mucosal antioxidants. **J Pathol**, v. 201, n. 1, p. 28-36, Sep 2003. ISSN 0022-3417 (Print) 0022-3417 (Linking). Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12950014> >. <https://doi.org/10.1002/path.1409>

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 3, p. 293-303, 2001.

MACHADO, M. C. L. O. **Oxigenoterapia Domiciliar**. Guia de Pneumologia, 2006.

MACNEE, W. Oxidants/antioxidants and COPD. **Chest**, v. 117, n. 5 Suppl 1, p. 303S-17S, May 2000. ISSN 0012-3692 (Print) 0012-3692 (Linking). Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10843965> >.

https://doi.org/10.1378/chest.117.5_suppl_1.303S-a

_____. Oxidative stress and lung inflammation in airways disease. **Eur J Pharmacol**, v. 429, n. 1-3, p. 195-207, Oct 19 2001. ISSN 0014-2999 (Print) 0014-2999 (Linking). Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11698041> >. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(01\)01320-6](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(01)01320-6)

MARCHESI, V. T. The red cell membrane skeleton: recent progress. **Blood**, v. 61, n. 1, p. 1-11, Jan 1983. ISSN 0006-4971 (Print) 0006-4971 (Linking). Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6293625> >.

MARKS, P. A.; JOHNSON, A. B. Relationship between the age of human erythrocytes and their osmotic resistance. **Journal of Clinical Investigation**, v. 11, n. 37, p. 1542-1548, 1958.

<https://doi.org/10.1172/JCI103746>

MARTINEZ, M. et al. The cholesterol/phospholipid ratio of the erythrocyte membrane in children with familial hypercholesterolemia. Its relationship with plasma lipids and red blood cell aggregability. **Clin Hemorheol Microcirc**, v. 18, n. 4, p. 259-63, Jul 1998. ISSN 1386-0291 (Print) 1386-0291 (Linking). Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9741666> >.

MARTINEZ, M. et al. Erythrocyte membrane cholesterol/phospholipid changes and hemorheological modifications in familial hypercholesterolemia treated with lovastatin. **Thromb Res**, v. 83, n. 5, p. 375-88, Sep 1 1996. ISSN 0049-3848 (Print) 0049-3848 (Linking). Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8873346> >.

[https://doi.org/10.1016/0049-3848\(96\)00147-8](https://doi.org/10.1016/0049-3848(96)00147-8)

MASCARENHAS-NETO, R. C. **Estabilidade de membrana de eritrócitos em portadores de depressão**. . 2009. 103 f. (Mestrado). Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

MASCARENHAS NETTO, R. C. et al. Influence of Plasmodium vivax malaria on the relations between the osmotic stability of human erythrocyte membrane and hematological and biochemical variables. **Parasitol Res**, v. 113, n. 3, p. 863-74, Mar 2014. ISSN 1432-1955 (Electronic) 0932-0113 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24322291> >. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3717-4>

MCNEIL, P. L.; STEINHARDT, R. A. Loss, restoration, and maintenance of plasma membrane integrity. **J Cell Biol**, v. 137, n. 1, p. 1-4, Apr 7 1997. ISSN 0021-9525 (Print) 0021-9525 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9105031> >. <https://doi.org/10.1083/jcb.137.1.1>

MEISELMAN, H. J. Morphological determinants of red cell deformability. **Scand J Clin Lab Invest Suppl**, v. 156, p. 27-34, 1981. ISSN 0085-591X (Print) 0085-591X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6948391> >. <https://doi.org/10.3109/00365518109097426>

MEMON, N. et al. Inherited disorders of bilirubin clearance. **Pediatr Res**, v. 79, n. 3, p. 378-86, Mar 2016. ISSN 1530-0447 (Electronic) 0031-3998 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26595536> >. <https://doi.org/10.1038/pr.2015.247>

MENEZES, A. M. et al. Chronic obstructive pulmonary disease in five Latin American cities (the PLATINO study): a prevalence study. **Lancet**, v. 366, n. 9500, p. 1875-81, Nov 26 2005. ISSN 1474-547X (Electronic) 0140-6736 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16310554> >. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67632-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67632-5)

MICHALSKA-MALECKA, K. et al. Correlations in some pathogenic factors and values of hemorheological parameters in age-related macular degeneration. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, v. 38, n. 3, p. 209-216, 2008.

MINEO, H.; HARA, H. Structure-dependent and receptor-independent increase in osmotic fragility of rat erythrocytes by short-chain fatty acids. **Biochim Biophys Acta**, v. 1713, n. 2, p. 113-7, Jul 30 2005. ISSN 0006-3002 (Print) 0006-3002 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15963944> >. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2005.05.007>

MOECKEL, G. W. et al. Organic osmolytes betaine, sorbitol and inositol are potent inhibitors of erythrocyte membrane ATPases. **Life Sci**, v. 71, n. 20, p. 2413-24, Oct 4 2002. ISSN 0024-3205 (Print) 0024-3205 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12231402> >. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(02\)02035-0](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(02)02035-0)

MOHANDAS, N.; GALLAGHER, P. G. Red cell membrane: past, present, and future. **Blood**, v. 112, n. 10, p. 3939-48, Nov 15 2008. ISSN 1528-0020 (Electronic) 0006-4971 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18988878> >. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-07-161166>

MRC. Long term domiciliary oxygen therapy in chronic hypoxic cor pulmonale complicating chronic bronchitis and emphysema. Report of the Medical Research Council Working Party. **Lancet**, v. 1, n. 8222, p. 681-6, Mar 28 1981. ISSN 0140-6736 (Print) 0140-6736 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6110912> >. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(81\)91970-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(81)91970-X)

MUTUS, B. et al. Cellular resistance to homocysteine: a key for longevity. **Atherosclerosis**, v. 152, n. 2, p. 527-8, Oct 2000. ISSN 0021-9150 (Print) 0021-9150 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11203425> >. [https://doi.org/10.1016/S0021-9150\(00\)00546-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9150(00)00546-3)

NAZIR, S. A.; ERBLAND, M. L. Chronic Obstructive Pulmonary Disease An Update on Diagnosis and Management Issues in Older Adults. **Drugs Aging**, v. 26, n. 10, p. 813-831, 2009. <https://doi.org/10.2165/11316760-000000000-00000>

NEDER, J. A.; NERY, L. E. **Fisiologia Clínica do exercício teoria e prática**. São Paulo: Artes médicas. 2002.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**. New York: Worth, 2008.

NOTT. Continuous or nocturnal oxygen therapy in hypoxemic chronic obstructive lung disease: a clinical trial. Nocturnal Oxygen Therapy Trial Group. **Ann Intern Med**, v. 93, n. 3, p. 391-8, Sep 1980. ISSN 0003-4819 (Print) 0003-4819 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6776858> >. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-93-3-391>

NUNOMIYA, K. et al. Hyperhomocysteinaemia predicts the decline in pulmonary function in healthy male smokers. **Eur Respir J**, v. 42, n. 1, p. 18-27, Jul 2013. ISSN 1399-3003 (Electronic) 0903-1936 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23143543> >. <https://doi.org/10.1183/09031936.00066212>

O'DONNELL, D. E.; REVILL, S. M.; WEBB, K. A. Dynamic hyperinflation and exercise intolerance in chronic obstructive pulmonary disease. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 164, n. 5, p. 770-7, Sep 1 2001. ISSN 1073-449X (Print) 1073-449X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11549531> >. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.164.5.2012122>

OLIVEIRA, J. C. A. Doença pulmonar Obstrutiva Crônica. . **Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. Projeto Diretrizes – Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina**, 2001.

OWEN, C. A. Proteinases and oxidants as targets in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease. **Proc Am Thorac Soc**, v. 2, n. 4, p. 373-85; discussion 394-5, 2005. ISSN 1546-3222 (Print) 1546-3222 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16267366> >. <https://doi.org/10.1513/pats.200504-029SR>

PARAISO, L. F. et al. Effects of acute and chronic exercise on the osmotic stability of erythrocyte membrane of competitive swimmers. **PLoS One**, v. 12, n. 2, p. e0171318, 2017. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28151958> >. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171318>

PARK, H. S.; KIM, S. R.; LEE, Y. C. Impact of oxidative stress on lung diseases. **Respirology**, v. 14, n. 1, p. 27-38, Jan 2009. ISSN 1440-1843 (Electronic) 1323-7799 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19144046> >. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1843.2008.01447.x>

PAUWELS, R. A. et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) Workshop summary. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 163, n. 5, p. 1256-76, Apr 2001. ISSN 1073-449X (Print) 1073-449X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11316667> >. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.163.5.2101039>

PENHA-SILVA, N. et al. Effects of glycerol and sorbitol on the thermal dependence of the lysis of human erythrocytes by ethanol. **Bioelectrochemistry**, v. 73, n. 1, p. 23-9, Jun 2008. ISSN 1567-5394 (Print) 1567-5394 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18495554> >. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2008.04.002>

PENHA-SILVA, N. et al. Influence of age on the stability of human erythrocyte membranes. **Mech Ageing Dev**, v. 128, n. 7-8, p. 444-9, Jul-Aug 2007. ISSN 0047-6374 (Print) 0047-6374 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17681589> >. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2007.06.007>

PERK, K.; FREI, Y. F.; HERZ, A. Osmotic Fragility of Red Blood Cells of Young and Mature Domestic and Laboratory Animals. **Am J Vet Res**, v. 25, p. 1241-8, Jul 1964. ISSN 0002-9645 (Print) 0002-9645 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14266876> >.

PESSÔA, C. L. C.; PESSÔA, R. S. Epidemiologia da DPOC no presente- aspectos nacionais e internacionais. **Pulmão – atualizações temáticas**, v. 1, n. 1, p. 7-12, 2009.

POLLARD, A.; WYN JONES, R. G. Enzyme activities in concentrated solutions of glycinebetaine and other solutes. **Planta**, v. 144, n. 3, p. 291-298, 1979. <https://doi.org/10.1007/BF00388772>

POULAIN, M. et al. 6-minute walk testing is more sensitive than maximal incremental cycle testing for detecting oxygen desaturation in patients with COPD. **Chest**, v. 123, n. 5, p. 1401-1407, 2003. <https://doi.org/10.1378/chest.123.5.1401>

RAJENDRASOZHAN, S. et al. Deacetylases and NF-kappaB in redox regulation of cigarette smoke-induced lung inflammation: epigenetics in pathogenesis of COPD. **Antioxid Redox Signal**, v. 10, n. 4, p. 799-811, Apr 2008. ISSN 1523-0864 (Print) 1523-0864 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18220485> >. <https://doi.org/10.1089/ars.2007.1938>

RAWAL, G.; YADAV, S. Nutrition in chronic obstructive pulmonary disease: A review. **J Transl Int Med**, v. 3, n. 4, p. 151-154, Oct-Dec 2015. ISSN 2450-131X (Print) 2224-4018 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27847905> >. <https://doi.org/10.1515/itim-2015-0021>

RIFKIND, J. M.; ARAKI, K.; HADLEY, E. C. The relationship between the osmotic fragility of human erythrocytes and cell age. **Archives of Biochemistry and Biophysic**, v. 222, n. 2, p. 582-589, 1983. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(83\)90556-8](https://doi.org/10.1016/0003-9861(83)90556-8)

RODRIGUES DE FREITAS, M. A. et al. 59 Influence of severe preeclampsia on the relations of the stability of erythrocyte membrane with biochemical and hematological variables and Doppler indices of the ophthalmic artery. **Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health**, v. 6, n. 3, p. 206, 2016. ISSN 22107789. <https://doi.org/10.1016/j.preghy.2016.08.141>

RODRIGUES, S. L.; VIEGAS, C. A. A.; LIMA, T. Efetividade da reabilitação pulmonar como tratamento coadjuvante da doença pulmonar obstrutiva crônica. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 28, p. 65-70, 2002. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-35862002000200002>

SANTINI, M. T. et al. Structural alterations in erythrocytes from patients with chronic obstructive pulmonary disease. **Haemostasis**, v. 27, n. 4, p. 201-10, Jul-Aug 1997. ISSN 0301-0147 (Print) 0301-0147 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9483175> >. <https://doi.org/10.1159/000217458>

SARKAR, M.; RAJTA, P. N.; KHATANA, J. Anemia in Chronic obstructive pulmonary disease: Prevalence, pathogenesis, and potential impact. **Lung India**, v. 32, n. 2, p. 142-51, Mar-Apr 2015. ISSN 0970-2113 (Print) 0970-2113 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25814799> >. <https://doi.org/10.4103/0970-2113.152626>

SBPT, S. B. D. P. E. T.-. Oxigenoterapia Domiciliar prolongada (ODP). **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 26, p. 341-350, 2000. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-35862000000600011>

_____. Consenso de Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, p. S1-S52, 2004.

SCHICK, B. P.; SCHICK, P. K. Cholesterol exchange in platelets, erythrocytes and megakaryocytes. **Biochim Biophys Acta**, v. 833, n. 2, p. 281-90, Feb 8 1985. ISSN 0006-3002 (Print) 0006-3002 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3918573> >.

SCHOLS, A. M. Nutrition in chronic obstructive pulmonary disease. **Curr Opin Pulm Med**, v. 6, n. 2, p. 110-5, Mar 2000. ISSN 1070-5287 (Print) 1070-5287 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10741769> >.

SCHOLS, A. M. et al. Weight loss is a reversible factor in the prognosis of chronic obstructive pulmonary disease. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 157, n. 6 Pt 1, p. 1791-7, Jun 1998. ISSN 1073-449X (Print) 1073-449X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9620907> >.
<https://doi.org/10.1164/ajrccm.157.6.9705017>

SCHOLS, A. M. et al. Prevalence and characteristics of nutritional depletion in patients with stable COPD eligible for pulmonary rehabilitation. **Am Rev Respir Dis**, v. 147, n. 5, p. 1151-6, May 1993. ISSN 0003-0805 (Print) 0003-0805 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8484624> >.
<https://doi.org/10.1164/ajrccm/147.5.1151>

SEEMAN, P. Erythrocyte membrane stabilization by local anesthetics and tranquilizers. **Biochemical Pharmacology**, v. 15, n. 11, p. 1753-1762, 1966. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(66\)90082-7](https://doi.org/10.1016/0006-2952(66)90082-7)

SELECKY, P. A. et al. Palliative and end-of-life care for patients with cardiopulmonary diseases: American College of Chest Physicians position statement. **Chest**, v. 128, n. 5, p. 3599-610, Nov 2005. ISSN 0012-3692 (Print) 0012-3692 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16304319> >.
<https://doi.org/10.1378/chest.128.5.3599>

SHENOY, V. et al. Correlation of serum homocysteine levels with the severity of coronary artery disease. **Indian J Clin Biochem**, v. 29, n. 3, p. 339-44, Jul 2014. ISSN 0970-1915 (Print) 0970-1915 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24966483> >.
<https://doi.org/10.1007/s12291-013-0373-5>

SIAFAKAS, N. M. et al. Optimal assessment and management of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The European Respiratory Society Task Force. **Eur Respir J**, v. 8, n. 8, p. 1398-420, Aug 1995. ISSN 0903-1936 (Print) 0903-1936 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7489808> >.
<https://doi.org/10.1183/09031936.95.08081398>

SILVA-HERDADE, A. S. et al. Erythrocyte deformability - A partner of the inflammatory response. **Microvasc Res**, v. 107, p. 34-8, Sep 2016. ISSN 1095-9319 (Electronic) 0026-2862 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27142964> >.
<https://doi.org/10.1016/j.mvr.2016.04.011>

SIMIŁOWSKI, T. et al. The potential impact of anaemia of chronic disease in COPD. **Eur Respir J**, v. 27, n. 2, p. 390-6, Feb 2006. ISSN 0903-1936 (Print) 0903-1936 (Linking).

Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16452598> >.

<https://doi.org/10.1183/09031936.06.00143704>

SIN, D. D.; MAN, S. F. Why are patients with chronic obstructive pulmonary disease at increased risk of cardiovascular diseases? The potential role of systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. **Circulation**, v. 107, n. 11, p. 1514-1519, 2003.

<https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000056767.69054.B3>

SINGER, S. J.; NICOLSON, G. L. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes.

Science, v. 175, n. 4023, p. 720-31, Feb 18 1972. ISSN 0036-8075 (Print) 0036-8075 (Linking).

Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4333397> >.

<https://doi.org/10.1126/science.175.4023.720>

SOUZA, T. C.; JARDIM, J. R.; JONES, P. Validação do questionário do Hospital Saint George na doença respiratória (SGRQ) em pacientes portadores de doença pulmonar obstrutiva crônica no Brasil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 26, n. 3, p. 119-128, 2000.

<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-35862000000300004>

SPENGLER, M. I. et al. Study on membrane fluidity and erythrocyte aggregation in equine, bovine and human species. **Clin Hemorheol Microcirc**, v. 38, n. 3, p. 171-6, 2008. ISSN 1386-0291 (Print) 1386-0291 (Linking). Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18239259> >.

STASIW, D. M. et al. Quantitative osmotic fragility and disease states: a preliminary study. **J Lab Clin Med**, v. 89, n. 2, p. 409-13, Feb 1977. ISSN 0022-2143 (Print) 0022-2143 (Linking).

Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/833476> >.

STEVENSON, N. J. et al. Lung mechanics and dyspnea during exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 172, n. 12, p. 1510-6, Dec 15 2005. ISSN 1073-449X (Print) 1073-449X (Linking). Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16166620> >. <https://doi.org/10.1164/rccm.200504-595OC>

STORRY, J. Review: the function of blood group-specific RBC membrane components.

Immunohematology, v. 20, n. 4, p. 206-216, 2004.

STORRY, J. R. A review: modification of the red blood cell membrane and its application in blood group serology. **Immunohematology**, v. 16, n. 3, p. 101-4, 2000. ISSN 0894-203X (Print) 0894-203X (Linking). Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15373612> >.

SUESS, J.; LIMENTANI, D.; ET AL. A quantitative method for the determination and charting of the erythrocyte hypotonic fragility. **Blood**, v. 3, n. 11, p. 1290-1303, Nov 1948. ISSN 0006-4971 (Print) 0006-4971 (Linking). Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18886505> >.

SUHAIL, M. et al. Antioxidant Vitamins and Lipoperoxidation in Non-pregnant, Pregnant, and Gestational Diabetic Women: Erythrocytes Osmotic Fragility Profiles. **J Clin Med Res**, v. 2, n. 6, p. 266-73, Dec 11 2010. ISSN 1918-3011 (Electronic) 1918-3003 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22043260> >. <https://doi.org/10.4021/jocmr454w>

SULTANA, G. S. et al. Value of red cell distribution width (RDW) and RBC indices in the detection of iron deficiency anemia. **Mymensingh Med J**, v. 22, n. 2, p. 370-6, Apr 2013. ISSN 1022-4742 (Print) 1022-4742 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23715364> >.

TANNI ES et al. Influência do sistema de fornecimento de oxigênio na qualidade de vida de pacientes com hipoxemia crônica. . **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 33, p. 161-167, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132007000200010>

TERTEMIZ, K. C. et al. Could "red cell distribution width" predict COPD severity? **Rev Port Pneumol (2006)**, v. 22, n. 4, p. 196-201, Jul-Aug 2016. ISSN 2173-5115 (Electronic) 0873-2159 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26809230> >. <https://doi.org/10.1016/j.rppnen.2015.11.006>

TOH, S. Y.; ZARSHENAS, N.; JORGENSEN, J. Prevalence of nutrient deficiencies in bariatric patients. **Nutrition**, v. 25, n. 11-12, p. 1150-6, Nov-Dec 2009. ISSN 1873-1244 (Electronic) 0899-9007 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19487104> >. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.03.012>

TOMAIUOLO, G. Biomechanical properties of red blood cells in health and disease towards microfluidics. **Biomicrofluidics**, v. 8, n. 5, p. 051501, Sep 2014. ISSN 1932-1058 (Print) 1932-1058 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25332724> >. <https://doi.org/10.1063/1.4895755>

TOTH, S. et al. Nutritional depletion in relation to mortality in patients with chronic respiratory insufficiency treated with long-term oxygen therapy. **Wien Klin Wochenschr**, v. 116, n. 17-18, p. 617-21, Sep 30 2004. ISSN 0043-5325 (Print) 0043-5325 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15515880> >. <https://doi.org/10.1007/s00508-004-0226-6>

UGURLU, E. et al. Impaired Hemorheology in Exacerbations of COPD. **Can Respir J**, v. 2017, p. 1286263, 2017. ISSN 1916-7245 (Electronic) 1198-2241 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29089816> >. <https://doi.org/10.1155/2017/1286263>

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000500046>

VAYÁ, A. et al. The lipid composition of red blood cells and their hemorheological behavior in patients with primary hyperlipoproteinemia. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, v. 13, n. 4, p. 447-457, 1993. <https://doi.org/10.3233/CH-1993-13403>

VAYA, A. et al. Erythrocyte membrane composition in patients with primary hypercholesterolemia. **Clin Hemorheol Microcirc**, v. 40, n. 4, p. 289-94, 2008. ISSN 1386-0291 (Print) 1386-0291 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19126991> >. <https://doi.org/10.3233/CH-2008-1139>

VIEGAS CAA et al. Oxigenoterapia domiciliar prolongada (ODP). **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 26, p. 341-350, 2000. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-35862000000600011>

WALSKI, T. et al. Individual osmotic fragility distribution: a new parameter for determination of the osmotic properties of human red blood cells. **Biomed Res Int**, v. 2014, p. 162102, 2014. ISSN 2314-6141 (Electronic). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24527436> >. <https://doi.org/10.1155/2014/162102>

WANG, C. H.; POPEL, A. S. Effect of red blood cell shape on oxygen transport in capillaries. **Math Biosci**, v. 116, n. 1, p. 89-110, Jul 1993. ISSN 0025-5564 (Print) 0025-5564 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8343620> >. [https://doi.org/10.1016/0025-5564\(93\)90062-F](https://doi.org/10.1016/0025-5564(93)90062-F)

WEITZENBLUM, E. et al. Long-term oxygen therapy can reverse the progression of pulmonary hypertension in patients with chronic obstructive pulmonary disease. **Am Rev Respir Dis**, v. 131, n. 4, p. 493-8, Apr 1985. ISSN 0003-0805 (Print) 0003-0805 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3922267> >. <https://doi.org/10.1164/arrd.1985.131.4.493>

WOUTERS, E. F. Local and systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. **Proc Am Thorac Soc**, v. 2, n. 1, p. 26-33, 2005. ISSN 1546-3222 (Print) 1546-3222 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16113466> >. <https://doi.org/10.1513/pats.200408-039MS>

YAJIMA, T. Contractile effect of short-chain fatty acids on the isolated colon of the rat. **J Physiol**, v. 368, p. 667-78, Nov 1985. ISSN 0022-3751 (Print) 0022-3751 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2867220> >.

YONEDA, T. et al. Plasma levels of amino acids and hypermetabolism in patients with chronic obstructive pulmonary disease. **Nutrition**, v. 17, n. 2, p. 95-9, Feb 2001. ISSN 0899-9007 (Print) 0899-9007 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11240335> >. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(00\)00509-8](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(00)00509-8)

YOUNG OH, J.; SIN, D. D. Lung inflammation in COPD: why does it matter? **F1000 Medicine Reports**, v. 4, n. 23, p. 1-5, 2012. <https://doi.org/10.3410/M4-23>

ZANCHET, R. C.; VIEGAS, C. A.; LIMA, T. A eficácia da reabilitação pulmonar na capacidade de exercício, força da musculatura inspiratória e qualidade de vida de portadores de doença pulmonar obstrutiva crônica. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 31, n. 2, p. 118-124, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132005000200006>

ZINELLU, E. et al. Circulating biomarkers of oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review. **Respir Res**, v. 17, n. 1, p. 150, Nov 14 2016. ISSN 1465-993X (Electronic) 1465-9921 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27842552> >. <https://doi.org/10.1186/s12931-016-0471-z>

APÊNDICE 1 – MODELO DE TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO MODELO

Você está sendo convidado (a) para participar da pesquisa intitulada **Estabilidade de Membrana de Eritrócitos em Pacientes Portadores de Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica em Oxigenioterapia Domiciliar Prolongada**, sob a responsabilidade dos pesquisadores **Flaviana Ferreira Gomes, Thúlio Marquez Cunha e Nilson Penha-Silva**.

Nesta pesquisa nós estamos buscando entender se a estabilidade da membrana das células vermelhas do sangue sofre alguma alteração nos pacientes com bronquite/ enfisema pulmonar (DPOC), assim como se a gravidade da doença se relaciona com ela e, faremos comparação com pacientes sem a doença.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será aplicado pela pesquisadora Flaviana Ferreira Gomes em consulta no Ambulatório de Oxigenioterapia, do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU) e no Ambulatório Geral do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU).

Na sua participação você passará por uma entrevista com a pesquisadora e por uma coleta de aproximadamente 24ml de sangue venoso e 3ml de sangue arterial para realização de exames laboratoriais, assim como realização do teste de capacidade de exercício e função pulmonar.

Há um risco mínimo de você ser identificado, uma vez que utilizamos códigos para identificar os pacientes, ao invés de utilizar os nomes ou iniciais dos nomes. Esse procedimento tem a finalidade de garantir que sua identidade não seja revelada e inviabilizar sua identificação por terceiros ou pesquisadores não atuantes no projeto. Além disso, a equipe do estudo manterá em sigilo todas as suas informações pessoais e seu histórico clínico.

Você não terá nenhum gasto e ganho financeiro por participar na pesquisa.

Os riscos consistem naqueles relacionados à coleta de sangue, que são quase nulos se realizado com técnica adequada e material descartável, como ocorrerá na pesquisa. Os exames complementares serão feitos por médicos especializados com competência e experiência para avaliar corretamente os resultados dessas verificações. Os testes que envolvem esforço físico serão executados com a presença de pelo menos três pessoas (sendo 1 médico), em ambiente hospitalar adequadamente equipado e, com avaliação intensiva da dispneia e fadiga pelo

paciente, a fim de também não oferecer risco significativo. A avaliação da estabilidade de membrana de hemácias será feita por coleta sanguínea e, esse procedimento oferece risco mínimo, uma vez que o material será devidamente descartado como lixo laboratorial e não será utilizado para nenhum outro fim ou pesquisa. O paciente não terá seu tratamento ou terapia alterada devido à pesquisa. Os benefícios seriam avaliar se no controle dessa estabilidade poderia inferir sobre a gravidade da doença e conseqüente melhor qualidade de vida para o doente e, conseqüentemente, menor número de internações e menos custos hospitalares.

Você é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem nenhum prejuízo.

Uma via original deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com você.

Qualquer dúvida a respeito da pesquisa, você poderá entrar em contato com: Flaviana Ferreira Gomes, agência transfusional – telefone 34 3218-2313 – ou Dr. Thulio Marquez Cunha, UTI adulto – 34 3218-2150, HC- UFU, Av. Pará, 1720. Poderá também entrar em contato com o Comitê de Ética na Pesquisa com Seres-Humanos – Universidade Federal de Uberlândia: Av. João Naves de Ávila, nº 2121, bloco A, sala 224, Campus Santa Mônica – Uberlândia – MG, CEP: 38408-100; fone: 34-3239-4131.

Uberlândia, dede 201.....

Flaviana Ferreira Gomes

Prof. Dr. Thulio Marquez Cunha

Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.

Participante da pesquisa (nome completo)

ANEXO 1 – QUESTIONÁRIO MODIFICADO DO *BRITISH MEDICAL RESEARCH COUNCIL* (mMRC) PARA AVALIAR A GRAVIDADE DA DISPNEIA

QUESTIONÁRIO MODIFICADO
DO *BRITISH MEDICAL RESEARCH COUNCIL* (mMRC)
PARA AVALIAR A GRAVIDADE DA DISPNEIA (Bestall *et al.*, 1999)

Grau 0	Eu sinto falta de ar com exercícios intensos	[]
Grau 1	Eu fico com falta de ar quando ando depressa ou subo uma ladeira levemente inclinada	[]
Grau 2	Eu ando mais devagar em terreno plano que as pessoas de mesma idade por causa da falta de ar, ou eu preciso parar para respirar quando ando normalmente	[]
Grau 3	Eu paro para respirar após andar em terreno plano uns 100 metros ou após alguns minutos	[]
Grau 4	Eu sinto muita falta de ar para sair de casa ou sinto falta de ar ao me vestir e despir	[]

Modificado GOLD 2013 (Gold, 2013).

ANEXO 2 – COPD ASSESSMENT TEST (CAT)

COPD Assessment Test (CAT)

Como está a sua DPOC (Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica)? Faça o Teste de Avaliação da DPOC (COPD Assessment Test™-CAT)

Esse questionário irá ajudá-lo e ao seu profissional da saúde a medir o impacto que a DPOC (Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica) causa no seu bem estar e o no seu dia a dia. As suas respostas e a pontuação do teste podem ser utilizadas por você e pelo seu profissional da saúde para ajudar a melhorar o controle da sua DPOC e a obter o máximo benefício do tratamento.

Para cada um dos itens a seguir, assinale com um (X) o quadrado que melhor o descrever presentemente. Certifique-se de selecionar apenas uma resposta para cada pergunta.

Por exemplo: Estou muito feliz Estou muito triste

			PONTUAÇÃO
Nunca tenho tosse	0 1 2 3 4 5	Tenho tosse o tempo todo	
Não tenho nenhum catarro (secreção) no peito	0 1 2 3 4 5	O meu peito está cheio de catarro (secreção)	
Não sinto nenhuma pressão no peito	0 1 2 3 4 5	Sinto uma grande pressão no peito	
Não sinto falta de ar quando subo uma ladeira ou um andar de escada	0 1 2 3 4 5	Sinto bastante falta de ar quando subo uma ladeira ou um andar de escada	
Não sinto nenhuma limitação nas minhas atividades em casa	0 1 2 3 4 5	Sinto-me muito limitado nas minhas atividades em casa	
Sinto-me confiante para sair de casa, apesar da minha doença pulmonar	0 1 2 3 4 5	Não me sinto nada confiante para sair de casa, por causa da minha doença pulmonar	
Durmo profundamente	0 1 2 3 4 5	Não durmo profundamente devido à minha doença pulmonar	
Tenho muita energia (disposição)	0 1 2 3 4 5	Não tenho nenhuma energia (disposição)	
			PONTUAÇÃO TOTAL

O teste de Avaliação da DPOC (COPD Assessment Test) e o logotipo CAT é uma marca comercial de grupo de empresas GlaxoSmithKline.
©2009 GlaxoSmithKline. Todos os direitos reservados.

Fonte: GOLD 2018 (Gold, 2018).

ANEXO 3 – QUESTIONÁRIO DO HOSPITAL SAINT GEORGE SOBRE PROBLEMAS RESPIRATÓRIOS (SGRQ)

QUESTIONÁRIO DO HOSPITAL SAINT GEORGE SOBRE PROBLEMAS RESPIRATÓRIOS (SGRQ) (Souza *et al.*, 2000)

Este questionário nos ajuda a compreender até que ponto a sua dificuldade respiratória o perturba e afeta a sua vida.

Nós o utilizamos para descobrir quais os aspectos da sua doença que causam mais problemas.

Estamos interessados em saber o que você sente e não o que os médicos, enfermeiras e fisioterapeutas acham que você sente.

Leia atentamente as instruções.

Esclareça as dúvidas que tiver.

Não perca muito tempo nas suas respostas.

Parte 1

Nas perguntas abaixo, assinale aquela que melhor identifica seus problemas respiratórios no último ano.

A) **Obs.:** Assinale um só quadrado para as questões de 01 a 08:

	maioria dos dias da semana (5-7 dias)	vários dias na semana (2-4 dias)	alguns dias no mês	só com infecções respiratórias	nunca
• Durante o último ano tossi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
• Durante o último ano tive catarro	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
• Durante o último ano tive falta de ar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

• Durante o último ano tive “chiado no peito”	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
---	--------------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------

5) Durante o último ano, quantas vezes você teve crises graves de problemas respiratórios:

Mais de 3	3	2	1	Nenhuma
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

6) Quanto tempo durou a pior dessas crises?

(passe para a pergunta 7 se não teve crises graves)

1 semana ou mais	3 ou mais dias	1 ou 2 dias	menos de 1 dia
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

7) Durante o último ano, em uma semana considerada como habitual, quantos dias bons (com poucos problemas respiratórios) você teve:

nenhum dia	1 ou 2 dias	3 ou 4 dias	quase todos os dias	todos os dias
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

8) Se você tem “chiado no peito”, ele é pior de manhã?

Não	Sim
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Parte 2

◆ Seção 1

A) Assinale um só quadrado para descrever a sua doença respiratória:

é o meu maior problema	me causa muitos problemas	me causa alguns problemas	não me causa nenhum problema
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

B) Se você já teve um trabalho pago, assinale um dos quadrados:

(passe para a Seção 2, se você não trabalha)

– minha doença respiratória me obrigou a parar de trabalhar	<input type="checkbox"/>
– minha doença respiratória interfere (ou interferiu) com o meu trabalho normal ou já me obrigou a mudar de trabalho	<input type="checkbox"/>
– minha doença respiratória não afeta (ou não afetou) o meu trabalho	<input type="checkbox"/>

◆ Seção 2

As perguntas abaixo referem-se às atividades que normalmente têm provocado falta de ar em você nos últimos dias.

Assinale com um “x” no quadrado de cada pergunta abaixo, indicando a resposta *Sim* ou *Não*, de acordo com o seu caso:

	Sim	Não
– Sentado/a ou deitado/a	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– tomando banho ou vestindo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– caminhando dentro de casa	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– caminhando em terreno plano	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– subindo um lance de escada	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– subindo ladeiras	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

– praticando esportes ou jogos que impliquem esforço físico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
---	--------------------------	--------------------------

Seção 3

Mais algumas perguntas sobre a sua tosse e a sua falta de ar nos últimos dias. Assinale com um “x” no quadrado de cada pergunta abaixo, indicando a resposta *Sim* ou *Não*, de acordo com o seu caso:

	Sim	Não
– minha tosse me causa dor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– minha tosse me deixa cansado	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– tenho falta de ar quando falo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– tenho falta de ar quando dobro o corpo para frente	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– minha tosse ou falta de ar perturba meu sono	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– fico exausto/a com facilidade	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

B) Seção 4

Perguntas sobre outros efeitos causados pela sua doença respiratória nos últimos dias. Assinale com um “x” no quadrado de cada pergunta abaixo, indicando a resposta *Sim* ou *Não*, de acordo com o seu caso:

	Sim	Não
– minha tosse ou falta de ar, me deixam envergonhado/a em público	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– minha doença respiratória é inconveniente para a minha família, amigos ou vizinhos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– tenho medo ou mesmo pânico quando não consigo respirar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– sinto que minha doença respiratória escapa ao meu controle	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

– eu não espero nenhuma melhora da minha doença respiratória	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– minha doença me debilitou fisicamente, o que faz com que eu precise da ajuda de alguém	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– fazer exercício é arriscado para mim	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– tudo o que faço, parece ser um esforço muito grande	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

◆ Seção 5

A) Perguntas sobre a sua medicação. Assinale com um “x” no quadrado de cada pergunta abaixo, indicando a resposta *Sim* ou *Não*, de acordo com o seu caso:

(passe para a Seção 6 se não toma medicamentos)

	Sim	Não
– minha medicação não está me ajudando muito	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– fico envergonhado/a ao tomar medicamentos em público	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– minha medicação me provoca efeitos colaterais desagradáveis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– minha medicação interfere muito com o meu dia a dia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Seção 6

As perguntas seguintes se referem às atividades que podem ser afetadas pela sua doença respiratória. Assinale com um “x” no quadrado de cada pergunta abaixo, indicando a resposta *Sim* se pelo menos uma parte da frase corresponde ao seu caso; se não, assinale *Não*.

	Sim	Não
– levo muito tempo para me lavar ou me vestir	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

– demoro muito tempo ou não consigo tomar banho de chuveiro ou na banheira	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– ando mais devagar que as outras pessoas, ou tenho que parar para descansar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– demoro muito tempo para realizar as tarefas como o trabalho da casa, ou tenho que parar para descansar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– quando subo um lance de escada, vou muito devagar, ou tenho que parar para descansar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– se estou apressado ou caminho mais depressa, tenho que parar para descansar ou ir mais devagar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– por causa da minha respiração, tenho dificuldade para fazer atividades como: subir ladeiras, carregar objetos subindo escadas, dançar, praticar esporte leve	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– por causa da minha respiração, tenho dificuldades para fazer atividades como: carregar grandes pesos, fazer “cooper”, andar muito rápido ou nadar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– por causa da minha respiração, tenho dificuldade para fazer atividades como: trabalho manual pesado, correr, andar de bicicleta, nadar rápido ou praticar esportes de competição	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

◆ **Seção 7**

- Assinale com um “x” no quadrado de cada pergunta abaixo, indicando a resposta *Sim* ou *Não*, para indicar outras atividades que geralmente podem ser afetadas pela sua doença respiratória no seu dia a dia:
(não se esqueça que *Sim* só se aplica ao seu caso quando você não puder fazer essa atividade devido aos seus problemas respiratórios).

	Sim	Não
– praticar esportes ou jogos que impliquem esforço físico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

– sair de casa para me divertir	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– sair de casa para fazer compras	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– fazer o trabalho da casa	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
– sair da cama ou da cadeira	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

- A lista seguinte descreve uma série de outras atividades que o seu problema respiratório pode impedir você de realizar (pretendemos apenas lembrá-lo das atividades que podem ser afetadas pela falta de ar).

– passear a pé ou passear com o seu cachorro
– fazer o trabalho doméstico ou jardinagem
– ter relações sexuais
– ir à igreja, bar ou a locais de diversão
– sair com mau tempo ou permanecer em locais com fumaça de cigarro
– visitar a família e os amigos ou brincar com as crianças

Por favor, escreva qualquer outra atividade importante que seu problema respiratório pode impedir você de fazer:

_C) Assinale com um "x" somente a resposta que melhor define a forma como você é afetado pela sua doença respiratória:

– não me impede de fazer nenhuma das coisas que eu gostaria de fazer	<input type="checkbox"/>
– me impede de fazer uma ou duas coisas que eu gostaria de fazer	<input type="checkbox"/>
– me impede de fazer a maioria das coisas que eu gostaria de fazer	<input type="checkbox"/>
– me impede de fazer tudo o que eu gostaria de fazer	<input type="checkbox"/>

Obrigado por responder o questionário. Antes de terminar verifique se você respondeu a todas as perguntas.