

## Análise de Micronúcleo como Indicador de Genotoxicidade em Pacientes com Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica Submetidos à Reabilitação Pulmonar

### Micronucleus Analysis as an Indicator of Genotoxicity in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease Submitted to Pulmonary Rehabilitation

Cleidiane da Silva Andrade<sup>1</sup>  
William Rafael Almeida Moraes<sup>2</sup>  
Luiz Humberto Figueiredo Monteiro<sup>3</sup>  
Simone Haru Sawaki de Melo e Silva<sup>3</sup>  
Pedro Iuri Castro da Silva<sup>4</sup>  
Leonardo de Oliveira Chaves<sup>3</sup>  
Valéria Marques Ferreira Normando<sup>5</sup>

#### RESUMO

**Objetivo:** Analisar a frequência de micronúcleos em células da mucosa oral de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), submetidos a um programa de reabilitação pulmonar (PRP). **Metodologia:** Estudo quase experimental, quantitativo, prospectivo, não controlado, no qual sete participantes com diagnóstico clínico e espirométrico de DPOC, foram submetidos a 20 sessões de um PRP, realizado em 7 semanas contínuas. Para classificar o estágio da doença, realizou-se o exame de espirometria antes de iniciar o protocolo. Para a quantificação de micronúcleos, antes e após o PRP foi realizado o teste de micronúcleo na mucosa oral. Para analisar os dados coletados, aplicou-se o teste de Shapiro Wilk para verificar a normalidade das variáveis e o teste Wilcoxon para comparação antes e depois, adotando-se um nível de significância  $p \leq 0,05$ . **Resultados:** Observou-se redução significativa ( $p = 0,043$ ) na frequência de micronúcleos em células epiteliais da mucosa oral após a aplicação do PRP. **Conclusão:** A diminuição da frequência de micronúcleos no pós-tratamento permite sugerir que os participantes obtiveram diminuição dos danos no DNA quando submetidos ao PRP, no entanto, ensaios controlados e randomizados devem ser realizados para elucidar os efeitos do treinamento físico sobre o caráter genético de pacientes com DPOC.

#### DESCRIPTORES

Micronúcleo com Defeito Cromossômico. Genotoxicidade. Dano ao DNA. Reabilitação. Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica.

#### ABSTRACT

**Objective:** To analyze the frequency of micronuclei in oral mucosa cells of patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) submitted to a Pulmonary Rehabilitation Program (PRP). **Methodology:** Quasi-experimental, quantitative, prospective, uncontrolled study, in which 7 participants with a clinical and spirometric diagnosis of COPD, who underwent 20 sessions of a PRP, performed during 7 continuous weeks. To classify the stage of the disease, the spirometry exam was performed before starting the protocol. To quantify the micronuclei, before and after PRP, the micronucleus test was performed on the oral mucosa. To analyze the data collected, the Shapiro Wilk test was applied to verify the normality of the variables and the Wilcoxon test for comparison before and after, adopting a significance level of  $p \leq 0.05$ . **Results:** There was a significant reduction ( $p = 0.043$ ) in the frequency of micronuclei in epithelial cells of the oral mucosa after PRP application. **Conclusion:** The decrease in the frequency of micronuclei in the post-treatment allows to suggest that the participants obtained a decrease in DNA damage when submitted to PRP, however, controlled and randomized trials should be performed to elucidate the effects of physical training on the genetic character of COPD patients.

#### DESCRIPTORS

Chromosome-Defective Micronuclei. Genotoxicity. DNA Damage. Rehabilitation. Chronic Obstructive Pulmonary Disease.

<sup>1</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Saúde na Amazônia da Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, Pará, Brasil.

<sup>2</sup> Mestrando no Programa de Pós-Graduação em Ciências do Movimento Humano da Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, Pará, Brasil.

<sup>3</sup> Fisioterapeuta pela Universidade do Estado do Pará (UEPA), Belém, Pará, Brasil.

<sup>4</sup> Mestre em Cirurgia e Pesquisa Experimental pela Universidade do Estado do Pará (UEPA), Belém, Pará, Brasil.

<sup>5</sup> Doutora em Neurociências e Biologia Celular pela Universidade Federal do Pará (UFPA), Docente do Curso de Fisioterapia da Universidade do Estado do Pará (UEPA), Belém, Pará, Brasil.

A doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) é definida como uma pneumopatia que compromete o fluxo aéreo pelas vias respiratórias devido a anormalidades no sistema ventilatório e na estrutura alveolar<sup>1</sup>. Essa obstrução é desenvolvida a partir da exposição prolongada a agentes tóxicos, interligados principalmente ao tabagismo, que produzem uma reação inflamatória crônica, causando destruição de pequenas vias aéreas no parênquima pulmonar<sup>1</sup>. Embora as manifestações atinjam inicialmente os pulmões, a DPOC pode evoluir com repercussões sistêmicas significativas e comorbidades importantes como doenças cardíacas, distúrbios do metabolismo, distúrbios esofágicos, insuficiência respiratória, osteoporose e apneia do sono<sup>2</sup>. No entanto, apesar de apresentar um diagnóstico irreversível, a DPOC é uma doença prevenível e tratável<sup>2</sup>.

O tabagismo constitui a principal etiologia da DPOC. No entanto, a exposição à poluentes ambientais e fatores genéticos também contribuem para o desenvolvimento da doença<sup>3</sup>. Nesse sentido, a inalação de gases e partículas tóxicas, especialmente a fumaça do cigarro, expõe os pulmões a uma carga excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs), oxidantes que provocam um desequilíbrio com os mecanismos antioxidantes de defesa, induzindo o estresse oxidativo (EO). Desse modo, o EO induzido pelas EROs é responsável por desencadear uma resposta inflamatória nas vias aéreas, provocando alterações na estrutura alveolar características da DPOC<sup>3,4</sup>. Além disso, as EROS oriundas de fontes endógena e exógena reagem danificando as células por

meio de muitos mecanismos, causando danos no DNA, em especial o mitocondrial, além de peroxidação lipídica, oxidação de aminoácidos e oxidação de co-fatores enzimáticos<sup>5</sup>.

Os danos no DNA desenvolvidos durante a progressão da DPOC podem ser monitorados por meio de biomarcadores de genotoxicidade utilizando testes citogenéticos capazes de avaliar efeitos genotóxicos causadores de danos cromossômicos<sup>6</sup>. O micronúcleo representa um biomarcador que se forma a partir de quebras e/ou perdas cromossômicas durante o processo de divisão da célula com o DNA danificado e aparece separado do núcleo principal nas células filhas. Em razão disso, uma célula pode apresentar um ou mais micronúcleos, podendo ser observados com diâmetro de até 1/5 do núcleo principal, representando um material genético perdido no citoplasma em decorrência de uma lesão no DNA. Diante disso, o micronúcleo constitui um sinalizador genotóxico importante para verificar e quantificar os danos no DNA de determinados tecidos<sup>7,8</sup>.

Nesse contexto, a reabilitação pulmonar, além de melhorar a sintomatologia da DPOC, diminui os níveis de EO, uma vez que o exercício físico favorece a produção de antioxidantes, o que pode inibir a ação oxidativa das EROs sobre o DNA<sup>9</sup>. Contudo, são limitados os estudos que investigaram os danos genotóxicos a partir da presença de micronúcleos nas células de pacientes com DPOC submetidos à reabilitação pulmonar. Diante disso, este estudo teve como objetivo analisar a frequência de micronúcleos em células da mucosa oral de pacientes com DPOC submetidos a um programa de reabilitação pulmonar (PRP).

## METODOLOGIA

### Desenho do estudo

Estudo quase experimental, quantitativo, prospectivo, não controlado, realizado no período de janeiro de 2015 a outubro de 2016, com projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade do Estado do Pará (UEPA), sob o parecer nº. 248.953. A execução da pesquisa teve início após os participantes concordarem em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), contendo explicações detalhadas sobre os objetivos e os procedimentos do estudo.

### Participantes

A amostra foi por conveniência e composta por sete pacientes com diagnóstico clínico e espirométrico de DPOC provenientes do ambulatório de fisioterapia respiratória de um Centro Especializado em Reabilitação (CERII) localizado na UEPA. Foram incluídos indivíduos de ambos os sexos, sem distinção de idade, raça e escolaridade, clinicamente estáveis, que estivessem sem fumar por no mínimo um ano e que após a inclusão no protocolo proposto não fizessem parte de outro PRP. Por outro lado, foram excluídos indivíduos que apresentassem exacerbação da doença (caracterizada por aumento e/ou mudança no aspecto da secreção respiratória, tosse, fadiga e aumento da dispneia), etilismo, cardiopatias e/ou hipertensão arterial sistêmica (HAS) não controlada, outra pneumopatia que não fosse a DPOC, comprometimento

de membros superiores (MMSS) e membros inferiores (MMII) que pudesse interferir na realização dos exercícios propostos pelo PRP, bem como qualquer enfermidade que afetasse a mucosa oral.

### Caracterização da amostra

A caracterização da amostra foi obtida por meio de uma avaliação fisioterapêutica pneumofuncional realizada pelos pesquisadores, incluindo dados referentes as variáveis demográficas e antropométricas (sexo, idade, peso, estatura e índice de massa corporal – IMC); variáveis clínicas (diagnóstico clínico e espirométrico, história da doença atual) e exame físico.

### Exame de espirometria

Para determinar o estadiamento da doença, os participantes realizaram o exame de espirometria, sendo este operado por um profissional experiente, utilizando o espirômetro a volume SPIROM2 (Codax Corporation; São Paulo, Brasil) associado ao *software* Spiromatic versão 2.0 (Engelógica, Rio de Janeiro, Brasil). O exame envolveu a fase inspiratória e expiratória lenta e forçada, sendo realizadas no mínimo três repetições para a escolha do melhor resultado. Os parâmetros utilizados para classificação foram os de capacidade vital forçada (CVF), volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1) e índice de Tiffeneau (VEF1/CVF). Desse modo, os participantes foram classificados quanto ao grau de obstrução em leve ( $VEF1/CVF < 0.70$ ;  $VEF1 \geq 80\%$  do previsto), moderado ( $VEF1/CVF < 0.70$ ;

50%  $\leq$  VEF1 < 80% do previsto) e grave (VEF1/CVF < 0.70; 30%  $\leq$  VEF1 < 50% do previsto) de acordo com a *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease* – GOLD(1). O Diagnóstico clínico e espirométrico foi realizado por um pneumologista.

#### Teste de micronúcleo na mucosa oral

No momento da avaliação inicial e após quatro horas do término do PRP, foi realizada a coleta do material biológico da mucosa oral que, posteriormente, foi analisado no laboratório de análise morfológica e celular da UEPA. O teste de micronúcleo em mucosa oral seguiu a técnica de Stich et al.<sup>10</sup> adaptada para o estudo.

Inicialmente, cada participante foi solicitado a realizar enxague da mucosa com água destilada para higienização e eliminação de possíveis restos alimentícios. Em seguida, com o auxílio de um abaixador de língua, introduziu-se um *swab* para leve fricção da mucosa jugal. Na sequência, o *swab* foi introduzido em um tubo cônico de centrifugação contendo 3 ml de solução fisiológica (cloreto de sódio a 9%). Após o desprendimento das células, o *swab* foi retirado e o conteúdo foi centrifugado a 800 rpm por 5 minutos. Ao final desse processo, o sobrenadante foi retirado, deixando-se 0,5 ml de sedimento e solução no tubo, onde foi adicionado 3 ml de solução fixadora composta por três partes de metanol e uma parte de ácido acético. O conteúdo foi novamente centrifugado a 800 rpm por 5 minutos e, em seguida, o sobrenadante foi descartado, deixando aproximadamente 0,5 ml de sedimento final para a preparação das lâminas. Com o auxílio de uma pipeta Pasteur,

3 gotas de solução foram pingadas em cada lâmina, sendo preparadas 3 lâminas por paciente. Após a secagem em temperatura ambiente, as lâminas foram coradas com corante de Giemsa por 10 minutos e reservadas para análise posterior. A análise das lâminas foi realizada em microscópio de luz óptica com objetiva de imersão e aumento de 100X. Foram analisadas 1.000 células por indivíduo e a presença de micronúcleos foi registrada conforme os critérios estabelecidos por Tolbert et al.<sup>11</sup>. Dessa forma, foram considerados micronúcleos estruturas citoplasmáticas arredondadas e semelhantes ao núcleo principal, com limites bem definidos, medindo entre 1/3 a 1/5 do tamanho do núcleo, visualizados no mesmo plano.

#### Protocolo de reabilitação pulmonar

A aplicação do PRP ocorreu no ambulatório de fisioterapia respiratória do CERII na UEPA. Os atendimentos foram realizados três vezes semanais em dias alternados, no período matutino, durante 7 semanas, totalizando 20 sessões. No início e ao final de cada sessão, verificavam-se os seguintes sinais vitais: Pressão arterial (PA), utilizando-se o esfigmomanômetro e estetoscópio próprios da instituição da marca BD®; Frequência cardíaca (FC) e saturação periférica de oxigênio (SpO<sub>2</sub>), por meio do oxímetro de pulso Nonin® 9500; Frequência respiratória (FR) e ausculta pulmonar (AP). A intensidade dos exercícios foi controlada pela escala modificada de Borg<sup>12</sup>, em que percepção subjetiva de esforço deveria ser relatada pelo paciente como moderada ou pouco intensa.

O PRP foi baseado no protocolo de Normando et al.<sup>13</sup>, composto pelos seguintes exercícios de moderada intensidade:

- Alongamentos por 9 minutos em bipedestação: pescoço (flexão, extensão, inclinação lateral e rotação); MMSS (extensão de ombros e cotovelo, abdução e flexão do ombro a 90° com extensão de cotovelo, punhos e dedos); tronco (inclinação lateral, rotação bilateral e flexão de coluna na barra); MMII (flexão de joelhos, flexão e abdução do quadril com os joelhos estendidos, flexão plantar e dorsal do tornozelo).
- Exercícios intervalados por 15 minutos (1 minuto de exercício e 1 minuto de repouso): reeducação diafragmática com carga em decúbito dorsal; exercícios metabólicos de MMSS e MMII em decúbito dorsal; circuito de atividades de vida diária (AVD), no qual se escolhe 3AVD em cada sessão para simular (escovar os dentes, pentear os cabelos, tomar banho e enxugar-se, amarrar o sapato, colocar a roupa, varrer, alcançar objetos no alto, pegar objetos no chão, alimentar-se, ensaboar o rosto, levantar e sentar, pegar objetos de um lado e colocar do outro, lavar roupa, estender roupa no varal).
- Treino de MMSS por 15 minutos em bipedestação, sendo 2 séries de 10 repetições para cada um dos seguintes exercícios: diagonais de Kabat modificado 1 e 2; circundução; rotação interna e externa do ombro.
- Treino de resistência por 6 minutos: caminhada em ambiente externo.
- Treino de MMII por 12 minutos: bicicleta ergométrica (a PA, FC e SpO2

eram aferidos no 3º e no 11º minuto).

- Alongamento final por 5 minutos dos músculos mais exigidos durante a sessão.
- Relaxamento final por 10 minutos: conscientização corporal e respiração.

#### Análise dos dados

Os dados foram armazenados em um banco de dados no programa Microsoft Excel versão 2016. A caracterização da amostra foi realizada por meio de estatística descritiva, (frequência absoluta, frequência relativa, médias, desvio-padrão, mediana e intervalo interquartil). A normalidade das variáveis foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Em seguida, utilizou-se o teste Wilcoxon para amostras relacionadas com distribuição assimétrica, adotando significância de  $p \leq 0,05$ , por meio do software estatístico BioEstat versão 5.3.

## RESULTADOS

Participaram do estudo 7 pacientes, sendo todos idosos com idades entre 64 e 80 anos e a maioria pertencente ao sexo masculino (71%). A maior parte apresentava estágio clínico moderado da doença (57,1%), seguido por estágio leve (28,6%). Todos os pacientes apresentavam HAS controlada como comorbidade, sendo dois deles também diabéticos. As características demográficas, antropométricas e clínicas estão descritas na Tabela 1 e a distribuição dessas características por paciente é apresentada na Tabela 2.

No que se refere à sinalização de dano genético, observou-se uma redução significativa ( $p=0,043$ ) na frequência média de micronúcleos após o tratamento. A Tabela 3 descreve a distribuição quantitativa nos momentos pré e pós-PRP.

## DISCUSSÃO

O estudo analisou a frequência de micronúcleos em células da mucosa oral de pacientes com DPOC submetidos a um PRP. Dessa forma, foi observada uma diminuição significativa na quantidade de

micronúcleos após as 20 sessões propostas no tratamento (Tabela 3), sugerindo que o protocolo utilizado exerceu efeito na redução dos danos genotóxicos.

É confirmado pela literatura que os exercícios físicos de baixa a moderada intensidade refletem no equilíbrio oxidante/

Tabela 1. Descrição das características demográficas, antropométricas e o perfil clínico obstrutivo dos participantes da pesquisa

Variáveis	n=7 n (%)
Sexo (%)	
Masculino	05 (71,4)
Feminino	02 (28,6)
	média ± dp
Idade (ano)	72 ± 5,3
Peso (kg)	61,8 ± 12,6
Estatura (cm)	159,3 ± 10,8
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	22,9 ± 3,9
Cigarros (dias)	32,3 ± 13,8
Tabagismo (anos)	34,2 ± 11,3
Abstinência de cigarro (anos)	17,3 ± 11,6
Estágio GOLD	n (%)
Leve	02 (28,6)
Moderado	04 (57,1)
Grave	01 (14,3)

IMC: Índice de Massa Corporal; GOLD: *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease*; n: valor expresso em frequência absoluta; dp: desvio padrão.

Tabela 2. Distribuição do perfil clínico/obstrutivo com tabagismo e quantidade de micronúcleos nas fases pré e pós-reabilitação pulmonar

Pa- ciente	Sexo	DPOC	Comor- bidade	Idade (anos)	Cigarro (dia)	Tabagis- mo (anos)	Abstinência (anos)	Micronú- cleo Pré	Micronúcleo Pós
1	M	Grave	HAS	80	20	20	20	02	-
2	M	Moderado	HAS + DM	72	20	20	30	02	02
3	M	Moderado	HAS	67	50	50	02	04	-
4	M	Leve	HAS	71	30	40	03	02	01
5	F	Leve	HAS + DM	64	50	40	15	03	-
6	M	Moderado	HAS	75	20	30	31	02	-
7	F	Moderado	HAS	75	40	40	20	-	-

DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica; M: Masculino; F: Feminino; HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica; DM: Diabetes Mellitus.

antioxidante da célula, uma vez que esse modelo de treinamento favorece a produção de antioxidantes de defesa no organismo e inibem as sequelas oriundas dos agentes oxidativos<sup>9</sup>.

Os resultados do presente estudo sugerem que o exercício físico regular e de moderada intensidade foi uma importante estratégia no combate a produção suprafisiológica de EROs, pois gerou menor dano no DNA, demonstrado pela diminuição da quantidade de micronúcleos após PRP. Este fato pode ser explicado pela ação de enzimas reparadoras de DNA associadas a uma resposta adaptativa ao aumento de EO na existência de treinamento físico contínuo<sup>14</sup>.

Neste sentido, a quantificação de micronúcleos como forma de medir dano no DNA, aumenta a confiabilidade com relação a prescrição do exercício, tornando-se um biomarcador importante para quantificar a intensidade, o volume, a frequência e duração do treinamento<sup>15</sup>. No presente estudo, pode-se observar uma redução de micronúcleos quando se propôs exercícios aeróbicos e de resistência de moderada intensidade, ao passo que em outros estudo mostrou um aumento de EO com os exercícios de alta intensidade<sup>16</sup>, demonstrando que a escolha da intensidade do exercício está diretamente relacionada a capacidade oxidativa da musculatura<sup>17</sup> e de reparo do DNA<sup>18</sup>.

Rocha et al.<sup>19</sup> também utilizaram um protocolo com exercícios aeróbicos em pacientes com grau moderado e grave da DPOC e observaram redução no nível de EO. Tendo em vista que o EO está associado a genotoxicidade<sup>5</sup> novamente é possível

sugerir que os pacientes do presente estudo obtiveram adaptação oxidativa pelo protocolo proposto e reduziram o dano no DNA.

Todos os participantes da pesquisa foram idosos, com média de idade de 72 anos (DP=5,3), o que chama atenção para o aumento de danos cromossômicos estar relacionado ao envelhecimento e as doenças relacionadas à idade, tendo em vista que a imunossenescência causa uma inflamação sistêmica de baixo grau a qual está diretamente envolvida na patogênese da DPOC<sup>3</sup>. Portanto, o acúmulo de danos no DNA associado ao envelhecimento das células, sugere que a idade está intimamente relacionada ao dano de material genético<sup>20</sup>.

A literatura mostra que a prática de atividade física regular reduz marcadores de EO na população idosa com DPOC<sup>19,21</sup> pelo aumento da atividade de enzimas antioxidantes e redução da peroxidação lipídica no músculo esquelético e, conseqüentemente, gerando maior proteção genética para esse grupo<sup>15</sup>.

Os radicais livres produzidos durante cada sessão de exercícios estimulam mudanças adaptativas nas vias de sinalização, resultando em melhores mecanismos antioxidantes que permitem a inibição dos efeitos genotóxicos<sup>22</sup> e o aumento da capacidade de reparação desses danos genéticos<sup>23</sup>.

Embora sejam complexas as fontes de oxidantes na DPOC associadas ao tabagismo, é mais provável que estejam relacionadas aos potentes agentes oxidativos presentes na fumaça do cigarro<sup>24</sup>, induzindo a produção excessiva de EROs que são capazes de danificar ácidos nucleicos, além de exigirem múltiplos mecanismos de reparação da

célula afetada<sup>25</sup>. Neste estudo, a amostra foi totalmente composta por ex-fumantes, fato que não os isenta das repercussões geradas pelo tabagismo. É importante ressaltar que o EO persiste mesmo após a cessação do tabagismo, provavelmente em função da produção contínua de EROs de fontes endógenas, o que contribui para modificações patológicas no metabolismo celular<sup>26</sup>.

Geralmente, a DPOC está associada a outras comorbidades<sup>27</sup>, gerando aumento do EO e consequente dano no DNA<sup>28</sup>. Esse fato pode explicar um aumento no número de micronúcleos antes do PRP, em virtude dos pacientes apresentarem doenças associadas como a HAS controlada e o diabetes.

Foi possível observar que mesmo na presença de comorbidades associadas ocorreu menor dano genético após PRP, o que é documentado na literatura que um melhor mecanismo de reparo no DNA está associado a atividade física regular em pacientes com DPOC, hipertensos e diabéticos<sup>29</sup>.

Apesar deste estudo apresentar algumas limitações, como a amostra populacional pequena e heterogênea no

que se refere ao sexo e ao grau da DPOC, assim como, a ausência de um grupo controle de idosos, não fumantes, não DPOC, o tratamento fisioterapêutico por meio do PRP foi sugestivo para redução dos danos genotóxicos do grupo estudado. Além disso, a maioria dos participantes da amostra foram homens, o que indica que uma estratificação por sexo para as análises do dano no DNA seria mais eficaz, uma vez que, a literatura mostra que os níveis de EO são maiores em mulheres com DPOC<sup>30</sup>, sugerindo, portanto, maior genotoxicidade nesta população.

## CONCLUSÃO

Para o grupo estudado de sete pacientes os resultados parecem sugerir que a diminuição do dano no DNA em pacientes com DPOC, possa estar relacionada com as atividades do PRP, porém, devido às limitações metodológicas apresentadas, mais estudos controlados e randomizados devem ser realizados para elucidar os efeitos do treinamento físico sobre o caráter genético de pacientes com DPOC.

## REFERÊNCIAS

1. GOLD - Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. 2014.
2. Schwab P, Dhamane AD, Hopson SD, Moretz C, Annavarapu S, Burslem K, et al. Impact of comorbid conditions in COPD patients on health care resource utilization and costs in a predominantly medicare population. *Int J COPD*. 2017;12:735-744.
3. Cho WK, Lee CG, Kim LK. COPD as a disease of immunosenescence. *Yonsei Med J*. 2019;60(5):407-413.
4. Vij N, Chandramani-Shivalingappa P, Van Westphal C, Hole R, Bodas M. Cigarette smoke-induced autophagy impairment accelerates lung aging, copd-emphysema exacerbations and pathogenesis. *Am J Physiol - Cell Physiol*. 2018; 314(1):C73-87.
5. Wang DC, Shi L, Zhu Z, Gao D, Zhang Y. Genomic

- mechanisms of transformation from chronic obstructive pulmonary disease to lung cancer. *Semin Cancer Biol.* 2017;42:52-59.
6. Russo P, Lamonaca P, Milic M, Rojas E, Prinzi G, Cardaci V, et al. Biomarkers of DNA damage in COPD patients undergoing pulmonary rehabilitation: Integrating clinical parameters with genomic profiling. *Mutat Res Gen Tox En.* 2019;843:111-117.
  7. Valente D, Costa-Amaral IC, Carvalho LVB de, Santos MVC dos, Castro VS de, Rodrigues D del RF, et al. Utilização de biomarcadores de genotoxicidade e expressão gênica na avaliação de trabalhadores de postos de combustíveis expostos a vapores de gasolina. *Rev Bras Saúde Ocup.* 2017;42(supl 1):1-21.
  8. Durante M, Formenti SC. Radiation-induced chromosomal aberrations and immunotherapy: Micronuclei, cytosolic DNA, and interferon-production pathway. *Front Oncol.* 2018;8:192.
  9. Huang XY, Eungpinichpong W, Silsirivanit A, Nakmareong S, Wu XH. Tai Chi improves oxidative stress response and DNA damage/repair in young sedentary females. *J Phys Ther Sci.* 2014;26(6):825-829.
  10. Stich HF, Curtis JR, Parida BB. Application of the micronucleus test to exfoliated cells of high cancer risk groups: Tobacco chewers. *Int J Cancer.* 1982;30(5):553-559.
  11. Tolbert PE, Shy CM, Allen JW. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutat Res Mutagen Relat Subj.* 1992;271(1):69-77.
  12. Cavallazzi TG de L, Cavallazzi RS, Cavalcante T de MC, Bettencourt AR de C, Diccini S. Avaliação do uso da Escala Modificada de Borg na crise asmática. *Acta Paul Enferm.* 2005 Mar;18(1):39-45.
  13. Normando VMF, Rodrigues AMP, Silva MNC da, Fernandes N dos A. The importance of pulmonary rehabilitation as therapeutic tool in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Rev Para Med.* 2009;23(2):1-8.
  14. Villaño D, Vilaplana C, Medina S, Cejuela-Anta R, Martínez-Sanz JM, Gil P, et al. Effect of elite physical exercise by triathletes on seven catabolites of DNA oxidation. *Free Radic Res.* 2015;49(8):973-983.
  15. Tagliari NJ, Siqueira LO, Soares JF, Reis VM. Acute aerobic exercise does not cause DNA damage in trained individuals after a running session. *Motricidade.* 2019;15:61-7.
  16. Oliveira MA de, Assunção MS, Meneses YP da SF de. Influência do exercício físico no processo de envelhecimento e estresse oxidativo humano. *FIEP Bull.* 2015;85:1-7.
  17. 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):1-11.
  18. Pereira IRO. Exercício e estresse oxidativo. In: Paschoal, V.; Naves, A. (Orgs.). *Tratado de nutrição esportiva funcional.* São Paulo. Roca. 2014.
  19. Rocha RS, Rocha LS, Santa-Maria LB, Rodrigues LC, Carneiro SR. A influência de um programa de reabilitação pulmonar na descontinuidade da matriz extracelular, no estado de saúde e na resposta ao exercício em pacientes com DPOC. *Rev Bras Ciência e Mov.* 2019; 26(4):67.
  20. Ferraz GA, Neto AOC, Cerqueira E de MM, Meireles JRC. Efeitos da idade sobre as frequências de micronúcleos e alterações nucleares degenerativas. *Rev Bras Geriatr Gerontol.* 2016;19(4):627-634.
  21. Kozakiewicz M, Rowiński R, Kornatowski M, Dabrowski A, Kędziora-Kornatowska K, Strachecka A. Relation of Moderate Physical Activity to Blood Markers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense in the Elderly. *Oxid Med Cell Longev.* 2019; 2019:1-7.
  22. Otocka-Kmiecik A, Lewandowski M, Szkudlarek U, Nowak D, Orłowska-Majdak M. Aerobic training modulates the effects of exercise-induced oxidative stress on PON1 activity: A preliminary study. *Sci World J.* 2014; 2014:1-7.
  23. Cash SW, Beresford SAA, Vaughan TL, Heagerty PJ, Bernstein L, White E, et al. Recent physical activity in relation to DNA damage and repair using the comet assay. *J Phys Act Heal.* 2014;11(4):770-776.
  24. Pichavant M, Remy G, Bekaert S, Le Rouzic O, Kervoaze G, Vilain E, et al. Oxidative stress-mediated iNKT-cell activation is involved in COPD pathogenesis. *Mucosal Immunol.* 2014;7(3):568-78.
  25. Sarker AH, Chatterjee A, Williams M, Lin S, Havel C, Jacob P, et al. NEIL2 Protects against Oxidative DNA damage induced by sidestream smoke in human cells. *PLoS One.* 2014;9(3).
  26. Bialas AJ, Sitarek P, MiBkowska-Dymanowska J, Piotrowski WJ, Górski P. The Role of Mitochondria and Oxidative/Antioxidative Imbalance in Pathobiology of

- Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2016; 2016:15.
27. Hillas G, Perlikos F, Tsiligianni I, Tzanakis N. Managing comorbidities in COPD. *Int J COPD.* 2015;10:95-109.
28. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging.* 2018;13:757-772.
29. Silva ALG da, Rosa HT da, Bender E, Rosa PR da, Salvador M, Charlier CF, et al. Effect of Physical Exercise on the Level of DNA Damage in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients. *ISRN Pulmonol.* 2013; 2013:1-8.
30. Maury J, Gouzi F, De Rigal P, Heraud N, Pincemail J, Molinari N, et al. Heterogeneity of Systemic Oxidative Stress Profiles in COPD: A Potential Role of Gender. *Oxid Med Cell Longev.* 2015; 2015(201843):1-11.

**CORRESPONDÊNCIA**

William Rafael Almeida Moraes

Endereço: Passagem São Pedro, 32.

Marco, Belém, Pará, Brasil. CEP: 66095-720

E-mail: willmoraes@outlook.com