



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE MEDICINA
INSTITUTO DO CORAÇÃO EDSON SAAD

JOSÉ FRANCISCO TATY ZAU

AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES
CORONARIOPATAS REVASCULARIZADOS CIRURGICAMENTE
SUBMETIDOS À REABILITAÇÃO CARDÍACA

RIO DE JANEIRO

2016

JOSÉ FRANCISCO TATY ZAU

**AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES
CORONARIOPATAS REVASCULARIZADOS CIRURGICAMENTE
SUBMETIDOS À REABILITAÇÃO CARDÍACA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina (Cardiologia/Ciências Cardiovasculares), do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina e do Instituto do Coração Edson Saad, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Cardiologia.

Orientadores: Prof.Dr. Roberto Coury Pedrosa

Prof. Dr. Gerez Fernandes Martins

Prof. Dr. Salvador Manoel Serra

Rio de Janeiro

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Zau, José Francisco Taty

Avaliação do estresse oxidativo em pacientes coronariopatas revascularizados cirurgicamente submetidos à reabilitação cardíaca / José Francisco Taty Zau. Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Medicina; Instituto do Coração Edson Saad, 2016.

96 f. ; 31 cm.

Orientadores: Roberto Coury Pedrosa; Gerez Fernandes Martins e Salvador Manoel Serra.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina; Instituto do Coração Edson Saad, Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica (Cardiologia /Ciências Cardiovasculares), 2016.

Referências bibliográficas: f. 77 – 86.

1. Estresse Oxidativo. 2. Doença da Artéria Coronariana. 3. Revascularização Miocárdica. 4. Doenças Cardiovasculares – Reabilitação. 5. Exercício. 6. Ensaios Clínicos Controlados não Aleatórios como Assunto. 7. Cardiologia – Tese. I. Pedrosa, Roberto Coury. II. Martins, Gerez Fernandes. III. Serra, Salvador Manoel. IV. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina; Instituto do Coração Edson Saad, Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica (Cardiologia /Ciências Cardiovasculares). V. Título.

JOSÉ FRANCISCO TATY ZAU

AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES
CORONARIOPATAS REVASCULARIZADOS CIRURGICAMENTE
SUBMETIDOS À REABILITAÇÃO CARDÍACA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina (Cardiologia/Ciências Cardiovasculares), do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina e do Instituto do Coração Edson Saad, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Cardiologia.

Aprovada em: ___/___/2016

Prof. Dr. Basílio de Bragança Pereira

Prof^a. Dr^a Ana Luísa Rocha Mallet

Prof. Dr. Mauro Alves

DEDICATÓRIA

À minha esposa Paula, amiga e companheira
de longa data, pelo carinho e compreensão em
tempo integral.

Aos meus pais, Hilário (*in memoriam*) e
Beatriz, meus maiores exemplos de
perseverança na busca de
conhecimentos.

Às minhas filhas Beatriz e Márcia,
verdadeiras companhias, pelo
carinho, alegria e estímulo constante.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, e por iluminar cada momento da minha vida.

À minha família, pela paciência e apoio incondicional ao longo da minha trajetória.

Aos Professores Roberto Coury Pedrosa, Salvador Manoel Serra e Gerez Fernandes Martins, pelo apoio e orientação permanente na elaboração desta dissertação.

À equipe do Laboratório de Bioquímica experimental da Universidade Federal de Santa Catarina, em especial à Professora Rozângela Pedrosa e Dr. Rodrigo Costa Zeferino, pelo apoio, dedicação e competência na análise das nossas amostras.

Aos Professores Nelson de Albuquerque de Souza e Silva, Lúcia Helena Sales e Gláucia Maria Moraes de Oliveira, pela acolhida, carinho e ensinamentos constantes ao longo da minha formação.

À Professora Christiane Matsuura e Dr. Daniel Medeiros Lima pela amizade e apoio no acondicionamento das amostras em freezer -80°.

A Dra Therezil Bonates da Cunha, pelo carinho, atenção, dedicação e apoio incondicional desde o início da elaboração do projeto.

Aos colegas do curso de pós-graduação, pela amizade e companheirismo durante o curso.

À Secretaria do Programa de Pósgraduação em Cardiologia, em especial o Sr. Mário Luiz Tosta, pela atenção e suporte das nossas necessidades acadêmicas.

Aos profissionais do Instituto Estadual de Cardiologia Aloysio de Castro, especialmente os médicos e funcionários dos setores de Cardiologia do exercício, Unidade de terapia intensiva (pós-operatório), Laboratório de análises clínicas, Ambulatório e Arquivos, por tudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES),
pela concessão da bolsa de estudo.

Aos membros da Banca Examinadora, pelas correções oportunas da
dissertação, tornando-a mais apresentável.

Aos pacientes que concordaram em participar desse estudo.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para que esse
objetivo fosse alcançado.

RESUMO

Zau, José Francisco Taty. **AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES CORONARIOPATAS REVASCULARIZADOS CIRURGICAMENTE SUBMETIDOS À REABILITAÇÃO CARDÍACA**. Rio de Janeiro, 2016. Dissertação (Mestrado em Medicina: área de concentração Cardiologia)- Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Fundamento: A doença cardiovascular é a principal causa de morbimortalidade no mundo. O estresse oxidativo tem implicações na patogênese destas doenças. A reabilitação cardíaca em pacientes com doença arterial coronariana crônica revascularizada cirurgicamente poderá prevenir eventos cardiovasculares, provavelmente através da atenuação do estresse oxidativo.

Objetivo: Verificar se o estresse oxidativo é atenuado por um programa de reabilitação cardíaca em pacientes coronariopatas crônicos revascularizados cirurgicamente, mediante análise de marcadores de dano lipídico, dano proteico e antioxidantes em quatro momentos (M0, M1, M2 e M3).

Pacientes e Métodos: Estudo quase experimental, com séries temporais. A população do estudo foi constituída inicialmente por 40 pacientes com doença coronariana crônica estável que se submeteram à cirurgia de revascularização miocárdica e que frequentaram o programa de reabilitação cardíaca no Serviço de cardiologia do exercício do Instituto Estadual de Cardiologia Aloysio de Castro, entre Janeiro de 2014 e Janeiro de 2016. Para a análise dos dados foi utilizado ANOVA one way e suas significâncias.

Resultados: Após o início da reabilitação cardíaca verificou-se uma diminuição significativa e progressiva nos níveis de TBARS, uma tendência a diminuição da proteína carbonilada, aumento inicial e posterior queda dos níveis de substâncias antioxidantes (SOD, CAT e GPx). Foi verificado aumento gradual e progressivo do ácido úrico e aumento do FRAP apenas no final da reabilitação cardíaca.

Conclusão: O exercício físico regular através de um programa de reabilitação cardíaca pode atenuar o estresse oxidativo em pacientes coronariopatas crônicos revascularizados cirurgicamente.

Palavras chaves: Estresse Oxidativo. Doença da Artéria Coronariana. Revascularização Miocárdica. Exercício.

ABSTRACT

Zau, José Francisco Taty. **AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES CORONARIOPATAS REVASCULARIZADOS CIRURGICAMENTE SUBMETIDOS À REABILITAÇÃO CARDÍACA**. Rio de Janeiro, 2016. Dissertação (Mestrado em Medicina: área de concentração Cardiologia)- Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Background: Cardiovascular disease is the main cause of morbidity and mortality in the world. Oxidative stress has been implicated in the pathogenesis of these diseases. Cardiac rehabilitation in patients with coronary artery disease underwent coronary artery bypass grafting may prevent cardiovascular events probably through the attenuation of oxidative stress.

Objective: To check whether oxidative stress is attenuated by a cardiac rehabilitation program in chronic coronary artery disease in patients underwent coronary artery bypass grafting, by analyzing lipid damage markers, protein damage and antioxidants.

Patients and Methods: Almost experimental study, with time series. The studied population consisted initially of 40 patients with chronic stable coronary artery disease who underwent coronary artery bypass grafting and who attended cardiac rehabilitation program at the State Institute of Cardiology Aloysio de Castro, from January 2014 to January 2016. For data analysis was used ANOVA one-way and their significances.

Results: After the onset of cardiac rehabilitation, there was a significant and progressive reduction in the level of TBARS, a tendency to decrease in protein carbonyl, initial increase and subsequent decrease in the levels of antioxidants (SOD, CAT and GPx). It was found gradual and progressive increase of uric acid and increased FRAP only at the end of the cardiac rehabilitation

Conclusion: Regular exercise through a cardiac rehabilitation program can attenuate oxidative stress in chronic coronary artery disease patients underwent coronary artery bypass grafting.

Key words: Oxidative Stress. Coronary Artery Disease. Myocardial Revascularization. Exercise.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ilustração de como a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio gera um desequilíbrio oxidativo (Estresse oxidativo).	24
Figura 2. Estrutura de um radical livre evidenciando a presença de um elétron desemparelhado na última camada	25
Figura 3. Cadeia transportadora de elétrons.	26
Figura 4. Esquema do estresse oxidativo mostrando a atividade das enzimas antioxidantes.	30
Figura 5. Representação esquemática ilustrando o tempo de exercício físico e as respectivas modificações no organismo.	39
Figura 6. Protocolo geral do estudo.	46
Figura 7. Protocolo de reabilitação cardíaca.	48
Figura 8. Protocolo de preparação das amostras.	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características gerais da população do estudo..... 58

Tabela 2. Tempo em meses após revascularização miocárdica e atividade dos marcadores do estresse oxidativo no início do estudo..... 59

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Análise da peroxidação lipídica (TBARS) ao longo da reabilitação cardíaca.....	60
Gráfico 2. Análise da carbonilação de proteínas ao longo da reabilitação cardíaca.....	61
Gráfico 3. Análise da atividade da enzima SOD ao longo da reabilitação cardíaca.....	62
Gráfico 4. Análise da enzima Catalase ao longo da reabilitação cardíaca.	63
Gráfico 5. Análise da enzima Glutathione Peroxidase (GPx) ao longo da reabilitação cardíaca.	64
Gráfico 6. Análise do marcador antioxidante não enzimático, glutathione reduzida (GSH) ao longo da reabilitação cardíaca.....	65
Gráfico 7. Análise do comportamento do ácido úrico ao longo da reabilitação cardíaca	66
Gráfico 8. Análise da capacidade antioxidante total do plasma (FRAP) ao longo da reabilitação cardíaca.	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AHA	<i>American Heart Association</i> (Sociedade Americana de Cardiologia)
ATP	Trifosfato de adenosina
CAT	Catalase
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DHBS	Diclorohidroxibenzeno sulfonato
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DNPH	2,4-dinitrofenilhidrazina
DPTA	Ácido dietilenotriaminopentacético
DTNB	Ácido 2- nitrobenzóico
EDTA	<i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i> (ácido etilenodiamino tetra-acético)
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FAI	<i>Functional aerobic impairment</i> (Déficit aeróbico funcional)
FAK	<i>Focal adhesion kinase</i> (cinase de adesão focal)
FC	Frequência cardíaca
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i> (Capacidade antioxidante total)
GGT	Gama glutamil transferase
GPx	Glutaciona peroxidase
GSSG	Glutaciona oxidada
GSH	Glutaciona reduzida
GR	Glutaciona redutase
GST	Glutaciona S transferase
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular
IECAC	Instituto Estadual de Cardiologia Aloysio de Castro
IL-1b	Interleucina 1b

LABIOEX	Laboratório de Bioquímica Experimental
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDL- ox	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
LPO	Lipoperoxidação/ Peroxidação lipídica
MET	Equivalente metabólico
MPO	Mieloperoxidase
NAD	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NO	Óxido nítrico
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PC	Proteína carbonilada
PuO ₂	Pulso de oxigênio
RCPM	Reabilitação cardiopulmonar e metabólica
Rpm	Rotações por minuto
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
T-BuOOH	Terc-butilhidroperóxido
TCA	Ácido tricloroacético
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TNB	Ânion tiolato
TNF	Fator de necrose tumoral
TPTZ	2,4,6- tripyridyl-S-triazina
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
VO ₂	Consumo de oxigênio

LISTA DE SÍMBOLOS

Ca^{++}	Cálcio
CO_2	Gás carbônico
Cu^+	Cobre
e^-	Elétron
Fe^{2+}	Ferro
FeCl_3	Cloreto férrico
H^+	Íon hidrogênio
H_2O	Água
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
L^\bullet	Radical alquila
LO^\bullet	Radical alcoxil
LOOH	Hidroperóxido lipídico
Mn^{2+}	Manganês
O_2	Oxigênio
$\text{O}_2^{\bullet-}$	Radical superóxido/ Ânion superóxido
OH^-	Radical hidroxila
ONOO^-	Peroxinitrito
RO^\bullet	Radical alcoxila
ROO^\bullet	Radical peroxila
Zn^{2+}	Zinco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
2. OBJETIVOS	22
3. REVISÃO DE LITERATURA	23
3.1_ Estresse Oxidativo	23
3.2_ Exercício físico e estresse oxidativo	32
3.3_ Estresse oxidativo e doença arterial coronariana	36
3.4_ Estresse oxidativo, doença arterial coronariana e exercício	37
4. JUSTIFICATIVA	40
5. HIPÓTESE.....	41
6. PACIENTES E MÉTODOS.....	42
6.1_ Desenho do estudo	42
6.2_ Seleção de pacientes	42
6.3_ Critérios de inclusão	42
6.4_ Critérios de exclusão	43
6.5_ Dados obtidos dos pacientes pré-programa de reabilitação cardíaca.....	43
6.6_ Avaliação clínica pré-programa de reabilitação cardíaca	44
6.7_ Dinâmica de atendimento para iniciar o programa de reabilitação cardíaca	45
6.8_ Programa de reabilitação cardíaca	47
6.9_ Marcadores do estresse oxidativo e defesas antioxidantes	48
6.9.1_ Preparação das amostras	49
6.9.2_ Marcadores de dano oxidativo	50
a) Peroxidação lipídica (TBARS)	50
b) Proteína carbonilada (PC)	51
6.9.3_ Determinação das defesas antioxidantes enzimáticas	52
a) Superóxido dismutase (SOD)	52
b) Catalase (CAT)	52
c) Glutaciona peroxidase (GPx).....	53
6.9.4_ Determinação das defesas antioxidantes não enzimáticas	53
a) Glutaciona reduzida (GSH).....	53
b) Ácido úrico.....	54
c) Potencial Antioxidante Total do Plasma (FRAP).....	54
6.10_ Acompanhamento clínico durante o estudo	55

6.11_ Considerações éticas	55
6.12_ Conflitos de interesse	56
7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	57
8. RESULTADOS	58
8.1_ Características gerais da população do estudo	58
8.2_ Determinação dos marcadores de dano oxidativo	59
8.2.1_ <i>Lipoperoxidação Tecidual – Determinação de TBARS</i>	59
8.2.2_ <i>Oxidação Protéica - Proteína Carbolinada (PC)</i>	60
8.3_ Determinação das defesas antioxidantes	61
8.3.1_ <i>Determinação da atividade dos antioxidantes enzimáticos</i>	61
8.3.1.1_ <i>Superóxido Dismutase (SOD)</i>	61
8.3.1.2_ <i>Catalase (CAT)</i>	62
8.3.1.3_ <i>Glutathione Peroxidase (GPx)</i>	63
8.3.2_ <i>Antioxidantes não enzimáticos</i>	64
8.3.2.1_ <i>Glutathione Reduzida- GSH</i>	64
8.3.2.2_ <i>Ácido úrico</i>	65
8.3.2.3_ <i>Potencial antioxidante total do plasma (FRAP)</i>	66
9. DISCUSSÃO	68
10. LIMITAÇÕES	74
11. CONCLUSÃO	75
12. CONSIDERAÇÕES FINAIS	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
APÊNDICES	87
Apêndice A. Questionário de frequência alimentar.	88
Apêndice B. Termo de consentimento livre e esclarecido.	90
Apêndice C. Projeção dos resultados mostrando comportamento semelhante com 28 pacientes.	92
ANEXOS	93
Anexo A. Letalidade e complicações da cirurgia de revascularização miocárdica. ...	94
Anexo B. Protocolo do Comitê de ética em pesquisa.	95

1. INTRODUÇÃO

A doença cardiovascular é a principal causa de mortalidade, morbidade e incapacidade no mundo ¹. A aterosclerose, processo patológico mais comum associado à doença cardiovascular, representa um estado de estresse oxidativo elevado caracterizado por peroxidação lipídica e proteica ^{2,3}. A oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL-ox) é o primeiro passo para o desenvolvimento e progressão da aterosclerose e da doença arterial coronariana. O estresse oxidativo é também considerado fator central na disfunção endotelial e ruptura de placa ^{2,4}.

O estresse oxidativo é o desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes em favor do primeiro, caracterizado pelo aumento na produção de radicais livres e queda na produção de substâncias antioxidantes ^{5,6}. O estresse pode gerar danos ao DNA (ácido desoxirribonucleico), às membranas lipídicas (avaliadas por TBARS- substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) e às proteínas (avaliadas por carbonilação de proteínas/PC- proteína carbonilada) ⁶.

Se a formação dos radicais livres excede a capacidade antioxidante, os lipídeos, as proteínas e outros componentes da célula podem ser oxidados ⁷. Para evitar o acúmulo de radicais livres e reduzir ao mínimo o estresse oxidativo, o organismo utiliza o sistema de defesa antioxidante, pois, em sistemas biológicos, as células respondem ao estresse oxidativo mediante a indução das defesas antioxidantes ⁸.

O sistema de defesa antioxidante divide-se em enzimático e não enzimático. O enzimático inclui a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione redutase (GR) e glutathione peroxidase (GPx). O não enzimático inclui glutathione reduzida (GSH), FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*) que avalia a capacidade antioxidante total do plasma, ácido úrico e outros antioxidantes ingeridos através da dieta regular ou suplementos como o ácido ascórbico e alfa tocoferol ^{5,6,9}.

Durante o exercício, o consumo de oxigênio aumenta 10 a 20 vezes em relação ao repouso. Tanto o exercício aeróbico, quanto anaeróbico, contribuem

para esse aumento dando lugar a níveis elevados de radicais livres, modificando assim, o estado redox da célula⁶ que, quando não contrabalançado se manifesta como dano oxidativo a nível muscular esquelético, assim como cardíaco^{10,11}.

Estudos relacionando exercício ao estresse oxidativo comprovam a presença de um desequilíbrio entre os sistemas pró-oxidante e antioxidante, com consequente dano a lipídeos e às proteínas de membrana, assim como ao DNA^{12,13,14}. Senturk e cols., avaliando atletas em um teste incremental máximo, observaram dano às proteínas¹⁵. Michailidis e cols. realizaram um teste de exercício em 11 indivíduos não treinados tendo observado níveis significativamente elevados de TBARS sanguíneo após o exercício¹⁶.

Não obstante, o treinamento físico regular promove adaptações no organismo, podendo prevenir a formação exagerada de radicais livres no exercício, com provável melhora na atividade antioxidante no sentido de garantir o equilíbrio oxidativo^{6,17}.

Os programas de reabilitação cardíaca com foco na prática de exercício físico foram introduzidos no Brasil na década de 1960, com o intuito de garantir a restauração das funções físicas, psicossociais de pacientes com doença cardíaca, bem como na prevenção de eventos cardiovasculares e redução da mortalidade¹⁸. A Organização Mundial de Saúde caracteriza a reabilitação como a integração de intervenções para assegurar as melhores condições físicas, psicológicas e sociais para o paciente com doença cardiovascular¹⁹. O primeiro consenso nacional de reabilitação cardiovascular definiu a reabilitação cardíaca como ramo da cardiologia que, implementada por equipe multidisciplinar, permite a restituição, ao indivíduo, de uma satisfatória condição clínica, física, psicológica e laborativa prevendo a indicação do treinamento físico ao paciente pós-revascularização miocárdica²⁰. A indicação de reabilitação cardíaca para coronariopatas é inquestionável, diante das evidências sobre custo-efetividade e do número de indivíduos que necessitam ser tratados para que o benefício do tratamento ocorra em um paciente (evitando morte e infarto agudo do miocárdio)^{19,20}.

O presente estudo tem como objetivo primordial verificar se o estresse oxidativo é atenuado por um programa de reabilitação cardíaca em pacientes coronariopatas crônicos revascularizados cirurgicamente mediante análise do comportamento dos marcadores bioquímicos do estresse oxidativo.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral

Verificar se o estresse oxidativo (avaliado através de marcadores bioquímicos) é atenuado por um programa de reabilitação cardíaca em pacientes coronariopatas crônicos revascularizados.

Objetivos específicos

Analisar os marcadores de dano oxidativo de lipoperoxidação (TBARS) e oxidação de proteínas (PC);

Analisar os marcadores antioxidantes enzimáticos (SOD, CAT e GPx) e não-enzimáticos (GSH, ácido úrico e FRAP).

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1_Estresse Oxidativo

O estresse oxidativo é o termo geralmente usado para descrever os danos causados pelas espécies reativas do oxigênio nas moléculas ou no organismo. O nível do estresse oxidativo é determinado pelo balanço entre a atividade pró-oxidante e a atividade antioxidante. Assim, o estresse oxidativo é o desequilíbrio entre pró-oxidantes e antioxidantes caracterizado pelo aumento na formação de radicais livres e redução de substâncias antioxidantes^{21, 22, 23} (Figura 1)²².

O corpo humano sofre constantemente ação de espécies reativas de oxigênio (ERO) geradas por alguma disfunção biológica ou até mesmo, provenientes da dieta. As ERO dividem-se em radiculares: hidroxila (OH^\cdot), superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), peroxila (ROO^\cdot) e alcoxila (RO^\cdot) e não-radicalares: oxigênio (O_2), peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso. Enquanto alguns deles são altamente reativos no organismo com os lipídeos, proteínas e DNA, outros são reativos apenas com os lipídeos²⁴.

O principal mecanismo de lesão é a lipoperoxidação (LPO), ou seja, a oxidação da camada lipídica da membrana celular²⁵. O estresse oxidativo pode gerar danos às proteínas e ao DNA, provocando diversas alterações na função celular e tecidual^{21, 24, 25}.



Figura 1. Ilustração de como a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio gera um desequilíbrio oxidativo (Estresse oxidativo). **Fonte:** Google.

Os efeitos benéficos das ERO envolvem papel fisiológico na resposta celular à anóxia, como por exemplo, na defesa contra agentes infecciosos e na função de um número de sistemas sinalizadores celulares. Um exemplo de sua ação benéfica é na diferenciação celular onde as ERO são indutores de resposta mitogênica ²⁶.

Em contraste, em grandes concentrações, as ERO podem mediar danos às estruturas celulares, incluindo lipídeos e membranas, proteínas e ácido nucleico, o chamado estresse oxidativo ²⁶. O efeito deletério das ERO é balanceado por ação dos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos e ainda por antioxidantes nutricionais ²⁷.

O estresse oxidativo tem sido implicado em uma série de doenças humanas, assim como no processo de envelhecimento ²⁶. O delicado equilíbrio entre efeitos benéficos e nocivos das ERO é um aspecto muito importante a ser considerado nos organismos, realizado através de mecanismos chamados de "regulação redox". O processo de "regulação redox" protege os organismos do estresse oxidativo e mantém a "homeostase redox", através de uma fina regulação ²⁷.

Radicais livres

Radical livre é um átomo ou molécula altamente reativo que possui um elétron desemparelhado (ímpar) na última camada eletrônica (Figura 2) ^{28, 29, 30}.

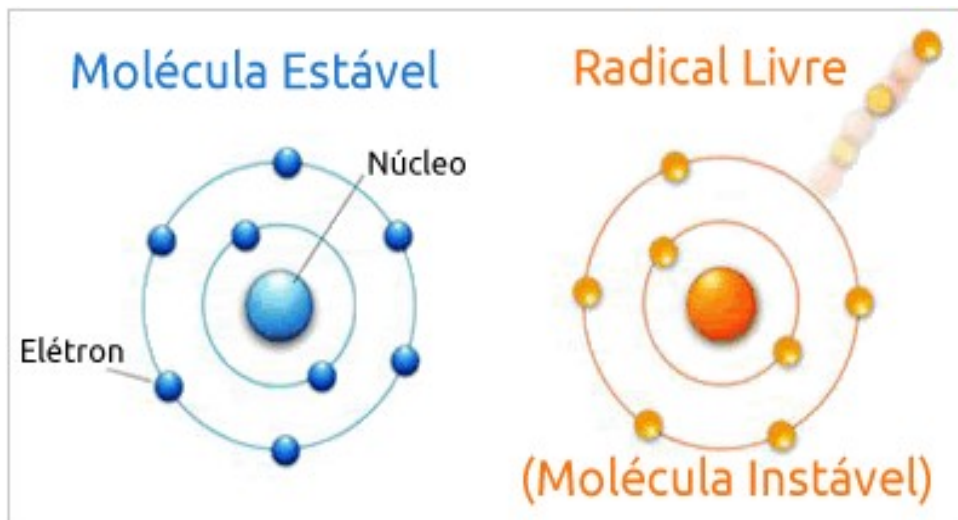


Figura 2. Estrutura de um radical livre evidenciando a presença de um elétron desemparelhado na última camada. **Fonte:** Google.

Dentre eles destacam-se o radical superóxido e radical hidroxila, estando o radical superóxido presente em quase todas as células aeróbicas e produzido durante a ativação máxima de neutrófilos, monócitos, macrófagos e eosinófilos. O radical hidroxila é a espécie mais reativa em sistemas biológicos ³¹. O peróxido de hidrogênio apesar de não ser um radical livre, por não apresentar elétron desemparelhado na sua última camada, é considerado um metabólito do oxigênio bastante deletério, pois participa da geração do radical hidroxila (OH^\cdot) ³¹.

Os radicais livres de oxigênio são produzidos naturalmente em nosso organismo através de processos metabólicos oxidativos e são de extrema utilidade na ativação do sistema imunológico (exemplo, uso de peróxido de hidrogênio pelos macrófagos para destruir bactérias), desintoxicação de drogas e na produção do óxido nítrico (NO), extremamente importante no relaxamento vascular ⁵.

Aproximadamente 85% a 90% do oxigênio que respiramos são utilizados pela mitocôndria, através da cadeia transportadora de elétrons (Figura 3) ³² e

10% a 15% restantes são utilizados por diversas enzimas oxidases e oxigenases e também por reações químicas de oxidação diretas.⁵

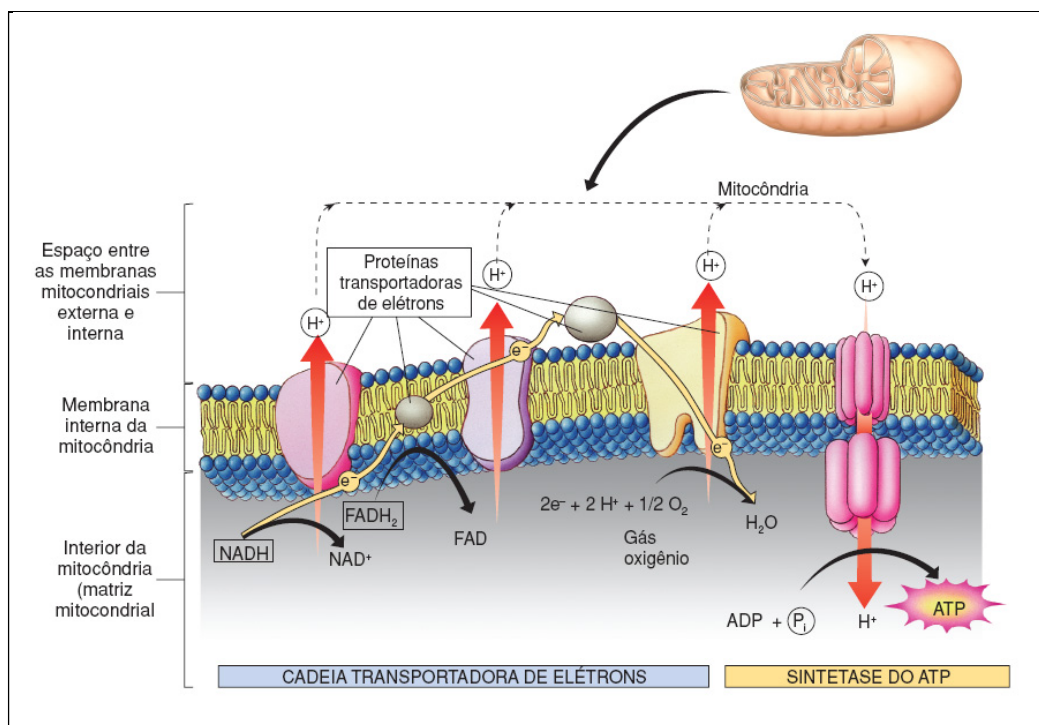
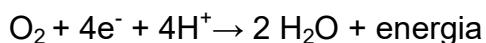


Figura 3. Cadeia transportadora de elétrons. **Fonte:** Google.

Na parte terminal da cadeia transportadora de elétrons, a enzima citocromo oxidase (equação 1) remove um elétron de cada uma das quatro moléculas reduzidas de citocromo c, oxidando-as e adiciona os quatro elétrons ao O_2 para formar água. Os restantes são reduzidos de forma univalente em metabólitos denominados espécies reativas de oxigênio^{5,33}.

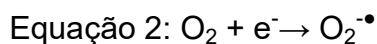
Equação 1- redução tetravalente do oxigênio



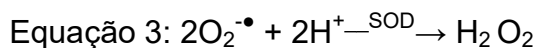
Espécies reativas de oxigênio (ERO)

O oxigênio tem forte tendência a receber um elétron de cada vez, em virtude da sua configuração eletrônica, favorecendo a formação de espécies reativas de oxigênio, conforme se segue em equações abaixo ^{10, 28, 33}.

a) A adição de um elétron a uma molécula de oxigênio no estado fundamental favorece a formação do radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$).

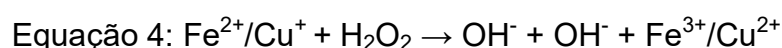


b) O ânion superóxido ao receber mais um elétron e dois íons de hidrogênio, forma peróxido de hidrogênio (H_2O_2), através do processo de dismutação, reação catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD) que é encontrada em quantidades elevadas nas células de mamíferos.

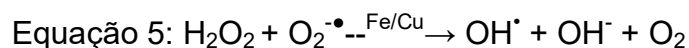


c) Quando o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) recebe mais um elétron e um íon hidrogênio, dá-se a formação do radical hidroxil (OH^\bullet), o mais reativo dos intermediários, pois pode reagir e alterar qualquer estrutura celular que esteja próxima e assim influenciar enzimas, membranas e até mesmo ácidos nucleicos ^{10, 28, 33}.

O radical hidroxil pode ser formado quando o H_2O_2 reage com íons ferro ou cobre (reação de Fenton).



Os íons de metais de transição podem também catalisar a reação entre H_2O_2 e ânion superóxido, dando a formação do radical hidroxil (reação de Haber- Weiss).



Os radicais superóxido e hidroxil são considerados radicais livres, pelo fato de apresentarem elétrons desemparelhados em sua última camada eletrônica. O peróxido de hidrogênio não é um radical livre, no entanto, representa um metabólito de oxigênio parcialmente reduzido. Os metabólitos derivados do oxigênio são chamados espécies reativas de oxigênio (ERO), em

função da aumentada reatividade para as biomoléculas e alteram o tamanho e a forma dos compostos com os quais interagem. E, o radical superóxido pode reagir com o óxido nítrico (NO), uma espécie reativa de nitrogênio, gerando peroxinitrito e, conseqüentemente este pode gerar um oxidante com características semelhantes ao do radical hidroxil ^{10, 28, 33}.



Cada uma das espécies reativas de oxigênio tem suas próprias características, apresentando reatividade e tempo de meia vida diferentes ^{10, 28, 33}.

Defesa antioxidante

Por definição, antioxidante é qualquer substância que atrasa ou impede significativamente a oxidação de um substrato potencialmente oxidável. Ou seja, qualquer substância que retarda, previne ou remove danos oxidativos a uma molécula alvo ³⁴. A exposição a uma variedade de radicais livres tem levado ao longo do tempo, os organismos a desenvolverem uma série de mecanismos de defesas antioxidantes, que; esses mecanismos podem ser enzimáticos, não enzimáticos e nutricionais ³⁵.

O sistema de defesa antioxidante divide-se em enzimático e não enzimático. O primeiro inclui as enzimas do ciclo redox da glutathiona, especialmente a glutathiona peroxidase (GPX). Inclui igualmente a superóxido dismutase (SOD), dependente de cobre (Cu^{2+}) e zinco (Zn^{2+}) como cofatores na dismutação do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio, bem como a catalase (CAT). O sistema não enzimático constitui-se de compostos sintetizados pelo organismo humano, tais como, bilirrubina, ceruloplasmina, melatonina, coenzima Q, ácido úrico, e outros antioxidantes ingeridos regularmente na dieta ou suplementos como o ácido ascórbico (vitamina C), alfa tocoferol (vitamina E), beta caroteno (precursor da vitamina A) e flavonoides ³⁶.

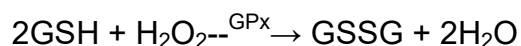
Os antioxidantes do sistema enzimático atuam por meio de mecanismos de prevenção, impedindo e/ou controlando a formação de radicais livres e espécies não radicais, implicados no surgimento de danos oxidativos às membranas ^{1,34,36}.

A superóxido dismutase está presente no organismo em duas formas, a primeira contém cobre (Cu^{2+}) e zinco (Zn^{2+}), ocorre no citosol e a sua atividade não é afetada pelo estresse oxidativo. A segunda contém manganês (Mn^{2+}), ocorre na mitocôndria e a sua atividade aumenta em virtude do estresse oxidativo. A SOD catalisa a conversão do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) ^{24,36}.

A catalase desempenha um importante papel na eliminação do peróxido de hidrogênio, promovendo a sua catálise até água e oxigênio (O_2) ^{24,36}.



A glutaciona peroxidase, à semelhança da superóxido dismutase e da catalase, também funciona como mecanismo de proteção contra o estresse oxidativo, através da conversão da glutaciona reduzida (GSH) à glutaciona oxidada (GSSG), removendo o excesso de peróxido de hidrogênio e formando água ^{24,36}.



Portanto, tanto a catalase quanto a glutaciona peroxidase evitam acúmulo de ânion superóxido e de peróxido de hidrogênio para que não haja produção de radical hidroxil, contra a qual não existe sistema enzimático de defesa (Figura 4) ³³. O equilíbrio entre as enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GPx) é importante para a manutenção da integridade celular ^{24,33,36}.

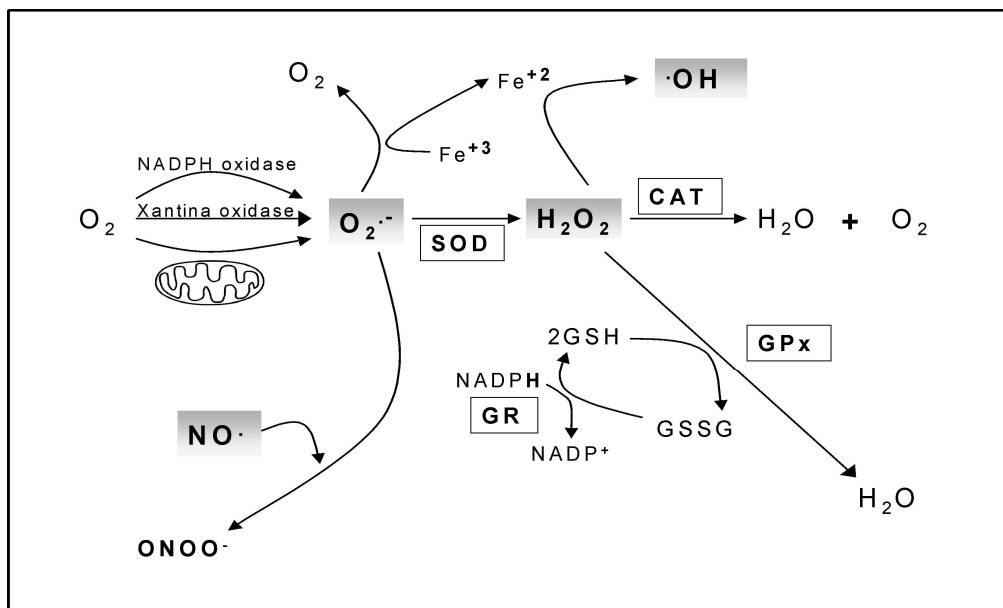


Figura 4. Esquema do estresse oxidativo mostrando a atividade das enzimas antioxidantes.

Danos ao DNA, proteínas e lipídeos

A citotoxicidade do estresse oxidativo está relacionada ao potencial das ERO e ERN (espécies reativas de nitrogênio) em oxidar os constituintes celulares, incluindo proteínas, lipídios e DNA, os quais levam a deterioração da estrutura e função e até a morte celular³⁷. Essas alterações ao longo do tempo estão associadas ao desenvolvimento de condições patológicas tais como: câncer, arteriosclerose, artrite, doenças neurodegenerativas, doenças inflamatórias crônicas, doença coronariana, dentre outras condições³⁸.

Dano ao DNA

O radical OH^\cdot é conhecido por reagir com todos os componentes da molécula de DNA, causando alterações tanto em bases púricas e pirimídicas, quanto na fita de desoxirribose, podendo ocasionar defeitos no processo de replicação de DNA, levando a mutações e erros de transcrição. Essa alteração permanente no material genético resultante de dano oxidativo, representa o

primeiro passo envolvido em mutagênese, carcinogênese e processo de envelhecimento. A reação do OH^- com a guanina, dá origem a 8-hidroxi guanina (8-OH-G), sendo que, sua dosagem urinária é um excelente marcador de estresse oxidativo e carcinogênese ²⁷.

Dano proteico

Vários tipos diferentes de modificações oxidativas em proteínas podem ser induzidas por ataque direto e indireto de ERO e ERN e produtos secundários de estresse oxidativo. A oxidação de proteínas ocorre principalmente pelo ataque de radicais O_2^{\bullet} e OH^- e pode ocorrer através de vários mecanismos, tais como: oxidação do sítio catalítico, oxidação induzindo a quebra da cadeia polipeptídica, oxidação de aminoácidos e conjugação de produtos de peroxidação lipídica. O maior produto de oxidação proteica é a geração de proteína carbonilada, através de reações com produtos de lipoperoxidação lipídica, açúcares ou metabólitos oxidados, sendo que, a principal consequência é que esse grupamento pode promover a ligação intra ou inter molecular e formar agregados proteicos. Esses agregados são incapazes de sofrer degradação via mecanismos proteolíticos, causando inibição desses processos e consequentemente promovem acúmulo de proteínas oxidadas com aumento de disfunção celular, afetando processos como sinalização celular, estrutura celular e processos enzimáticos, como o metabolismo. A determinação de proteína carbonilada é um excelente marcador de estresse oxidativo proteico ²⁷.

Dano lipídico

O processo de oxidação de lipídeos é denominado de peroxidação lipídica ou lipoperoxidação (LPO) e, é o maior evento consequente do estresse oxidativo em lipídios poliinsaturados em membranas celulares. Esse processo pode causar alterações na fluidez e permeabilidade da membrana

citoplasmática, alterações de transporte iônico e inibição de processos metabólicos ³⁸. A LPO começa com a fase de iniciação, onde uma espécie reativa ataca o ácido graxo poliinsaturado, abstraindo um átomo de hidrogênio do grupamento metileno, formando um radical de carbono (L·). Em meio aeróbio, o radical alquila inicialmente formado se combina com o oxigênio formando o radical peroxil (ROO·), o qual pode abstrair um hidrogênio de outro ácido graxo, gerando um hidroperóxido lipídico (LOOH), este, ainda pode sofrer quebra por metais produzindo radicais alcóxil (LO·), sendo que ambos os radicais promovem a etapa de propagação, sequestrando hidrogênios de ácidos graxos adjacentes. A terceira e última etapa da reação, a fase de terminação, dá-se pelo desmembramento dos radicais formados originando aldeídos reativos, com grande capacidade de difusão, como o malondialdeído ³⁸.

3.2_Exercício físico e estresse oxidativo

Durante o exercício físico ocorrem adaptações fisiológicas que acarretam ajustes cardiorrespiratórios para compensar e manter o esforço realizado. O exercício físico intenso induz a formação de espécies reativas de oxigênio, que podem contribuir para o aparecimento de danos celulares, mediante ativação de três principais vias de formação das espécies reativas de oxigênio: produção mitocondrial, produção citoplasmática e produção favorecida pelos íons ferro e cobre ³⁹.

Produção mitocondrial de espécies reativas de oxigênio no exercício

O oxigênio consumido é reduzido à água na mitocôndria por intermédio da citocromo oxidase, a qual impede a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio nas mitocôndrias das células. No entanto, cerca de 2% a 5% do oxigênio consumido gera normalmente espécies reativas de oxigênio, tais como o ânion superóxido e peróxido de hidrogênio. Ocorre elevação na produção mitocondrial de espécies reativas de oxigênio no organismo durante o exercício físico, devido ao aumento na atividade das enzimas reguladoras

(citrato sintetase, isocitrato desidrogenase e oxoglutarato desidrogenase) do Ciclo de Krebs no músculo esquelético, assim sendo, a acentuada atividade destas enzimas é consistente com o metabolismo mitocondrial ativado nesta situação ³⁹.

Produção citoplasmática de espécies reativas de oxigênio no exercício

Durante o exercício físico ocorre aumento da atividade do ciclo de degradação das purinas, logo, a adenosina monofosfato é desaminada pela enzima adenilato desaminase, a inosina monofosfato que se acumula no músculo esquelético. Como a inosina monofosfato não se difunde rapidamente do músculo esquelético durante o exercício intenso, o seu acúmulo pode levá-la a uma via secundária de metabolização, ocasionando a formação de hipoxantina, xantina, ácido úrico e peróxido de hidrogênio ³⁹.

A xantina oxidase em presença de oxigênio catalisa a oxidação da hipoxantina a xantina e esta a ácido úrico. Em condições de repouso, esta enzima está na forma de xantina desidrogenase (pouco ativa), utilizando o NAD⁺ como aceptor de elétrons. Quando há isquemia provocada pelo exercício intenso, a xantina desidrogenase é convertida à xantina oxidase usando o oxigênio molecular como aceptor de elétrons, gerando com isso o ânion superóxido e peróxido de hidrogênio ³⁹.

Pesquisas demonstraram a ocorrência de dano ao DNA nos leucócitos circulantes após exercício em esteira. Pela primeira vez isto foi mostrado em indivíduos treinados, mas, como a extensão do dano foi pequena, sugeriu-se que a adaptação ao treinamento de resistência aeróbia pode reduzir os efeitos do estresse oxidativo, como o dano ao DNA ^{40,41,42}.

Em virtude do maior consumo de oxigênio, o exercício físico pode promover aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, com mudanças no estado redox da célula. Além de mais, ocorre aumento na liberação de catecolaminas e auto-oxidação das mesmas, com consequente produção de radicais livres. Também, existe a possibilidade de o dano muscular subsequente ao exercício físico causar inflamação e liberar ânion superóxido

pela oxidação da NADPH dos neutrófilos. Por conseguinte, a formação de espécies reativas de oxigênio, presentes no exercício físico, pode se dar também, pela produção de ânion superóxido pela mitocôndria, mediante reação da flavina com o oxigênio molecular ⁴³.

Linke e *co/s.* avaliaram o efeito do treinamento aeróbio em 23 pacientes com insuficiência cardíaca crônica e, após seis meses, observaram aumento na atividade das enzimas CAT e GPx. Com o treinamento físico foi verificado a diminuição das citocinas inflamatórias e aumento na atividade da GPx e da CAT, resultando em diminuição do estresse oxidativo e da apoptose. Como o treinamento físico induziu redução em TNF- α , isso aumentou os níveis de GSH, proporcionando o aumento na atividade da GPx ⁴⁴.

Miyazaki e *co/s.* avaliaram o efeito de 12 semanas de treinamento aeróbio de intensidade moderada, uma hora de corrida a 80% da frequência cardíaca (FC) máxima, cinco vezes por semana e, encontraram aumentos da SOD e da GPx após o treinamento ⁴⁵.

Portanto, o estresse oxidativo induzido pelo exercício físico parece ser influenciado pela sua intensidade. A magnitude da melhora do sistema de defesa antioxidante depende do treinamento ⁴⁶.

Mecanismos de formação das espécies reativas de oxigênio no exercício

A demanda energética durante a atividade muscular supera em mais de 30 vezes a demanda de repouso. No entanto, durante a atividade física ocorre um aumento no consumo de oxigênio, em grande parte em decorrência do aumento do trabalho muscular. Pelo fato de as espécies reativas de oxigênio serem produzidas através do metabolismo intermediário, o exercício provoca aumento da sua produção ⁵.

Os principais mecanismos envolvidos na formação das ERO são:

1- Interrupções temporárias das bombas de ATP (Trifosfato de adenosina) dependentes de cálcio (Ca^{++}) levam ao aumento das concentrações de cálcio intracelular, ativando a via da xantina oxidase durante o exercício, convertendo a xantina desidrogenase em xantina oxidase. A xantina oxidase usa o oxigênio molecular em vez de NAD^+ (Nicotinamida adenina dinucleotídeo) como aceitante de elétrons gerando assim, o radical superóxido ^{17,47}.

2- Exercício intenso pode aumentar o estresse oxidativo devido à hipóxia e reoxigenação temporárias, em função das contrações e relaxamentos sucessivos. Durante a contração, ocorre a compressão vascular gerando isquemia e, conseqüentemente, hipóxia. No relaxamento, ocorre a reperusão e, portanto, a reoxigenação. Na reoxigenação, uma explosão de reduções mono eletrônicas (*respiratory burst*) pode converter o oxigênio molecular em radical superóxido ^{17,47}.

3- A ativação de leucócitos polimorfonucleares pode estimular a produção de radicais livres para melhorar os mecanismos de defesa do hospedeiro em resposta ao dano muscular induzido pelo exercício. Os neutrófilos, assim como os monócitos e eosinófilos podem reduzir o oxigênio molecular a radical superóxido via NADPH oxidase (Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato), a qual está inativa nas células em repouso ⁴⁷.

4- Concentrações elevadas de cálcio podem ativar a enzima fosfolipase A_2 , a qual libera o ácido araquidônico a partir dos fosfolipídios. A ciclooxigenase reage com o ácido araquidônico para gerar o radical hidroxil ^{5,17,47}.

5- A hipóxia tem sido associada ao aumento da atividade da óxido nítrico sintase (NOS), levando a formação de radicais do óxido nítrico. Estes radicais podem reagir com o ânion superóxido para formar o peroxinitrito, um oxidante mais potente ^{5,47}.

Portanto, a possibilidade de ocorrer lesão oxidativa nos tecidos depende do equilíbrio entre a geração de espécies reativas de oxigênio e a eficácia dos mecanismos antioxidantes ⁴⁷.

3.3_Estresse oxidativo e doença arterial coronariana

As células da parede vascular, células endoteliais e células musculares lisas, além de produzirem ânion superóxido e peróxido de hidrogênio, são expostos a ERO liberadas pelas células sanguíneas e inflamatórias. Os estados iniciais de aterosclerose são caracterizados por acúmulo de LDL no espaço subendotelial, podendo a LDL sofrer modificação oxidativa pelas células endoteliais, células musculares lisas e macrófagos ⁴⁸. Essas espécies reativas de oxigênio são altamente instáveis e extremamente reativas. O tempo de meia vida curta que as mesmas possuem, as tornam altamente tóxicas para os tecidos, incluindo o coração ⁴⁹.

A hipótese de modificação oxidativa está focada em grande parte em torno dos eventos iniciais na aterosclerose e a formação de lesões. No entanto, existem outros eventos oxidativos além da oxidação da LDL que estão envolvidos na aterosclerose e que contribuem para as manifestações clínicas da doença. Por exemplo, ERO e ERN têm sido implicadas na proliferação de células do músculo liso, na ativação de metaloproteinase e na função endotelial. Assim, a produção de citocinas e ERO dentro da placa aterosclerótica tem implicações importantes para a sua integridade estrutural. A produção desregulada de oxidantes tem o potencial de promover a produção e ativação de enzimas que degradam a matriz da capa fibrosa da placa ².

Sabe-se que a hipertensão, hipercolesterolemia, diabetes e aterosclerose estão associados com um aumento do fluxo de O_2^- na parede vascular que reage com NO resultando na formação do peroxinitrito ($ONOO^-$) que por sua vez diminui a bioatividade do NO na parede vascular e que resulta na vasoconstrição ².

A modificação oxidativa da LDL é de suma importância para o desenvolvimento da aterosclerose. Partículas de LDL densas, menores, conhecidas como fator de risco para a doença cardiovascular, podem promover a aterogênese, pois, elas não se ligam prontamente para o receptor endógeno de LDL e, por conseguinte, não são eliminadas da circulação. Penetram na

Íntima arterial mais facilmente, são rapidamente oxidadas, possivelmente porque elas contêm menos proteção antioxidante, e são absorvidas pelos macrófagos, acelerando a formação de células espumosas. Esta característica histológica precoce conduz ao desenvolvimento de placas ateroscleróticas⁵⁰.

O estresse oxidativo induz a expressão de FAK (*focal adhesion kinase*) e ICAM-1 (molécula de adesão intercelular), as quais, conduzem à invasão da parede arterial por monócitos e células T, considerado um dos eventos mais precoces no desenvolvimento da lesão aterosclerótica. Este processo pode ser estimulada por citocinas e outros fatores, tais como TNF (fator de necrose tumoral), IL-1b (interleucina 1b), a angiotensina II e interferon, os quais, induzem a produção de ânion superóxido a partir do NADPH (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato) oxidase de membrana nas células endoteliais⁵¹. Vários estudos epidemiológicos importantes têm observado que o aumento nos níveis de antioxidantes limita a expressão clínica da doença arterial coronariana^{50,52,53}.

Em pacientes com doença arterial coronariana uma baixa atividade de antioxidantes ou o aumento dos níveis plasmáticos de ERO e mieloperoxidase estão associados com um risco aumentado de eventos².

Portanto, os antioxidantes reagem com os radicais livres neutralizando seus efeitos, mediante doação de elétrons formando assim radicais muito menos reativos. Eles são importantes não apenas por reagirem diretamente com os radicais livres, mas também, por agirem entre eles de forma sinérgica⁵⁰.

3.4_Estresse oxidativo, doença arterial coronariana e exercício

O sedentarismo é um dos fatores de risco mais importantes para inúmeros distúrbios e doenças do sistema músculo-esquelético, cardiovascular, metabólico, entre outros. Os benefícios do exercício físico regular a uma intensidade e duração adequadas têm sido amplamente comprovados.^{54,55} Sabe-se que a sua prática por pelo menos 150 minutos por semana é

extremamente importante para a prevenção primária de eventos cardiovasculares, e a reabilitação cardíaca é um fator protetor na prevenção secundária ⁵⁶.

Em geral, o impacto dos radicais livres em alguns componentes celulares é medida através da quantificação da peroxidação lipídica. Em pacientes com doença cardíaca coronariana tem sido relatado melhora da função endotelial com o aumento da atividade da SOD e atenuação do estresse oxidativo a partir de 12 semanas de treinamento ⁵⁷.

O exercício físico, apesar de causar estresse oxidativo, exerce também um papel cardioprotetor. A hipótese pela qual se pode explicar o efeito clínico de redução do risco cardiovascular se baseia no fato de que, no início da prática de exercício físico (em torno de dias) há aumento das ERO (espécies reativas de oxigênio) com consequente estresse oxidativo, aumento da susceptibilidade à oxidação da LDL e possível aumento da ativação e agregação plaquetária. Com o treinamento (10 a 12 semanas) se consegue adaptações tais como, aumento de enzimas antioxidantes e eNOS (óxido nítrico sintase endotelial), levando a uma diminuição das ERO (fazendo com que a SOD ao metabolizar o ânion superóxido, previne a reação deste com o NO), ocorrendo menor suscetibilidade do LDL à oxidação, assim como a redução da resposta inflamatória, resultando na estabilização da placa de ateroma (em torno de meses), e uma possível diminuição da ativação e agregação plaquetária e, modificação de outros fatores de risco, entre os quais, a diminuição da pressão arterial (Figura. 5) ⁵⁷.

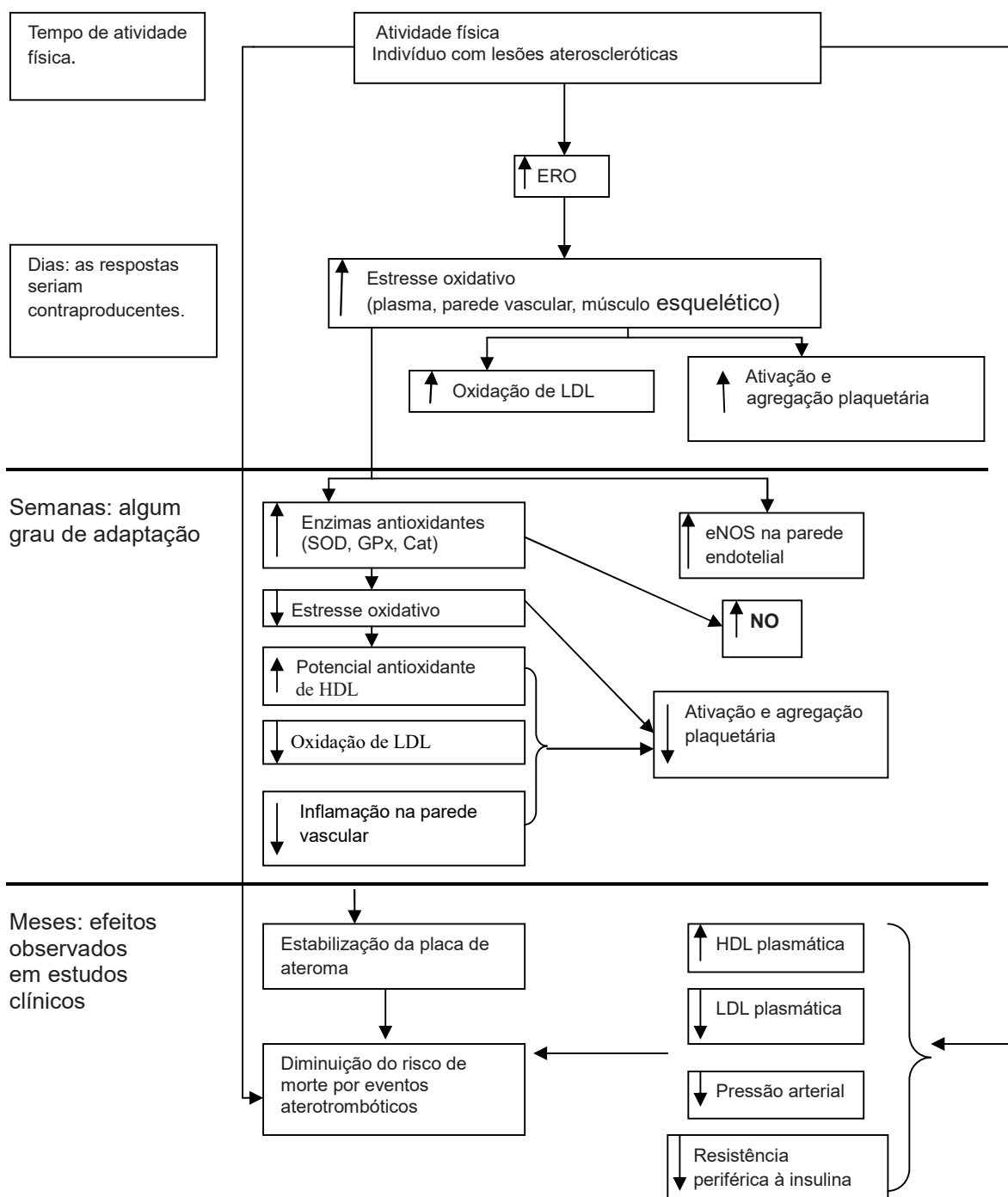


Figura 5. Representação esquemática ilustrando o tempo de exercício físico e as respectivas modificações no organismo.

4. JUSTIFICATIVA

Existem controvérsias no papel do estresse oxidativo no exercício:

- Alguns autores defendem que o exercício físico pode promover aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, modificando assim, o estado redox da célula. Além de mais, ocorre aumento na liberação de catecolaminas e auto-oxidação das mesmas, podendo produzir radicais livres^{6,40,58,59}.
- Outros defendem que o exercício físico regular promove adaptações favoráveis ao organismo mediante equilíbrio na produção de antioxidantes^{47,60,61}.

Em virtude disso, decidimos avaliar os benefícios de um programa de reabilitação cardíaca no controle do estresse oxidativo.

5. HIPÓTESE

O treinamento físico regular atenua o estresse oxidativo em pacientes coronariopatas crônicos revascularizados.

6. PACIENTES E MÉTODOS

6.1_ Desenho do estudo

Estudo quase experimental, com séries temporais.

6.2_ Seleção de pacientes

A população do estudo foi constituída por pacientes com doença coronariana crônica estável que se submeteram à cirurgia de revascularização miocárdica, com início no programa de reabilitação cardíaca, entre seis meses e um ano após a alta hospitalar. O período do estudo foi de Janeiro de 2014 a Janeiro de 2016.

São pacientes do Sistema Único de Saúde, moradores do Estado do Rio de Janeiro.

6.3_ Critérios de inclusão

- 1- Pacientes com antecedentes de cirurgia de revascularização miocárdica, com indicação de iniciar programa de reabilitação cardíaca entre o 6º mês e 1 ano após a alta hospitalar.*
- 2- Pacientes com duas ou mais pontes (safena/ mamária).
- 3- Pacientes com fração de ejeção igual ou maior que 35%.
- 4- Pacientes com padrão alimentar e medicamentoso definido e que não estavam em uso de vitamina C, vitamina E, e suplementos alimentares contendo compostos antioxidantes.

*A justificativa para a escolha de pacientes dentro desse período, se deve ao fato de não haver diferença significativa na letalidade entre o 6º mês e 1 ano após alta hospitalar, ou seja, o grupo é mais homogêneo (Anexo A).

6.4_ Critérios de exclusão

1- Pacientes menores de 18 anos.

2- Grávidas.

3- Fumantes

4-Protocolo inicial de admissão incompleto

5- Dados clínicos ou laboratoriais sugestivos de doença renal aguda ou crônica, doença hepática, insuficiência cardíaca refratária ou disfunção tireoidiana em qualquer estágio;

6- Pacientes com condições clínicas instáveis que contraindicam a prática de exercício físico:

- Angina instável, tromboflebite, embolia recente, infecção sistêmica aguda;
- Bloqueio átrio- ventricular de 3º grau sem marca-passo, pericardite ou miocardite aguda, arritmia não controlada;
- Insuficiência ou estenose mitral ou aórtica graves sem tratamento adequado, hipertensão arterial descontrolada (PAS \geq 200 mm Hg e/ou PAD \geq 110 mm Hg), depressão do segmento ST \geq 2 mm;
- Problemas ortopédicos ou neurológicos graves, *diabetes mellitus* descontrolada, doença sistêmica aguda ou febre de origem desconhecida.

6.5_ Dados obtidos dos pacientes pré-programa de reabilitação cardíaca

A- Anamnese e exame físico completos

Dados constitucionais: data de nascimento (idade), sexo, altura e peso corporal, pressão arterial, frequência cardíaca;

Dados sócio-econômicos: local de nascimento e perfil migratório, situação conjugal, escolaridade, renda familiar, profissão e vínculo empregatício e ocupação, uso de fumo e de bebidas alcoólicas, dieta e atividade física.

História reprodutiva das mulheres;

História patológica pregressa: outras doenças associadas.

B - Base de dados padronizada de exames complementares:

Hemograma (hemoglobina-g%; leucócitos-células/mm³), glicemia-mg/dl, creatinina- mg/dl, ácido úrico- mg/dl, sódio- mEq/l, potássio- mEq/l, proteínas totais e frações- g/dl, TSH- mU/L, T4 livre- ng/dl, urinálise, colesterol total-mg/100ml, HDL-colesterol-mg/dl, LDL-colesterol-mg/dl, triglicerídeos-mg/dl, avaliação radiológica, eletrocardiografia de repouso, ecocardiograma transtorácico (exames realizados no Serviço de Cardiologia do IECAC). Os dados acima referidos foram registrados em ficha apropriada e anexados em prontuário.

6.6_ Avaliação clínica pré-programa de reabilitação cardíaca

A avaliação clínica foi realizada para permitir a verificação de sinais e sintomas cardiovasculares, compatíveis com a doença coronariana, assim como para fazer o diagnóstico diferencial com outras cardiopatias ou doenças não cardíacas que afetam o sistema cardiovascular. Também foram checadas as medicações ao longo do estudo.

Os hábitos alimentares dos pacientes foram checados por 3 vezes em tempos diferentes através de questionário de frequência (Apêndice A) e uma quarta vez através de um recordatório alimentar descrito pelo paciente. Somente foram considerados para o estudo aqueles pacientes que tiveram as respostas coincidentes entre os questionários e o recordatório. E, ao longo do presente estudo foram checados pelo menos mais duas vezes os hábitos alimentares dos mesmos (aos dois meses e aos quatro meses) mediante uso do questionário de frequência.

6.7_Dinâmica de atendimento para iniciar o programa de reabilitação cardíaca

Para ingressar no programa de reabilitação cardíaca, os pacientes foram primeiramente submetidos à anamnese, para avaliação da sua indicação e do histórico da doença. Em seguida, os pacientes participaram de duas sessões de palestras educativas onde foram apresentadas noções básicas do funcionamento do aparelho cardiovascular, bem como informações sobre os fatores de risco cardiovascular, a doença cardíaca, a importância da dieta e orientações sobre o funcionamento do setor de reabilitação cardíaca.

No final da reunião, os pacientes foram convidados a participar da pesquisa, sendo entregue o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) para leitura minuciosa e assinatura (Apêndice B). Posteriormente, os pacientes foram submetidos ao teste ergométrico convencional para a avaliação funcional e prescrição do exercício, porém, antes do teste ergométrico procedeu-se à coleta de amostras de sangue para aferição dos marcadores bioquímicos do estresse oxidativo e, em seguida começaram a reabilitação cardíaca (Figura 6).

O teste ergométrico foi realizado em esteira ergométrica (Micromed-Brasília) e o programa de ergometria (Ergo PC 13 Micromed- Brasília), sob protocolo individualizado em rampa. A reabilitação cardíaca foi realizada por uma equipe multidisciplinar.

Fluxograma

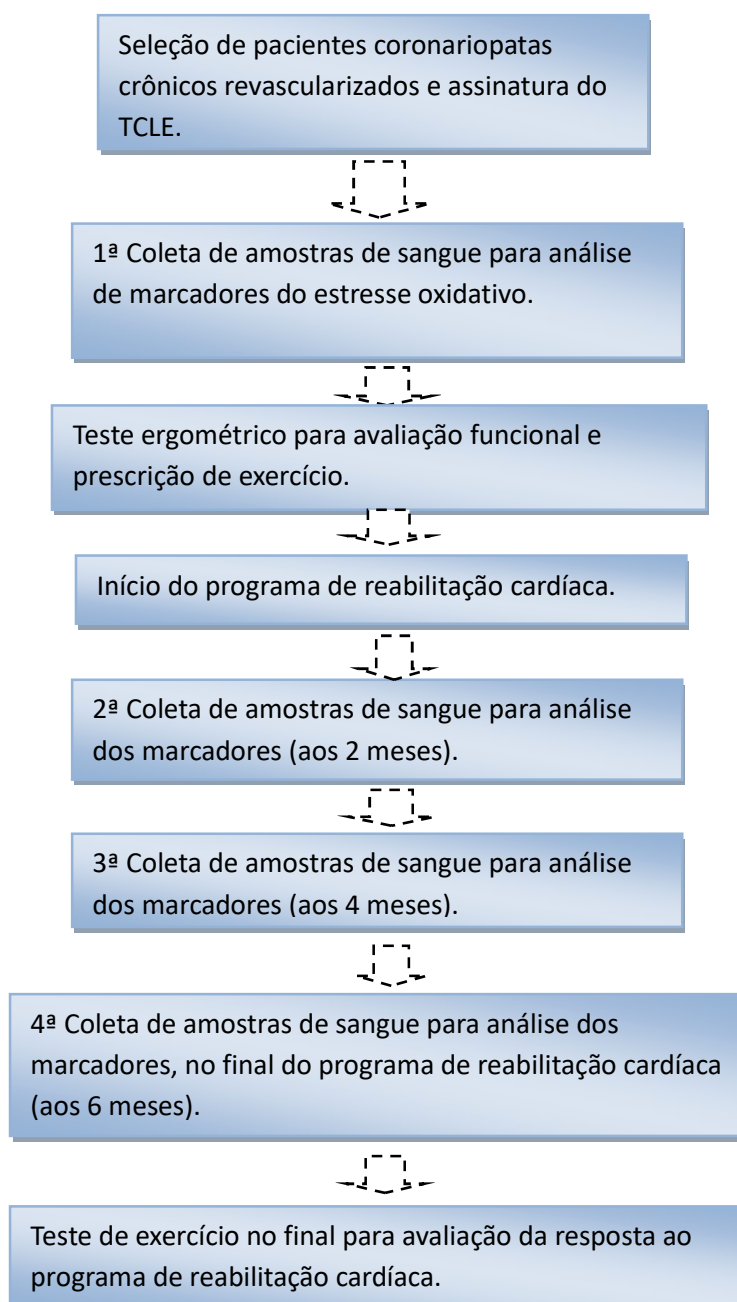


Figura 6. Protocolo geral do estudo.

Foram realizadas 50 sessões de exercício durante o programa de reabilitação cardíaca. Entretanto, o seguimento foi de seis meses.

6.8_ Programa de reabilitação cardíaca

O programa de reabilitação cardíaca teve a duração de seis meses, com um total de 50 sessões de exercícios realizadas duas vezes por semana, com a duração diária de uma hora e quinze minutos, dividido da seguinte forma: cinco minutos de aquecimento, seguidos de 20 e dez minutos de exercício aeróbico em esteira e bicicleta respectivamente, 20 minutos de musculação e finalmente cinco minutos de alongamento (Figura 7). Ou seja, as sessões englobaram exercícios dinâmicos realizados em esteira e cicloergômetro, exercícios de força em equipamentos específicos de musculação, exercícios de equilíbrio e de flexibilidade.

A intensidade de exercício na primeira sessão foi estimada com base na capacidade funcional determinada pelo número de METs avaliados no teste ergométrico e pela faixa de frequência cardíaca definida para o treinamento. Os aumentos ou reduções subsequentes na intensidade do exercício foram em função da frequência cardíaca, da escala de Borg (0 a 10) e da tolerância ao exercício alcançada pelo paciente. A intensidade foi aumentada a partir da identificação da redução da sensação subjetiva de cansaço (escala de Borg de 0 a 10) para a mesma intensidade de exercício.

Durante o exercício aeróbico os pacientes foram orientados a se exercitar dentro da zona alvo de frequência cardíaca pré-determinada. Para determinação da intensidade da frequência cardíaca de treinamento, foi utilizada a equação de Karvonen adaptado, com o limite inferior correspondente a 60% da reserva de frequência cardíaca (FC) e o limite superior a 80% da reserva de FC:

- Limite inferior: $\{[(\text{Frequência cardíaca máxima} - \text{Frequência cardíaca de repouso}) \times (0,6 + \text{MET}/100)] + \text{Frequência cardíaca de repouso}\} - 5$
- Limite superior: $\{[(\text{Frequência cardíaca máxima} - \text{Frequência cardíaca de repouso}) \times (0,8 + \text{MET}/100)] + \text{Frequência cardíaca de repouso}\} + 5$

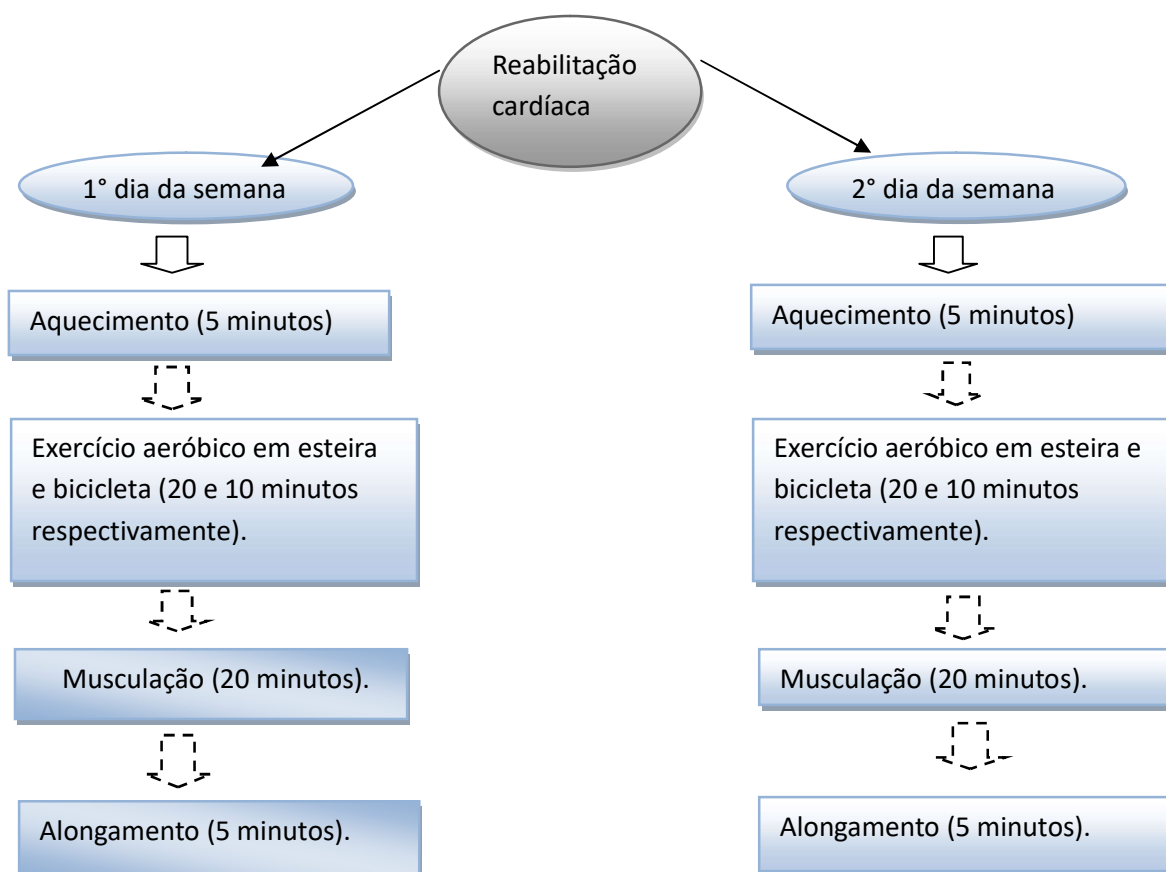


Figura 7. Protocolo de reabilitação cardíaca.

6.9_Marcadores do estresse oxidativo e defesas antioxidantes

As coletas para as análises dos marcadores bioquímicos do estresse oxidativo foram realizadas antes do início do programa (M0), no segundo mês após o início (M1), no quarto mês (M2) e no sexto mês (M3) imediatamente após o término do programa.

Ao longo do estudo foram avaliados marcadores de dano lipídico (TBARS-Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), marcadores de dano às proteínas (PC- Proteína carbonilada) e marcadores de defesa antioxidante, sendo antioxidantes enzimáticos (SOD- Superóxido dismutase, CAT- Catalase e GPx- Glutathione peroxidase), antioxidantes não enzimáticos (GSH- Glutathione reduzida), ácido úrico e a capacidade antioxidante total (*FRAP- Ferric Reducing*

Antioxidant Power). Para tal, amostras de sangue (10 ml) de pacientes coronariopatas crônicos revascularizados cirurgicamente foram coletadas.

Os pacientes foram divididos em função do tempo de revascularização miocárdica (6- 8 meses; 8- 10 meses; 10- 12 meses), com o intuito de observar se a revascularização miocárdica interferiria no resultado em relação aos marcadores de estresse oxidativo.

6.9.1_Preparação das amostras

As amostras de sangue eram coletadas sempre pela manhã, sob vácuo, via intravenosa utilizando dois tubos EDTA para plasma e um tubo para soro, em fossa antecubital, sendo que, no primeiro EDTA retirou-se 200 µl de sangue total, misturou-se com TCA (ácido tricloroacético) a 12% em criotubo alfabab/ 2 ml para aferição da GSH e, depois se retirou 400 µl de sangue total, misturou-se com 1600 µl de água destilada e colocado em criotubo alfabab/ 2 ml para aferição da SOD, CAT e GPx. O segundo EDTA foi colocado para centrifugar a 5000 Rpm (rotações por minuto) durante dez minutos para a separação do plasma, posteriormente, colocou-se o plasma em criotubo alfabab/ 2 ml para aferição de TBARS e análise de carbonilação das proteínas. O tubo de soro também foi centrifugado a 5000 Rpm durante dez minutos para separação do soro e, posteriormente colocado em criotubo alfabab/ 2 ml para aferição do ácido úrico (Figura 8).

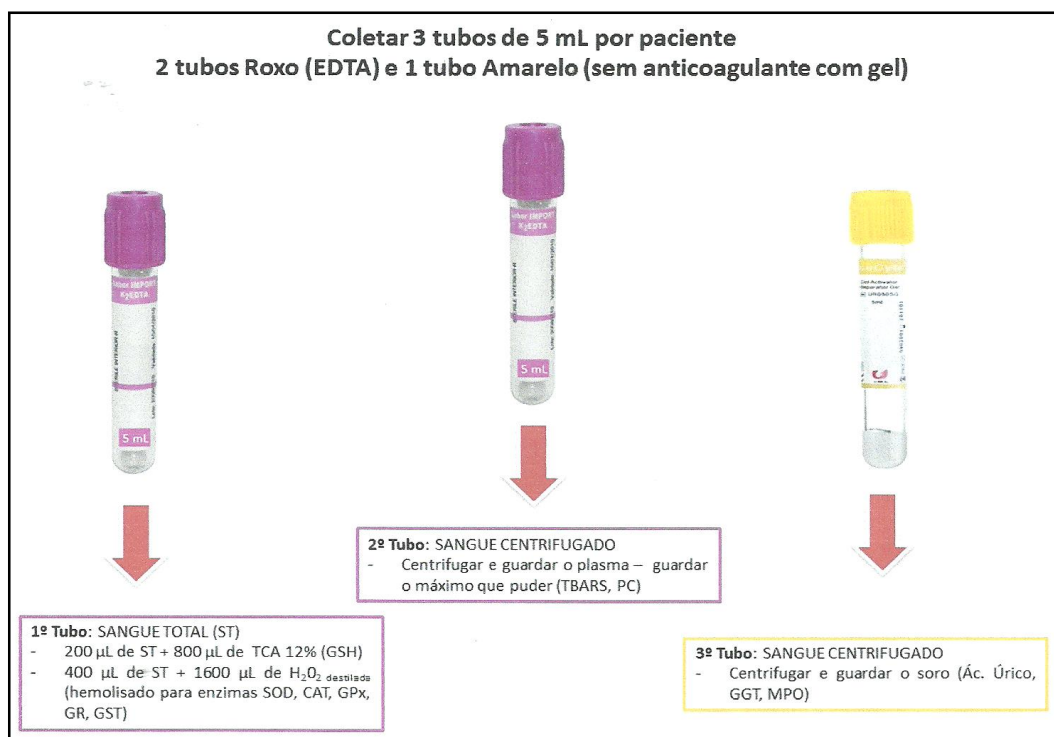


Figura 8. Protocolo de preparação das amostras. **Fonte:** Dados da pesquisa.

Após esse processo de preparação das amostras, as mesmas foram transportadas em isopor a temperatura de -8° a -2° e armazenadas em freezer a -80° na UERJ (Universidade do Estado do Rio de Janeiro). Em seguida, essas amostras foram encaminhadas para o laboratório de bioquímica experimental da Universidade Federal de Santa Catarina (LABIOEX- UFSC) para análise de marcadores bioquímicos do estresse oxidativo.

Os criotubos foram codificados de acordo com o número da sequência de entrada do paciente no estudo e ao momento correspondente a coleta. Sendo que as coletas foram efetuadas em quatro (4) momentos, M0, M1, M2 e M3 (por exemplo, P1M0- Paciente número 1, Momento zero (0) correspondente ao início do estudo e P1M1, P1M2, P1M3 correspondentes ao mesmo paciente nos momentos subsequentes).

6.9.2_ Marcadores de dano oxidativo

a) Peroxidação lipídica (TBARS)

A avaliação da peroxidação lipídica endógena foi realizada em triplicata, através da detecção em 535nm dos derivados de seus produtos de oxidação, por meio de substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS), destacando-se o malondialdeído, produzindo uma base de Schiff de coloração rosa⁶². Para tal, em tubos de ensaio contendo 1 mL de TCA 12% foi adicionado 100 µL de plasma e homogeneizado em vórtex. Em seguida, acrescentou-se 0,9 mL de Tampão Tris-HCl, 60 mM, pH 7,4 (0,1mM DTPA) e 1 mL de ácido tiobarbitúrico 0,73%. Após nova homogeneização seguida de incubação de 60 min a 100 °C, o material foi resfriado durante 30 min a 4°C e centrifugado (5.000 g por 5 min). O sobrenadante foi utilizado para a leitura e os resultados expressos em pmmol.mg proteína⁻¹.

b) Proteína carbonilada (PC)

Objetivando analisar o dano oxidativo às proteínas por carbonilação, foram determinados os níveis plasmáticos de proteína carbonilada, segundo método de Levine e cols⁶³. Em tubos do tipo *ependorf* contendo 600 µL de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) foi adicionado 100 µL de plasma e homogeneizado em vórtex. Posteriormente, foi incubado durante 1 h (à temperatura ambiente, protegido da luz, sob agitação. Em seguida, foram adicionados 600 µL de TCA a 20%, seguido de agitação e refrigeração (banho de gelo) por 10 min e centrifugado por 5 min a 800 g. O *pellet* formado foi lavado por 3 vezes, seguidas de centrifugação durante 5 min a 800 g, utilizando 600 µL de etanol: acetado de etila (1:5). Após a última lavagem, excesso de etanol:acetado de etila foi removido com auxílio de um cotonete e foram adicionados 800 µL de guanidina e incubado por 60 min a 37°C e na sequência, foi realizada a leitura em 360 nm. A concentração de proteínas totais foi determinada de acordo com o método de Lowry e cols (1951), utilizando uma curva padrão de albumina. A concentração de proteína carbonilada foi expressa em µmol/mg de proteína⁻¹.

6.9.3_ Determinação das defesas antioxidantes enzimáticas

a) Superóxido dismutase (SOD)

A atividade da SOD foi medida espectrofotometricamente em 480 nm, de acordo com o método de Misra e Fridovich⁶⁴, modificado por Boveris e colaboradores⁶⁵, mediante a oxidação da adrenalina (mudança de pH 2,0 para pH 10,0), que forma o ânion superóxido e um cromóforo róseo, o adrenocromo, onde a enzima presente na amostra retarda sua formação. Os valores da SOD (USOD.mL⁻¹) foram expressos em termos de atividade da enzima, onde uma unidade de SOD é definida como a quantidade de enzima necessária para diminuir à metade a velocidade de formação do adrenocromo⁶⁴. As amostras foram previamente lavadas com solução de clorofórmio:etanol (3:5, v:v), com o intuito de eliminar a interferência da hemoglobina e impedir a geração do ânion superóxido artefactual no ensaio⁶⁵. Em uma cubeta contendo 1,95 mL de glicina 50 mM, pH 10,2, foram adicionados 50 µL de adrenalina 60 mM (pH 2,0 aproximadamente, gelo e frasco âmbar). A velocidade inicial de formação do adrenocromo foi monitorada durante cerca de 100s do início da reação, com acréscimo de absorbância a cada intervalo de 15s em torno de 0,013-0,015 unidades, para então adicionar a alíquota da amostra, geralmente em torno de 20 a 100 µL, dependendo da concentração e atividade da enzima presente nesta alíquota, totalizando um tempo de aproximadamente 3 min. Curvas de 3 ou 4 pontos permitiram avaliar indiretamente a atividade enzimática da SOD. Os valores foram expressos em USOD.mg de proteína⁻¹.

b) Catalase (CAT)

A atividade da enzima catalase foi determinada segundo o método descrito por Aebi⁶⁶, que quantifica a velocidade de decomposição do peróxido de hidrogênio, em 240 nm durante 20 s, pela enzima presente na amostra. Utiliza-se a solução de peróxido de hidrogênio 10 mM em tampão fosfato 50 mM pH 7,0 preparada e titulada no dia da análise. Para isso, adicionou-se 2 mL desta solução na cubeta, com acréscimo de 20µL da amostra, em seguida

realizou-se leitura da queda da absorbância. Os valores foram expressos em $\text{mmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg de proteína}^{-1}$.

c) Glutathione peroxidase (GPx)

A determinação da atividade da glutathione peroxidase foi realizada de acordo com o método de Flohé e Gunzler⁶⁷, no qual a reação é baseada na redução do terc-butilhidroperóxido (t-BuOOH) pela oxidação de GSH e formação de GSSG, catalisada pela GPx. Assim, a medida consiste na oxidação (verificada através da queda da absorbância) do NADPH medido em 340 nm, uma vez que o NADPH é utilizado na regeneração de GSH pela enzima GR. Portanto, a velocidade de oxidação do NADPH é proporcional à velocidade de produção de GSSG a partir de GSH, catalisada pela GPx presente na amostra analisada. O procedimento técnico foi realizado através do preparo de um meio de reação contendo 25 mL de tampão fosfato (0,1 M pH 7,0), 8,6 mg de NADPH, 10 mL de ácido dietilenotriaminopentacético (DPTA, 5 mM pH 7,0), 15 mL de água destilada, 24 mg de GSH, 3,8 μl de GR 5U e 100 μl de KCN 50 mM, sob refrigeração, no momento do ensaio. A adição do KCN teve como objetivo evitar interferência (super avaliação da enzima) devido à oxidação da hemoglobina presente nos lisados, convertendo assim hemoglobina em meta-hemoglobina, a qual não é detectada na leitura. Posteriormente, em temperatura ambiente, foram adicionados 10 μL de amostra de t-BuOOH em 1 mL de um meio de reação na cubeta. Os valores foram expressos em $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg de proteína}^{-1}$.

6.9.4_ Determinação das defesas antioxidantes não enzimáticas

a) Glutathione reduzida (GSH)

O conteúdo de GSH foi avaliado no sangue total através da determinação dos tióis não-protéicos, uma vez que a GSH representa $\cong 95\%$ do total destes tióis. Primeiramente, para realização do ensaio, foi feito extrato ácido imediatamente após a coleta de sangue, adicionando 0,2 mL de sangue total em 0,8 mL de ácido tricloroacético a 12% (TCA 12%). Após homogeneização,

foi realizada centrifugação (5000 g, por 5 minutos) e o sobrenadante então foi utilizado para o ensaio. Adicionou-se 0,2 mL de ácido 2-nitrobenzóico (DTNB) 2,5 mM nas cubetas contendo 1,9 mL de tampão fosfato 0,2 M pH 8,0 e 0,1 mL da amostra, tendo permitido, após cerca de 3 min e agitação intermitente da cubeta, a obtenção máxima de formação do ânion tiolato (TNB) de cor amarela, mensurável em 412 nm. Os valores medidos em triplicata foram expressos em $\mu\text{mol.mL}^{-1}$ ⁶⁸.

b) Ácido úrico

O conteúdo de ácido úrico sérico foi determinado através de *kit* comercial da Analisa®, onde o ácido úrico é oxidado pela uricase em alantoína, CO₂ (gás carbônico) e H₂O₂. Através de uma reação oxidativa, catalisada pela peroxidase, o H₂O₂ formado reage com o diclorohidroxibenzeno sulfonato (DHBS) e 4-aminoantipirina (4-AMP), produzindo uma antipirilquinonimina, de cor vermelha. A absorbância do complexo formado, medida em 520 nm, é diretamente proporcional à concentração de ácido úrico da amostra. De acordo com as instruções do *kit*, foram adicionados 20 μL da amostra e padrão nos seus respectivos tubos contendo 1 mL de reagente de trabalho, constituído de tampão e uricase (4:1). Em seguida, os tubos foram homogeneizados e incubados por 10 min, a 37°C. Na sequência foi realizada a leitura das absorbâncias em 520 nm, acertando o zero com o branco (1mL do reagente de trabalho). As análises de todas as amostras foram feitas em triplicata e os resultados expressos em mg/dL ⁶⁹.

c) Potencial Antioxidante Total do Plasma (FRAP)

A capacidade antioxidante do plasma (FRAP- "*ferric reducing antioxidant power*") foi determinada segundo Benzie & Strain ⁷⁰, a qual mede a capacidade que o plasma apresenta para reduzir os íons Fe⁺⁺⁺ em Fe⁺⁺ em uma reação redox acoplada a um método colorimétrico.

O reagente de trabalho utilizado foi preparado misturando 10 volumes de tampão acetato de sódio (300 mM, pH 3,6), 1 volume de TPTZ (2,4,6-tripiryridyl-s-triazina; 10 mM preparado em cloreto de hidrogênio- HCl 40 mM) e 1 volume de cloreto férrico FeCl₃ (20 mM). Em seguida, 3 mL do reagente de trabalho foi colocado na cubeta para zerar o espectro (branco) e depois colocou-se 3 mL do reagente de trabalho na cubeta e 100µl da amostra (plasma). A leitura da absorbância foi feita em 593nm no tempo zero, e 4 min após a incubação da amostra a 37°C. Como padrão foi usado o ácido ascórbico (250 µM), submetido às mesmas condições ⁷¹.

6.10_ Acompanhamento clínico durante o estudo

Um esquema de consultas médicas foi determinado para monitorar o acompanhamento dos pacientes durante o programa de reabilitação cardíaca, sendo que foram realizadas consultas médicas após: 15 ± 2 dias, 4 semanas ± 3 dias, 2 meses, 4 meses e 6 meses (final do programa). Todas as informações foram obtidas, diretamente dos pacientes e de seus prontuários. Do mesmo modo, ao longo do estudo, exames que se fizeram necessários, ou seja, com mudança clínica do paciente, foram repetidos. Os pacientes foram monitorados e orientados a evitar a utilização de suplementos alimentares e a informar eventuais mudanças na terapêutica.

As intervenções diagnósticas e terapêuticas durante os 6 meses de reabilitação cardíaca seguiram as recomendações das diretrizes específicas para acompanhamento e tratamento das complicações da doença coronariana crônica estável.^{19,72} As principais drogas, tais como, estatinas, inibidores da enzima conversora da angiotensina e betabloqueadores que poderiam interferir no estresse oxidativo não sofreram alterações.

6.11_ Considerações éticas

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Estadual de Cardiologia Aloysio de Castro (CEP-IECAC), sob protocolo número 20554913.0.0000.5265 (Anexo B) e todos os pacientes que concordaram em participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Trata-se de um estudo em que não foram testadas intervenções diagnósticas ou terapêuticas novas. Portanto, não houve riscos envolvidos na participação dos pacientes no estudo. Todos os pacientes tiveram acesso a exames complementares, medicações e intervenções terapêuticas não farmacológicas de forma ampla e gratuita, conforme recomendações do Comitê de Ética. O projeto contou ainda com a participação do Serviço Social do IECAC na prestação de assistência aos pacientes, sempre orientando no que se refere aos seus direitos previdenciários e obtenção de passe livre nos transportes urbanos.

6.12_ Conflitos de interesse

O pesquisador responsável pela coleta dos dados, o coordenador e o autor desta linha de pesquisa declaram não haver nenhum conflito de interesse, particular ou financeiro para a execução dessa pesquisa.

7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos em média e desvio padrão da média. A diferença entre os momentos (M0>>>M1/M2/M3) de TBARS, PC, SOD, GPx, GSH e ácido úrico foram testadas pela análise de variância de uma entrada com medidas repetidas (Anova one-way) e Dunnett, após testar as premissas de normalidade e esfericidade pelo teste de D'Agostino e Pearson. Os dados dos experimentos CAT e FRAP que não apresentaram uma distribuição normal foram analisados pelos testes de Friedman e Dunn's para múltiplas comparações. O nível de significância foi estabelecido em 5 % e a análise estatística foi realizada pelo software Graph Pad Prism 6 (Graphpad Inc., CA, EUA).

8. RESULTADOS

Dos 40 pacientes alocados para este estudo, 28 chegaram ao final. Sendo que, no 2º mês perderam-se cinco e no 4º e 6º mês perderam-se cinco e dois pacientes, respectivamente.

8.1_ Características gerais da população do estudo

Foram reunidos de Janeiro de 2014 a Janeiro de 2016, 40 pacientes com diagnóstico de doença coronariana crônica estável, sedentários, com idades entre 42 e 75 anos, sendo 29 pacientes do sexo masculino. Cerca de 52,2 % estavam acima do peso (sobrepeso), 67,5 % com comorbidades, mais de 60% dos pacientes estavam em uso de inibidores de enzima de conversão da angiotensina (IECA), estatina e betabloqueador. Nenhum paciente apresentou disfunção tireoidiana, anemia e nem infecções concomitantes (Tabela 1).

Tabela 1. Características gerais da população do estudo.

Variável	Pacientes (n=40)
Idade (média)	61,1 (42-75)
Masculino (%)	72,5
IMC (kg/m ²)	25,4 (23,1-28,3)
Comorbidades (HAS/DM/DLP) %	67,5
FE (%)	38±3
IECA (%)	72,5
Beta-bloqueador (%)	95,0
Bloqueadores Ca ⁺⁺ (%)	2,5
Diurético (%)	12,5
Estatina (%)	82,5
Sedentário (%)	100
Hemoglobina (mg/dl)	11,9-14,2
Leucócitos (células/mm ³)	5300±800
TSH (um/L)	2,3- 3,1

Fonte: Dados da pesquisa. **HAS-** Hipertensão arterial sistêmica; **DM-** Diabetes mellitus; **IMC-** Índice de massa corporal. **DLP-** Dislipidemia. **FE:** Fração de ejeção.

Ao avaliar o comportamento dos marcadores de dano (TBARS e PC) e defesa antioxidante (ácido úrico e FRAP) nos diferentes tempos após revascularização miocárdica (6- 8 meses; 8- 10 meses; 10- 12 meses) constatou-se que não houve diferença estatística entre os mesmos (Tabela 2).

Tabela 2. Tempo em meses após revascularização miocárdica e atividade dos marcadores do estresse oxidativo no início do estudo.

Tempo (meses)	dano		defesa antioxidante	
	TBARS	PC	ácido úrico	FRAP
	M0	M0	M0	M0
6F8	2,49	1,40	4,06	4,15
8F10	2,53	1,45	3,65	4,9
10F12	2,50	1,33	4,25	5,21
P- Valor	p=0,91	p=0,83	p=0,79	p=0,63

Fonte: Dados da pesquisa. TBARS- Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; PC- Proteína carbonilada; FRAP- *Ferric reducing antioxidant power* (capacidade antioxidante total) no momento zero (M0), correspondente à avaliação pré-reabilitação cardíaca.

8.2_ Determinação dos marcadores de dano oxidativo

8.2.1_ Lipoperoxidação Tecidual – Determinação de TBARS

A análise estatística mostrou diminuição significativa e progressiva nos níveis de TBARS após a reabilitação cardíaca em todos os tempos estudados: M0>>>M1 (64,0%; p<0,01); M0>>>M2 (67,5%; p=0,001) e M0>>>M3 (73,6%; p=0,001), demonstrado pelo emprego do ANOVA seguido pelo teste de Dunnett (Gráfico 1).

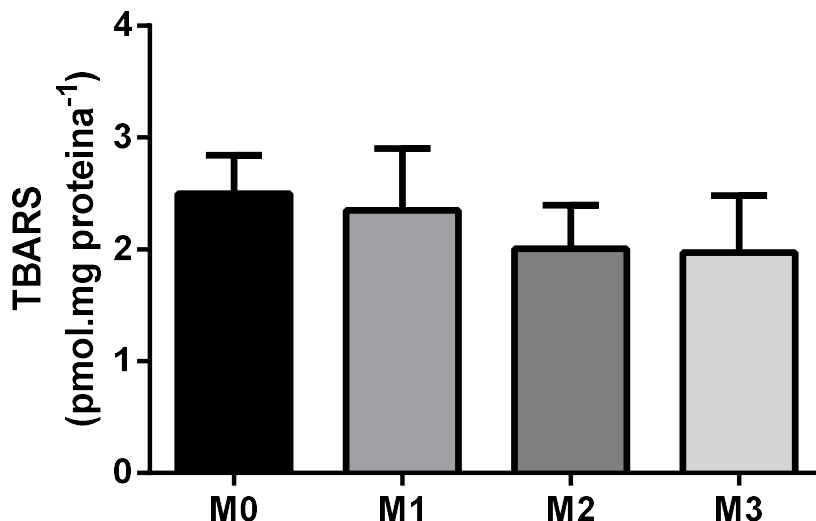


Gráfico 1. Análise da peroxidação lipídica (TBARS) ao longo da reabilitação cardíaca. M0 (momento zero, correspondente à avaliação no início do estudo); M1 (avaliação aos 2 meses: n=35); M2 (avaliação aos 4 meses: n=30); M3 (avaliação final aos 6 meses: n=28). O teste para comparação dos 4 tempos foi análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Dunnett, a diferença estatística foi simbolizada por * p<0,05, *** p<0,001.)

8.2.2_Oxidação Protéica - Proteína Carbolinada (PC)

O teste de ANOVA revelou que não houve diferença significativa nos níveis de PC após a reabilitação cardíaca em todos os tempos estudados, porém, mostra uma tendência de queda nos níveis de PC particularmente entre os tempos M1>>>M2/M3 (31,0%; p<0,07), à semelhança do encontrado na avaliação da lipoperoxidação (Gráfico 2).

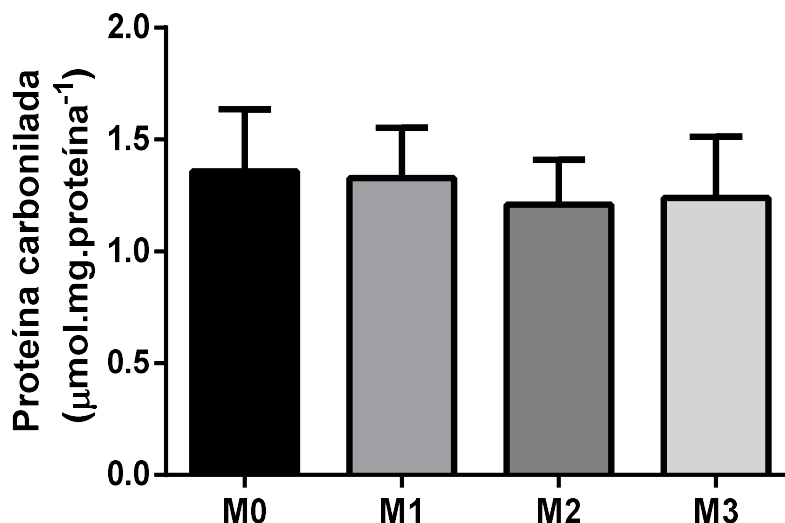


Gráfico 2. Análise da carbonilação de proteínas ao longo da reabilitação cardíaca. M0 (momento zero, correspondente a avaliação no início do estudo); M1 (avaliação aos 2 meses: n=35); M2 (avaliação aos 4 meses: n=30); M3 (avaliação final aos 6 meses: n=28).

8.3_Determinação das defesas antioxidantes

8.3.1_Determinação da atividade dos antioxidantes enzimáticos

8.3.1.1_ Superóxido Dismutase (SOD)

A análise estatística mostrou diminuição significativa na atividade da SOD a partir do M2; M0>>>M2 (24,0%; $p<0,05$); e M0>>>M3 (43,6%; $p=0,01$), demonstrado pelo teste ANOVA seguido pelo teste de Dunnett (Gráfico 3).

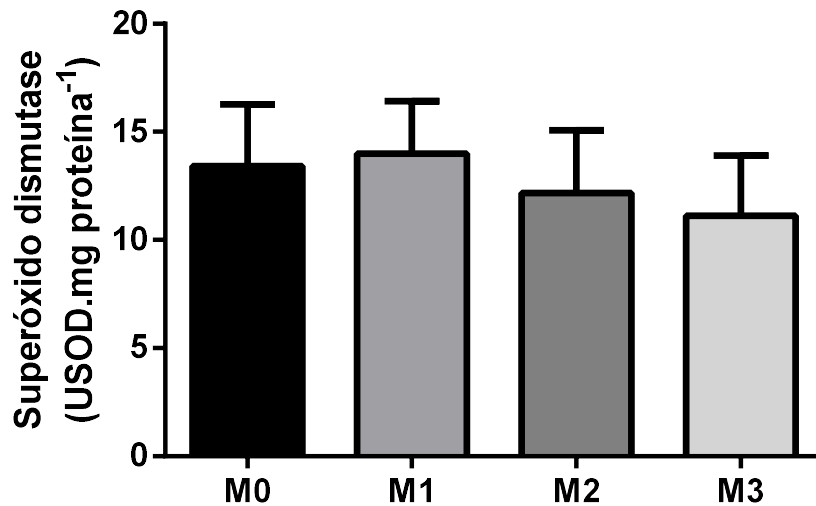


Gráfico 3. Análise da atividade da enzima SOD ao longo da reabilitação cardíaca. M0 (momento zero, correspondente a avaliação no início do estudo); M1 (avaliação aos 2 meses: n=35); M2 (avaliação aos 4 meses: n=30); M3 (avaliação final aos 6 meses: n=28). O teste para comparação dos 4 tempos foi análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Dunnet e a diferença estatística foi simbolizada por * p<0,05, ** p<0,01).

8.3.1.2_ Catalase (CAT)

Da mesma forma, a CAT mostrou diminuição significativa dos níveis após a reabilitação cardíaca a partir do M2; M0>>>M2 (27,0%; p<0,01); e M0>>>M3 (47,3%; p=0,01), demonstrado pelo teste de Friedman seguido pelo teste de Dunn's (Gráfico 4).

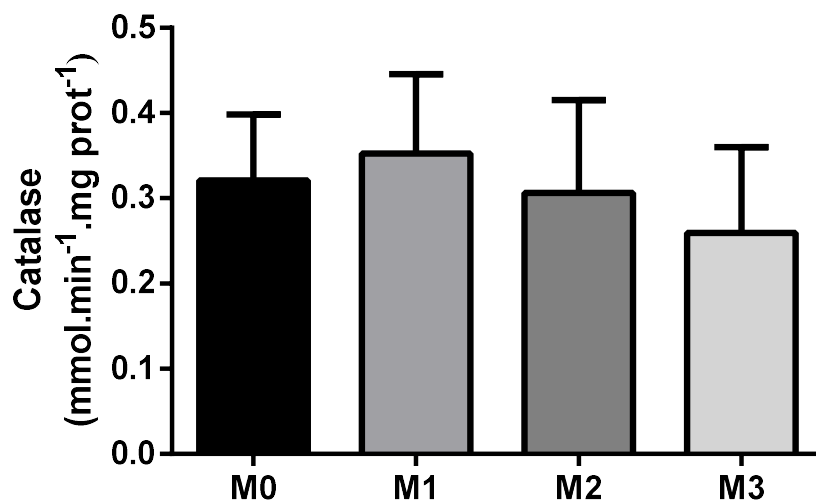


Gráfico 4. Análise da enzima Catalase ao longo da reabilitação cardíaca. M0 (momento zero, correspondente a avaliação no início do estudo); M1 (avaliação aos 2 meses: n=35); M2 (avaliação aos 4 meses: n=30); M3 (avaliação final aos 6 meses: n=28). O teste para comparação dos 4 tempos foi o teste de Friedman seguido pelo teste de Dunn's e a diferença estatística foi simbolizada por * p<0,05, ** p<0,01.

8.3.1.3_Glutationa Peroxidase (GPx)

O emprego do ANOVA revelou que não houve diferença significativa na atividade da enzima GPx após a reabilitação cardíaca em todos os tempos estudados, porém, mostra uma discreta diminuição dos níveis de GPx particularmente entre os tempos M0>>>M2 (27%; p<0,06), M0>>>M3 (31%; p<0,06), Gráfico 5.

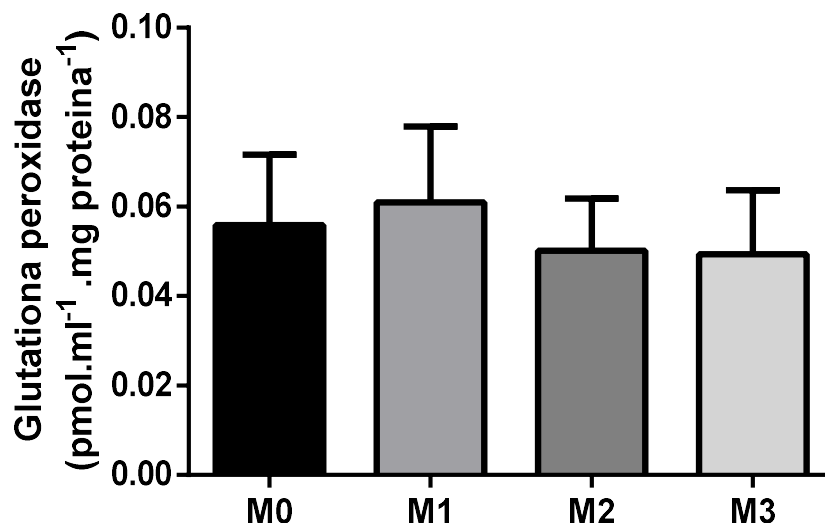


Gráfico 5. Análise da enzima Glutaciona Peroxidase (GPx) ao longo da reabilitação cardíaca. M0 (momento zero, correspondente a avaliação no início do estudo); M1 (avaliação aos 2 meses: n=35); M2 (avaliação aos 4 meses: n=30); M3 (avaliação final aos 6 meses: n=28).

8.3.2_ Antioxidantes não enzimáticos

8.3.2.1_ Glutaciona Reduzida- GSH

O emprego do ANOVA revelou que não houve diferença significativa nos níveis de GSH sanguíneos ao longo da reabilitação cardíaca em todos os tempos estudados, porém, mostra aumento dos níveis de GSH, particularmente no final (M0/M1/M2>>>M3 (53%; $p<0,05$; Gráfico 6).

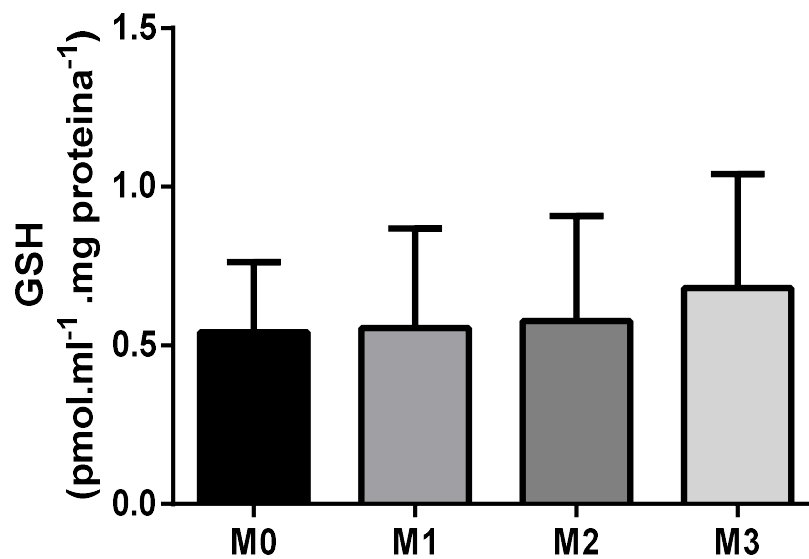


Gráfico 6. Análise do marcador antioxidante não enzimático, glutatona reduzida (GSH) ao longo da reabilitação cardíaca. M0 (momento zero, correspondente a avaliação no início do estudo); M1 (avaliação aos 2 meses: n=35); M2 (avaliação aos 4 meses: n=30); M3 (avaliação final aos 6 meses: n=28).

8.3.2.2_ Ácido úrico

A análise estatística mostrou aumento progressivo e significativo nos níveis do ácido úrico após a reabilitação cardíaca em todos os tempos estudados: M0>>>M1 (53,2%; p<0,05); M0>>>M2 (54,1%; p<0,05) e M0>>>M3 (83,6%; p<0,01), demonstrado pelo emprego do ANOVA seguido pelo teste de Dunnet (Gráfico 7).

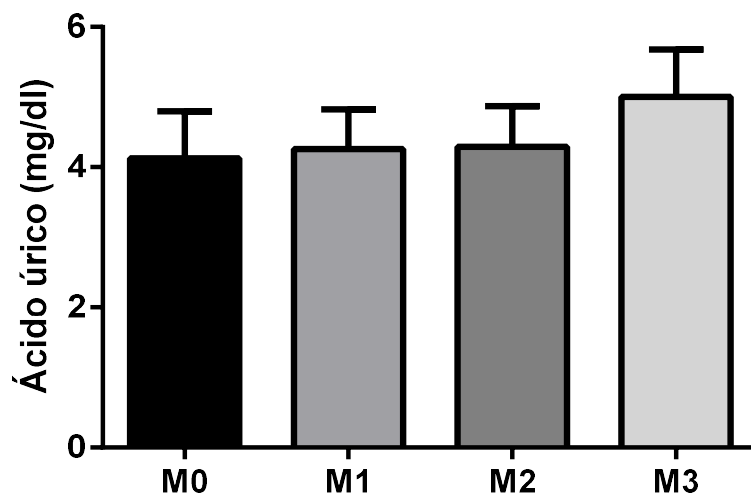


Gráfico 7. Análise do comportamento do ácido úrico ao longo da reabilitação cardíaca. M0 (momento zero, correspondente a avaliação no início do estudo; M1 (avaliação aos 2 meses: n=35); M2 (avaliação aos 4 meses: n= 30); M3 (avaliação final aos 6 meses: n=28). O teste para comparação dos 4 tempos foi análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Dunnett e a diferença estatística foi simbolizada por ** p<0,05, *** p<0,01.

8.3.2.3_ Potencial antioxidante total do plasma (FRAP)

A reabilitação cardíaca promoveu um aumento significativo acentuado nos níveis de FRAP principalmente no tempo M3 em relação aos demais tempos precedentes: M0/M1/M2>>M3 (78,0%; p<0,001), demonstrado pelo teste de Friedman seguido pelo teste de Dunn's. A diferença estatística foi simbolizada por ***p<0,001 (Gráfico 8).

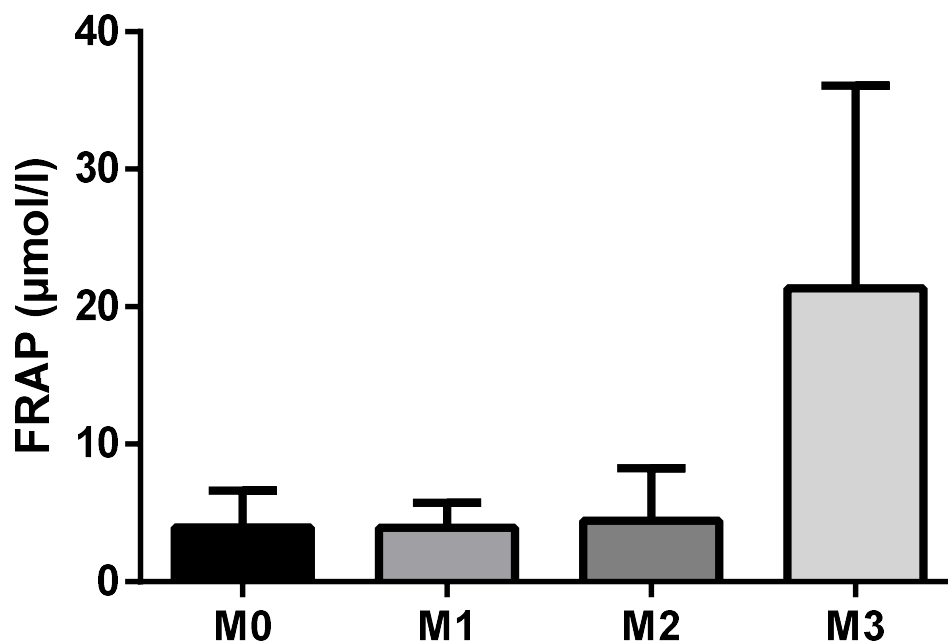


Gráfico 8. Análise da capacidade antioxidante total do plasma (FRAP) ao longo da reabilitação cardíaca. M0 (momento zero, correspondente a avaliação no início do estudo); M1 (avaliação aos 2 meses: n=35); M2 (avaliação aos 4 meses: n=30); M3 (avaliação final aos 6 meses: n=28). O teste de Friedman foi realizado para análise dos 4 tempos, seguido pelo teste de Dunn's e a diferença estatística foi simbolizada por *** $p < 0,001$.

9. DISCUSSÃO

No presente trabalho, a avaliação dos marcadores de estresse oxidativo mostrou um perfil relativamente semelhante dos mesmos no período analisado, ou seja, queda dos marcadores de danos com aumento progressivo dos marcadores antioxidantes não enzimáticos, senão for considerada a constatação de significância estatística.

Outro dado digno de nota é que a maior parte dos estudos que avaliam a relação estresse oxidativo e exercício físico realiza as análises dos marcadores após estresse físico ^{15,17}. Nesse trabalho as avaliações foram efetuadas previamente a qualquer esforço físico.

A amostra deste estudo foi constituída por pacientes com doença coronariana crônica, submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica e encaminhados para o programa de reabilitação cardíaca após a alta hospitalar no período entre seis meses e um ano. A escolha deste período foi motivada pelo trabalho de Oliveira e cols., que ao avaliarem a letalidade após revascularização miocárdica de pacientes coronariopatas crônicos mostraram que a letalidade neste período se manteve, o que pressupõe homogeneidade da amostra estudada ⁷³.

Comparando a atividade dos marcadores do estresse oxidativo em diferentes tempos antes da reabilitação cardíaca, constatou-se não haver diferença estatística entre os mesmos, podendo se pensar na possibilidade da revascularização miocárdica não ter interferido no resultado do presente estudo. Tal fato é corroborado pela literatura, pois é sabido que durante a cirurgia de revascularização miocárdica ocorre aumento da resposta inflamatória sistêmica e conseqüentemente, desequilíbrio na balança entre oxidantes e antioxidantes com o predomínio do primeiro, em virtude da isquemia e reperfusão e que, posteriormente, é controlado pela resposta do próprio organismo após reperfusão ⁷⁴, e coadjuvado pela ação de drogas como betabloqueadores ⁷⁵, estatinas ⁷⁶ e inibidores da enzima de conversão da angiotensina. ⁷⁷

Drogas como estatinas ⁷⁶, inibidores de enzima conversora de angiotensina ⁷⁷ e beta bloqueadores ⁷⁵ podem interferir positivamente no estresse oxidativo, entretanto, acreditamos que as mesmas não interferiram no resultado do presente estudo uma vez que os pacientes já faziam uso das mesmas antes de ingressar no programa de reabilitação cardíaca.

O indicador de dano oxidativo a lipídeos (lipoperoxidação ou níveis de TBARS) que esteve elevado no momento inicial, previamente à reabilitação cardíaca, foi diminuindo progressivamente a partir de dois meses (M1) até se estabilizar após quatro e seis meses (M2 e M3, respectivamente), comparativamente ao momento inicial (M0>>>M3 (73,6%). Gwozdziński ⁷⁸, avaliando pacientes revascularizados cirúrgicos antes da reabilitação cardíaca observou aumento de TBARS e, após submetê-los à reabilitação cardíaca verificou diminuição do mesmo marcador, o que corrobora com o resultado encontrado no presente trabalho. Igualmente, no início de um programa de exercícios é possível haver aumento desse marcador, entretanto, se o organismo estiver em condições fisiológicas normais (saúde, dieta, etc.) de compensar este aumento de ERO, notadamente considerando a continuidade da atividade física, haverá progressivamente também um aumento da capacidade antioxidante sistêmica ^{79,80,81}. Caso não haja esta resposta compensatória, sobrevém um estresse oxidativo sistêmico, o qual deverá ser compensado eventualmente por uma suplementação antioxidante, o que acontece, por exemplo, com a grande maioria de atletas profissionais de qualquer modalidade esportiva ⁸⁰⁻⁸⁶. Pinho e cols., avaliando a peroxidação lipídica após 12 semanas de treinamento, observaram redução dos níveis de TBARS ⁸⁷. Resultado semelhante observado em nosso estudo após 8 semanas de treinamento físico em programa de reabilitação cardíaca, com maior evidência nos meses subsequentes, mostrando, uma possível atenuação do estresse oxidativo influenciada pela prática regular do exercício físico.

Aparentemente, no presente trabalho, os pacientes teriam recuperado progressivamente boa parte da capacidade antioxidante com a prática de exercícios moderados no programa de reabilitação cardíaca. Alguns parâmetros indicam esta recuperação após dois meses, como o caso da

diminuição da lipoperoxidação (níveis de TBARS, provavelmente também da oxidação proteica, caso o número de pacientes fosse aumentado e/ou a dispersão dos dados fosse menor) e através da tendência de aumento inicial e posterior queda das atividades das três enzimas antioxidantes examinadas indicando menor demanda. Outros resultados ficaram mais aparentes após períodos maiores (seis meses), como as próprias enzimas, através da diminuição das atividades, acompanhando a diminuição dos marcadores de dano, a tendência de recuperação dos níveis de GSH no sangue total, e da própria capacidade antioxidante avaliada através dos métodos FRAP e ácido úrico, que mostraram um aumento significativo acentuado no final do período avaliado (M3).

O outro indicador de dano analisado, a carbonilação proteica (níveis de PC), mostrou um perfil semelhante e coerente ao da lipoperoxidação, apesar de não revelar diferença significativa, provavelmente também relacionada com a dispersão (variância) encontrada neste parâmetro. Levine (1990), baseado na análise dos níveis de PC, estabeleceu que o aumento de seus níveis está associado com o aumento do estresse oxidativo ⁶³. Algo semelhante verificado em nosso estudo na avaliação inicial, antes de submeter os pacientes ao programa de treinamento. Pinho e cols., avaliando o efeito do exercício físico regular sobre o estresse oxidativo após 12 semanas de treinamento, observaram redução na carbonilação das proteínas ^{87,88}. Fato observado em nosso estudo após os pacientes terem sido submetidos à reabilitação cardíaca. Entretanto, apesar dessa redução da proteína carbonilada ter sido discreta é possível afirmar que o exercício físico regular pode prevenir dano em proteínas.

Os níveis de GSH no sangue total mostraram-se estáveis nos momentos M1 e M2, comparativamente ao momento zero, para exibir aumento após seis meses de reabilitação (M3). Mesmo considerando a ausência de significância nestes resultados, é possível inferir que a reabilitação poderia promover uma relativa e leve depleção deste antioxidante endógeno não-enzimático, revelando seu provável consumo em momento anterior à melhor recuperação da capacidade antioxidante sistêmica dos pacientes ⁷⁹, a qual ocorreria no momento final (M3) do seu monitoramento. É interessante ressaltar que a GSH

é essencial à função da GPx⁸⁹, e que a atividade desta enzima não mostrou diferenças significativas nos momentos analisados, mesmo que a GSH tenha se mantido estável aos dois e quatro meses de exercício em reabilitação cardíaca.

Coerente com esta tendência de perfil exibido pelos níveis de GSH, uma resposta semelhante foi exibida também em M3 pela análise da capacidade antioxidante total do plasma (FRAP) e do ácido úrico ao longo da reabilitação cardíaca, corroborando o resultado da GSH. Neste particular, é importante salientar que o FRAP e o ácido úrico justamente avaliam esta capacidade antioxidante restrita aos antioxidantes endógenos não-enzimáticos, no qual se inclui a GSH, além de diversos outros antioxidantes exógenos ou nutricionais, como as vitaminas antioxidantes C, E e A, além de polifenóis, alguns hormônios, entre outros^{86,89}. Considerando que a análise do FRAP vem acompanhada de restrições quanto aos antioxidantes lipofílicos como a vitamina E e licopeno, além da própria restrição da avaliação da GSH⁸⁹, e que esta análise é muito sensível de aspectos dietários⁹⁰, seu uso permite avaliar componentes antioxidantes nutricionais importantes^{86,89}.

As três enzimas antioxidantes, consideradas como a tríade principal na detoxificação das ERO em todos os organismos que utilizam o oxigênio como oxidante⁸⁹ e que foram analisadas neste trabalho, também exibiram um perfil semelhante e coerente com o desenvolvimento da reabilitação cardíaca promovida nos pacientes. Ou seja, comparativamente ao momento inicial (M0), tanto a SOD, CAT e GPx revelaram pequeno aumento aos dois meses (M1) de realização de exercícios, para começarem a declinar a partir de quatro meses (M2) e mostrar valores menores aos seis meses (M3). Esse aumento inicial é respaldado no fato de o organismo após início de um programa de exercício adquirir em torno de oito a 12 meses adaptações favoráveis, marcados por elevação dessas enzimas antioxidantes^{57,60,61}.

Em outras palavras, indicariam, mesmo sem revelar significância em todos os momentos examinados, comparativamente ao momento inicial, que a reabilitação cardíaca estaria promovendo um progressivo restabelecimento da capacidade antioxidante sistêmica. Como resultado desta melhora antioxidante

sistêmica avaliada no sangue dos pacientes, ela estaria refletindo a melhora da capacidade individual dos diferentes órgãos e tecidos ⁸⁹.

Esta reabilitação cardíaca, traduzida como aumento do desempenho cardíaco em termos de melhor nutrir os tecidos e órgãos com os distintos antioxidantes, tanto exógenos ou nutricionais como os endógenos, permitiria, após um primeiro momento (M1, e, às vezes, M2, considerando GSH e TBARS), no qual houve discreto aumento pela indução enzimática das três enzimas antioxidantes examinadas, bem como do recuo dos marcadores de dano tecidual (TBARS e PC), paralelamente à estabilidade de GSH, e manutenção dos níveis de FRAP e ácido úrico inalterados, uma gradativa melhora dos antioxidantes sanguíneos nestes pacientes.

Desta forma e consecutivamente, após seis meses de monitoramento da reabilitação cardíaca, foi possível constatar uma provável estabilização da indução enzimática, em níveis inferiores aos iniciais, provavelmente decorrente da diminuição dos marcadores de dano oxidativo e associada à recuperação da capacidade antioxidante não enzimática (níveis de GSH, ácido úrico e FRAP), indicando uma melhora do quadro de estresse oxidativo sistêmico destes pacientes. Ou seja, o aumento desta capacidade antioxidante não-enzimática via aumento nos níveis de GSH, ácido úrico e FRAP aos seis meses de exercícios em reabilitação cardíaca, teria promovido um recuo gradual da indução de enzimas antioxidantes, à semelhança do que se constata após o uso de suplementação antioxidante em período de meses de intervenção ⁹¹.

Da mesma forma a glutathione reduzida é responsável por proteger as células contra os radicais livres, peróxidos e outros compostos tóxicos ⁹². Ela pode reagir diretamente com os radicais livres sem necessidade de intervenção enzimática ou por intermédio da glutathione peroxidase, enzima chave do ciclo redox da glutathione. Quando o estresse oxidativo ocorre, a GSH é oxidada a GSSG através da reação catalisada pela glutathione peroxidase. A GSSG formada é imediatamente reduzida a GSH por intermédio da glutathione reductase (GR) ^{92,93}. Entretanto, o conteúdo de GSH aumenta com o treinamento físico, devido ao aumento na capacidade de captação de GSH pela

fibra muscular⁹⁴⁻⁹⁶, o que de certa forma corrobora com o observado em nosso estudo aos seis meses do programa de reabilitação cardíaca.

Ozbay e Dulger⁹⁷, avaliando o comportamento da superóxido dismutase em indivíduos treinados, com uma frequência regular de exercícios com duração de 20 minutos por dia, durante cinco semanas, registraram um discreto aumento da superóxido dismutase. Resultado semelhante ao observado em nosso estudo após dois meses de treinamento.

O exercício físico regular pode melhorar a capacidade antioxidante total por modular a síntese de antioxidantes enzimáticos (SOD, CAT, GPx) e não enzimáticos, podendo reduzir a peroxidação lipídica e, conseqüentemente o estresse oxidativo^{98,99}. Fato que pode ser corroborado com os resultados observados em nosso estudo, pois, após um período de exercício físico regular foi constatado uma melhora significativa de seus níveis. Resultado também compartilhado por outros autores, no qual destacam a influência positiva do exercício físico regular sobre a atividade antioxidante, tendo sido demonstrado que após sessões consecutivas de exercício, ocorre redução progressiva do estresse oxidativo, enquanto que a capacidade antioxidante melhora^{57,60,61,100}.

Várias publicações sobre diferentes tipos de atividades esportivas e exercícios aeróbicos reportam a ocorrência de aumento da geração de ERO e ocorrência de estresse oxidativo^{78,79}. Considerando que o exercício executado pelos pacientes aumenta sua capacidade aeróbica, necessariamente vem também acompanhado de aumento da geração de ERO, particularmente no miocárdio e musculatura esquelética^{79,81,84}. Este aumento de produção de ERO igualmente de forma paralela deve ser acompanhado de aumento das defesas antioxidantes correspondentes^{78,79}, no sentido de evitar o estresse oxidativo e suas conseqüências agudas e crônicas, notadamente em termos de danos moleculares e teciduais, além de afetar a imunidade e desencadear processos inflamatórios^{82,84,85,89,100}.

10. LIMITAÇÕES

Durante o programa de reabilitação a intensidade de exercício foi mudando de acordo com a sensação subjetiva de cansaço (Escala de Borg). Acreditamos que esta variação de intensidade do exercício não deve ter interferido nos resultados uma vez que as avaliações dos marcadores de danos, assim como, os da defesa antioxidante mostraram um perfil relativamente semelhante independente dos momentos analisados.

Acreditamos que a perda de pacientes ao longo do estudo não deve ter influenciado nos resultados, uma vez que a maioria das variáveis medidas mostrou um perfil relativamente semelhante, independente do número de pacientes (vide apêndice C).

A ausência do grupo controle é justificada pelo fato do paciente ser seu próprio controle ao longo do estudo.

11. CONCLUSÃO

Portanto, os resultados apresentados neste estudo podem permitir-nos inferir que, o exercício físico regular através de um programa de reabilitação cardíaca pode atenuar o estresse oxidativo em pacientes coronariopatas crônicos revascularizados e, conseqüentemente, prevenir danos oxidativos. Pois, foi possível observar atenuação dos marcadores de dano lipídico (lipoperoxidação), tendência a atenuação de dano protéico (proteína carbonilada) e melhora da atividade dos antioxidantes.

12. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Finalmente, o presente estudo foi constituído de pacientes de alto risco para eventos cardiovasculares (idade > 60 anos, predomínio de sexo masculino, fração de ejeção ventricular esquerda $37\% \pm 3$, porcentagem maior de comorbidades, revascularização miocárdica)⁷² em que evidências na literatura mostram que a adição do exercício físico regular à terapêutica intervencionista é importante na curva de sobrevida dos mesmos^{20,101,102}.

O presente estudo colabora numa possível explicação mecanicista da afirmação acima mostrando que a reabilitação cardíaca auxilia na atenuação do estresse oxidativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MATEO, G.F et al. Antioxidant enzyme activity and coronary heart disease: meta-analyses of observational studies. *American Journal of epidemiology*, 2009; Vol. 170, p. 135–147.
2. STOCKER, R.; KEANEY Jr, J.F. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiological Reviews*. 2004; Vol. 84, p. 1381–1478.
3. _____. New insights on oxidative stress in the artery wall. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2005; Vol. 3, p. 1825–1834.
4. WITZTUM, J.L. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet*, 1994; Vol. 344, p. 793–795.
5. SCHNEIDER, C.D.; OLIVEIRA, A.R De. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao exercício físico. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 2004; Vol. 10, p. 308–310.
6. DERESZ, L.F et al. O estresse oxidativo e o exercício físico em indivíduos HIV positivo. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 2007; Vol. 13, p. 276.
7. CLARKSON, P.M.; THOMPSON, H.S. Antioxidants: what role do they play in physical exercise and health? *American Journal of Clinical Nutrition*, 2000; Vol. 72, p. 637–646.
8. ATALAY, M.; LAAKSONEN, D.E. Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *Journal of Sports Science and Medicine*, 2002; Vol. 1, p. 1-14.
9. POWERS, S.K.; JI, L.L.; LEEUWENBURGH, C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Medicine and Science in Sports and Exerc*, 1999; Vol. 31, p. 987-997.
10. JENKINS, R.R. Free Radical Chemistry, Relationship to Exercise. *Sports Medicine*, 1988; Vol. 5, p. 156-170.
11. SJÖDIN, B.; WESTING, Y.H.; Apple, F.S. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. *Sports Medicine*, 1990; Vol. 10, p. 236-254.

12. PETIBOIS, C.; DÉLÉRIS, G. Evidence that erythrocytes are highly susceptible to exercise oxidative stress: FT-IR spectrometric studies at the molecular level. *Cell Biology International*, 2005; Vol. 29, p.709-716.
13. CHIU, D.; LUBIN, B. Oxidative hemoglobin denaturation and red blood cell destruction: the effect of heme on red cell membranes. *Seminars in Hematology*, 1989; Vol. 26, p.128-135.
14. DUMASWALA, U.J. et al. Protein and lipid oxidation of banked human erythrocytes: role of glutathione. *Free Radical Biology Medicine*, 1999, Vol. 27, p. 1041-1049.
15. SENTURK, U.K. et al. Exercise-induced oxidative stress leads hemolysis in sedentary but not trained humans. *Journal of Applied Physiology*, 2005; Vol. 99, p. 1434-1441.
16. MICHAILIDIS, Y. et al. Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise-induced oxidative stress. *Medicine Science of Sports Exercise*, 2007; Vol. 39, p. 1107-1113.
17. VINÃ, J. et al. Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production and protection by antioxidants. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life Journal*, 2000; Vol. 50, p. 271-277.
18. MUELA, H.C.S.; BASSAN, R.; SERRA, S.M. Avaliação dos benefícios funcionais de um programa de reabilitação cardíaca. *Revista Brasileira de Cardiologia*, 2011; Vol. 24, p. 241-250.
19. CARVALHO, T et al. Diretriz brasileira de reabilitação cardiopulmonar e metabólica: Aspectos práticos e responsabilidades. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 2006; Vol. 86, p. 74-82.
20. GODOY, M. et al. I Consenso Nacional de Reabilitação Cardiovascular. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 1997; Vol. 69, p. 267-289.
21. SIES, H. Biochemistry of Oxidative Stress. *Angew. Chemie International Edition*, 1986; Vol. 25, p. 1058-1071.

22. ZACHARIAS, M.C.J. Estresse oxidativo e desenvolvimento de doenças. Vida Nutritiva, 2015. Disponível em: www.vidanutritiva.net/wp/estresse-oxidativo-e-desenvolvimento-de-doenças/. Acesso em 23/08/2016.
23. AUGUSTO, O. Radicais livres: bons, maus e naturais. Oficina de textos, pró-reitoria de pesquisa. São Paulo: USP, 2006, p. 26 e 27.
24. BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID J.P. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesas do organismo. Química Nova, 2006; Vol. 29. p. 113-123.
25. GUTTERIDGE, J.M.C. Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. Clinical Chemistry, 1995; Vol. 41, p. 1819-1828.
26. HALLIWELL, B. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. British Journal of Experimental Pathology, 1989; Vol. 70, p. 737-757.
27. VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 2007; Vol. 39, p. 44-84.
28. OLSZEWER, E.; FLAM, S.; ELLOVICH, S. Radicais livres em cardiologia: Isquemia e reperfusão. São Paulo: Tecnopress, 1997. p. 11-100.
29. HALLIWELL B. Free Radicals and other reactive species in Disease. Encyclopedia of life sciences, 2001; 1-7.
30. BÄCHTOLD, G. Radicais livres. Bioquímica e Biofísica: Universidade de Brasília. Disponível em: www.radicaislivres97.wordpress.com/2013/05/26/. Acesso em 23/08/2016.
31. FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. Revista da Associação Médica Brasileira, 1997; Vol. 43, p. 61-68.

32. IRLENE. Cadeia transportadora de elétrons, 2016. Disponível em: www.biologiairleneonline2.blogspot.com.br/2016/03/. Acesso em: 23/08/2016.0/09/2015.
33. BARBOSA K.B.F et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de Nutrição*, 2010; Vol. 23, p. 629-643.
34. HALLIWELL, B. Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 2007; Vol. 35, p. 1147-1150.
35. CADENAS, E. Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors*, 1997; Vol. 6, p. 391–397.
36. JÚNIOR, L.R.; HÖEHR, N.F.; VELLASCO, AP. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. *Química Nova*, 2001; Vol 24, p. 112-119.
37. WEN, J.J.; GARG, N. Oxidative Modification of Mitochondrial Respiratory Complexes in Response to the Stress of Trypanosoma Cruzi Infection. *Free Radical Biology and Medicine*, 2004; Vol. 37, p. 2072–2081.
38. HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: Oxford University Press, 2001; p. 94-103.
39. KOURY, J.C.; DONANGELO, C.M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. *Revista de Nutrição*, 2003; Vol. 16, p. 433-441.
40. NIESS, A.M. et al. DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. *International Journal of Sports Medicine*, 1996; Vol. 17, p. 397-403.
41. Kanter M. M. et al. Serum creatine kinase and lactate dehydrogenase changes following an eighty kilometer race. *European Journal of Applied Physiology*, 1988; Vol. 57, p. 60-63.
42. Maughan, R.J. et al. Delayed-onset muscle damage and lipid peroxidation in man after a downhill run. *Muscle Nerve*, 1989; Vol. 12, p. 332-336.
43. Cooper C.E. et al. Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 2002; Vol. 30, p. 280-285.

44. LINKE, A. et al. Antioxidative Effects of Exercise Training in Patients With Chronic Heart Failure: Increase in Radical Scavenger Enzyme Activity in Skeletal Muscle. *Circulation*, 2005; Vol. 111, p. 1763-1770.
45. MIYAZAKI H et al. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 2001; Vol. 84, p. 1-6.
46. MARGARITIS I. et al. No evidence of oxidative stress after a triathlon race in highly trained competitors. *International Journal of Sports Medicine*, 1997; Vol. 18, p.186-190.
47. PINHO R.A. et al. Doença arterial coronariana, exercício físico e estresse oxidativo. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 2010; Vol. 94, p. 549-555.
48. SILVA, D.C.; CERCHIARO C.; HONÓRIO KM. Relações patofisiológicas entre estresse oxidativo e arteriosclerose. *Química Nova*, 2011; Vol. 34, p. 300-305.
49. SINGAL P.K. et al. The role of oxidative stress in the genesis of heart disease. *Cardiovascular Research*, 1998; Vol. 40, p. 426 – 432.
50. NUTTALL, S.L.; KENDALL, M.J.; MARTIN, U. Antioxidant therapy for the prevention of cardiovascular disease. *Quarterly Journal of Medicine*, 1999; Vol. 92, p. 239-244.
51. DROGE, W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*, 2002; Vol. 82, p. 48-80.
52. PRICE, J.F.; FOWKES, F.G.R. Antioxidants vitamins in the prevention of cardiovascular disease. *European Heart Journal*, 1997; Vol. 18, p. 719-727.
53. STEPHENS, N.G. Randomized controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease. Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS). *Lancet*, 1996; Vol. 347, p.781-786.
54. CARNETHON, M.R et al. Cardiorespiratory Fitness in Young Adulthood and the Development of Cardiovascular Disease Risk Factors Free. *JAMA*, 2003; Vol. 290, p. 3092-3100.
55. DUPERLY, J.; LOBELO, F. Estilo de vida saludable: un reto que vale la pena. *Revista Colombiana de Cardiología*, 2004; Vol. 11, p. 139-140.

56. LEON, A.S. et al. Cardiac Rehabilitation and Secondary Prevention of Coronary Heart Disease: An American Heart Association Scientific Statement. *Circulation*, 2005; Vol. 111, p. 369-373.
57. CALDERÓN, J.C.; FERNANDEZ, A.Z.; DE JESÚS, A.I.M. Ateroesclerosis, estrés oxidativo y actividad física. *Revista de Investigación Clínica*, 2008; Vol. 49, p. 397-410.
58. PETRY, E.R et al. Exercício físico e estresse oxidativo: mecanismos e efeitos. *Revista Brasileira de Ciência e Movimento*, 2010; Vol. 18, p. 91-96.
59. SACHECK, J.M. Effect of vitamin E and eccentric exercise on selected biomarkers of oxidative stress in young and elderly men. *Free Radical Biology and Medicine*, 2003; Vol. 34, p.1575-1588.
60. RADAK, Z.; et al. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and dna in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radical Biology & Medicine*, 1999; Vol. 27, p. 69–74.
61. RADAK, Z.; CHUNG, H.Y.; GOTO, S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radical Biology & Medicine*, 2008; Vol. 44, p. 153–159.
62. BIRD, R.P.; DRAPER, A.H. Comparative studies on different methods of malondyaldehyde determination. *Methods in Enzymology*, 1984; Vol. 20, p. 105-110.
63. LEVINE, R.L et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, 1990; Vol. 186, p. 464-478.
64. MISRA, H.P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *The Journal of Biological Chemistry*, 1972; Vol. 247, p. 188-192.
65. BOVERIS, A. et al. Increased chemiluminescence and superoxide production in the liver of chronically ethanol-treated rats. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1983; Vol. 227, p. 534-541.

66. AEBI, H. Catalase *in vitro*. Methods in Enzymology, 1984; Vol. 204, p. 234-254.
67. FLOHÉ, L.; GUNZLER, W.A. Assays of glutathione peroxidase. Methods in Enzymology, 1984; Vol. 105, p. 114-121.
68. BEUTLER, E.; DURON, O.; KELLY, B.M. Improved method for the determination of blood glutathione. The Journal of Laboratory Clinical Medicine. 1963; Vol. 61, p. 882-890.
69. BARHAM, D.; TRINDER, P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. Analyst-Royal Society of Chemistry, 1972; Vol 97, p. 142-145.
70. BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical Biochemistry, 1996; Vol. 239, p. 70-76.
71. _____. Ferric reducing/antioxidant Power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods in Enzymology, 1999; Vol. 299, p. 15-27.
72. CESAR, L.A. et al. Diretriz de Doença Coronária Estável. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, 2014; Vol. 103, p. 1-59.
73. OLIVEIRA, T.M.L. et al. Letalidade e complicações da cirurgia de revascularização miocárdica no Rio de Janeiro, de 1999 a 2003. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, 2010; Vol. 95, p. 303-312.
74. MELEK, F.E. Oxidative stress and inflammatory response increase during coronary artery bypass grafting with extracorporeal circulation. Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular, 2012; Vol. 27, p. 61-5.
75. BUDNI, P. et al. Carvedilol Atenua o Estresse Oxidativo na Cardiopatia Chagásica Crônica. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, 2012; Vol. 98, p. 218-224.
76. COSTA, S. et al. Estatinas e stresse oxidativo na insuficiência cardíaca crônica. Revista Portuguesa de Cardiologia, 2016; Vol. 35, p. 41-57.

77. ELIAS, J.A.Z. et al. Efeito do Ramipril e da Sinvastatina sobre o Estresse Oxidativo de Ratos Diabéticos. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, 2008; Vol. 52, p. 1131-1137.
78. GWOZDZINSKI, K. et al. Cardiac rehabilitation improves the blood plasma properties of cardiac patients. *Experimental Biology and Medicine*, 2016. Vol. 0, p. 1–10.
79. JI, L.L. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 1993; Vol. 25, p. 225-231.
80. Sen C.K.; Packer, L.; Hänninen, O. *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*. Oxford: Clarendon Press, 1999, p 917-932.
81. DJORDJEVIC, D.Z. et al. Changes in athlete's redox state induced by habitual and unaccustomed exercise. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012; Vol. 2012, p. 1-7.
82. SEN, C.K. Oxidants and antioxidants in exercise. *Journal of Applied Physiology*, 1995; Vol. 79, p. 675-686.
83. SCHWINGEL, A. et al. Exercise session promotes antioxidant changes in Brazilian soccer players. *Biology of Sport*, 2006; Vol. 23, p. 255-265.
84. LIBERALI, P.; SNIJDER, B.; PELKMANS, L. Single-cell and multivariate approaches in genetic perturbation screens. *Nature Reviews Genetics*, 2015; Vol. 16, p. 18–32.
85. SOUGLIS, A. et al. Comparison of inflammatory responses and muscle damage indices following a soccer, basketball, volleyball and handball game at an elite competitive level. *Research in Sports Medicine*, 2015; Vol. 23, p. 59-72.
86. MANKOWSKI, R.T. et al. Dietary antioxidants as modifiers of physiologic adaptations to exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 2015; Vol. 47, p. 1857-1868.
87. PINHO, R.A. et al. Exercício físico regular diminui o estresse oxidativo pulmonar em ratos após exposição aguda ao carvão mineral. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 2006; Vol. 12, p. 81-84.
88. Pinho R.A. et al. Efeitos preventivos e terapêuticos do exercício físico sobre lesão pulmonar e estresse oxidativo induzido por bleomicina.

- Revista Brasileira Cineantropometria e Desempenho Humano, 2009; Vol. 11, p. 415-421.
89. HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. *Free Radicals in Biology and Medicine*. , Oxford: Clarendon Press, 2007. p. 80-88.
90. KAVOURES, S.A. et al. Physical Activity and Adherence to Mediterranean Diet Increase Total Antioxidant Capacity: The ATTICA Study. *Cardiology Research and Practice*, 2011; Vol. 2011, p. 1-7.
91. ZOPPI, C.C. et al. Vitamin C and E supplementation effects in professional soccer players under regular training. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 2006; Vol. 3, p. 37-44.
92. LEVINE, R.L. et al. Carbonyl Assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, 1994, Vol. 233, p. 346-357.
93. CARDOSO, A.M. et al. Acute effects of resistance exercise and intermittent intense aerobic exercise on blood cell count and oxidative stress in trained middle-aged women. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2012; Vol. 45, p. 1172-1182.
94. SASTRE, J. et al. Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: Prevention by antioxidant administration. *American Journal of Physiology*, 1992; Vol. 32, p. 992-995.
95. LEEUWENBURGH, C.; JI, L.L. Alteration of glutathione and antioxidant status with exercise in unfed and refed rats. *Journal of Nutrition*, 1996; Vol. 126, p. 1833-1843.
96. _____. Glutathione and glutathione ethyl ester supplementation of mice alter glutathione homeostasis during exercise. *Journal of Nutrition*, 1998; Vol. 128, p. 2420-2426.
97. OZBAY, B.; DULGER, H. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in Turkish population: Relation to age, gender, exercise and smoking. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 2002; Vol. 197, p. 119-124.
98. DÉKÁNY, M. et al. Antioxidant Status in Various Sports. *International Journal of Sports Medicine*, 2006; Vol. 27, p. 112-116.
99. HALLIWELL, B. Reactive Species and Antioxidants. *Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life*. American Society of Plant Biologists, 2006; Vol. 141, p. 312-322.

100. BLOMHOFF, R. Dietary antioxidants and cardiovascular disease. *Current Opinion in Lipidology*, 2005; Vol.16, p. 47-54.
101. NERY, R.M.; BARBISAN, J.N.; MAHMUD, M.I. Influência da prática da atividade física no resultado da cirurgia de revascularização miocárdica. *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular*, 2007; Vol. 22, p. 297-302.
102. TITOTO, L. et al. Reabilitação de pacientes submetidos à cirurgia de revascularização do miocárdio: atualização da literatura nacional. *Arquivos de Ciências da Saúde*, 2005; Vol. 12, p. 216-219.

APÊNDICES

Apêndice A. Questionário de frequência alimentar.**QUESTIONÁRIO ALIMENTAR**

• IDENTIFICAÇÃO

01-Nome.....

02- N° Prontuário 03- Data de Nascimento 04-Etnia

(1) Negra (2) Branca (3) Mulata (4) Outra

05- Sexo

(1) Masculino (2)Feminino

06-Naturalidade

07-Data da Avaliação Inicial **HISTÓRIA ALIMENTAR**

09- Quantas refeições você faz regularmente? Lembre-se de todas as refeições-café da manhã, almoço, jantar e lanches que você faz em casa ou fora de casa:

() 2 () 3 () 4 () 5 () 6 ou mais

10-Você tem uma alimentação saudável?

() Sim () Não () às vezes

Justifique:

11-Marque com (X) nos alimentos que você gosta de comer ou beber:

() frango () legumes () bolo

() peixe () verduras () pão

() carne de boi () frutas () hamburger

() ovo () suco () pizza

() feijão () leite () cachorro-quente

() arroz () queijo () biscoito

() macarrão () danone () doce/chocolate

() angu () refrigerante () pipoca

12-Marque um (X) nos alimentos que você come sempre (pelo menos uma vez por semana):

- | | | |
|---------------------------------------|---------------------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> frango | <input type="checkbox"/> legumes | <input type="checkbox"/> bolo |
| <input type="checkbox"/> peixe | <input type="checkbox"/> verduras | <input type="checkbox"/> pão |
| <input type="checkbox"/> carne de boi | <input type="checkbox"/> frutas | <input type="checkbox"/> hamburger |
| <input type="checkbox"/> ovo | <input type="checkbox"/> suco | <input type="checkbox"/> pizza |
| <input type="checkbox"/> feijão | <input type="checkbox"/> leite | <input type="checkbox"/> cachorro-quente |
| <input type="checkbox"/> arroz | <input type="checkbox"/> queijo | <input type="checkbox"/> biscoito |
| <input type="checkbox"/> macarrão | <input type="checkbox"/> danone | <input type="checkbox"/> doce/chocolate |
| <input type="checkbox"/> angu | <input type="checkbox"/> refrigerante | <input type="checkbox"/> pipoca |

13-Você come com mais frequência alimentos:

- fritos cozidos grelhados ou assados
- alternando todas as formas de preparo

14- Com que frequência mensal você costuma comer fast foods (Mac Donalds, Bobs etc)

- nunca quase nunca 1 2 3 4 5 ou mais

15-O que você costuma levar de lanche para o trabalho?

16-Você come doce com frequência?

- todo dia uma vez por semana 2 vezes por semana
- 3 vezes por semana nunca

17- Você se acha:

- gordo magro no peso ideal acima do peso ideal
- abaixo do peso ideal

18- Você pratica atividade física?

- sim não

Qual?

Quantas vezes por semana?

Apêndice B. Termo de consentimento livre e esclarecido.**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Nome do paciente: _____

Matrícula Nº: _____ Contato: _____

Título do Projeto: AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES CORONARIOPATAS SUBMETIDOS À REABILITAÇÃO CARDÍACA.

Investigador: _____

Local do Estudo: _____

Telefone para contato: _____ . Horário: de _____ às _____ H

Eu _____,

abaixo assinado, declaro ter pleno conhecimento dos objetivos desta pesquisa, tendo discutido com o médico responsável pelo estudo e recebido todas as orientações. Entendi o objetivo do estudo, sabendo tratar-se de pesquisa que visa avaliar a capacidade de resposta do organismo ao estresse oxidativo (alterações na oxigenação dos tecidos) após um período do programa de reabilitação cardíaca. Sei que para isso, farei dois testes de exercício feitos habitualmente para pacientes que participam do programa de reabilitação cardíaca, sendo o primeiro teste para avaliação da capacidade funcional e prescrição do exercício. O segundo teste para avaliar a evolução. Sei que será coletado sangue para a pesquisa ao longo do programa de reabilitação cardíaca em quatro momentos. Sei também que se esse estudo trouxer benefícios, poderá ajudar um número grande de pessoas.

A reabilitação cardíaca é um conjunto de atividades necessárias para garantir aos pacientes portadores de doença cardíaca as melhores condições física, mental e social, de forma que eles consigam, pelo seu próprio esforço, se reintegrar e reconquistar uma posição normal na comunidade e levar uma vida ativa e produtiva.

A simples realização de um teste de exercício garante benefícios no metabolismo a todas as pessoas que forem submetidas.

Esta pesquisa estará vinculada a rotina do programa de reabilitação, permanecendo agregado ao Serviço, cumprindo a rotina diária sem modificações.

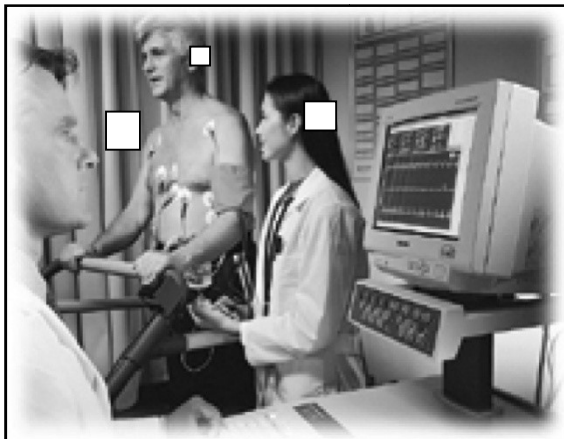
Ficam previstos os cuidados institucionais, supervisionados pelo pesquisador, para os danos na coleta de amostras de sangue (curativos, acompanhamentos e cuidados específicos) sem despesa para o paciente e/ou seu responsável legal.

Informo que todas as coletas serão realizadas no setor próprio da instituição por profissional qualificado, garantindo o padrão de segurança e qualidade.

Informo também que a assistência médica não será modificada em função da aceitação ou não em participar desta pesquisa.

As informações desta pesquisa manterão seu anonimato, serão confidenciais e divulgadas apenas sob a forma de publicação científica. Estou ciente de poder fazer

quaisquer perguntas e me desligar do estudo a qualquer momento, e que esta pesquisa foi submetida ao Comitê de ética e pesquisa humana do Instituto Estadual de Cardiologia Aloysio de Castro, tendo sido aprovada.



A- Teste de exercício em esteira ergométrica.

B- Musculação.

Assinatura do Paciente

Assinatura do responsável (se houver)

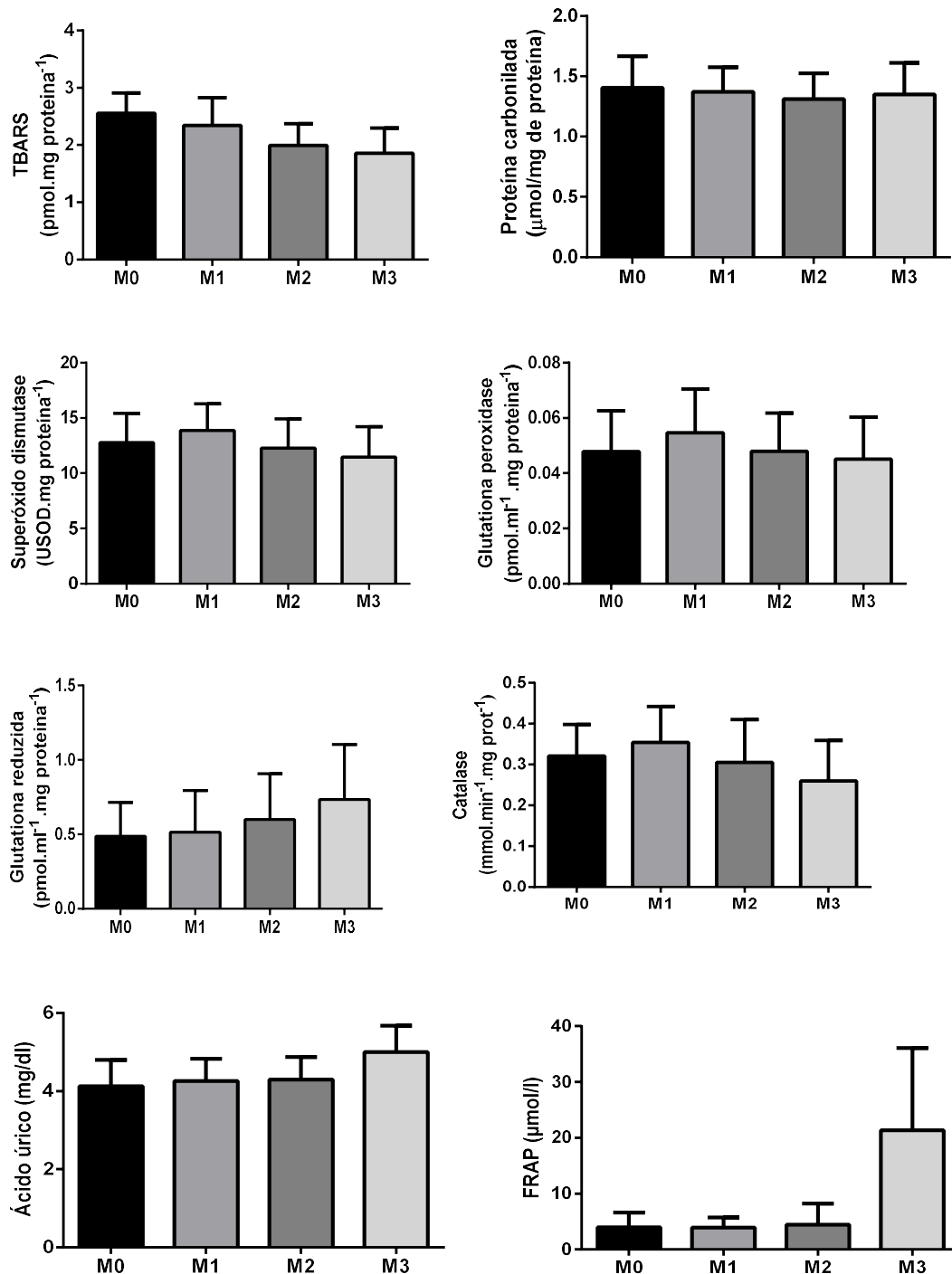
Assinatura da Testemunha:

Eu confirmo que expliquei a natureza deste estudo para o paciente e/ou seu responsável.

Assinatura do Pesquisador:

Data: _____


Apêndice C. Projeção dos resultados mostrando comportamento semelhante com 28 pacientes.



ANEXOS

Anexo A. Letalidade e complicações da cirurgia de revascularização miocárdica⁷³.

Artigo Original



Letalidade e Complicações da Cirurgia de Revascularização Miocárdica no Rio de Janeiro, de 1999 a 2003

Mortality and Complications of Coronary Artery Bypass Grafting in Rio de Janeiro, from 1999 to 2003

Thaís Mendonça Lips de Oliveira¹, Gláucia Maria Moraes de Oliveira¹, Carlos Henrique Klein², Nelson Albuquerque de Souza e Silva¹, Paulo Henrique Godoy¹

Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)¹; Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz)², Rio de Janeiro, RJ - Brasil

Resumo

Tabela 2 - Letalidades acumuladas (%) estimadas em pacientes submetidos à RVM segundo o período de evolução até um ano após a alta hospitalar, em quatro hospitais públicos do Município do Rio de Janeiro, de 1999 a 2003

Período após a RVM	Hospitais				Total (n = 546)	p
	A (n = 146)	B (n = 122)	C (n = 144)	D (n = 134)		
Intra-hospitalar	14,3	13,7	7,0	7,4	10,9	<0,0001
Até 30 dias	16,0	16,5	7,0	7,4	12,3	<0,0001
Até 180 dias	19,3	19,3	9,4	8,5	14,7	<0,0001
Até 365 dias	20,2	19,3	9,4	8,5	14,9	<0,0001

Fonte: Arquivos Brasileiros de Cardiologia.

Anexo B. Protocolo do Comitê de ética em pesquisa.

**SERVIÇO PÚBLICO ESTADUAL
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE E DEFESA CIVIL
INSTITUTO ESTADUAL DE CARDIOLOGIA ALOYSIO DE CASTRO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

Rio de Janeiro, 31 de outubro de 2013.

Ilmo. Prof. Dr. Gerez Fernandes Martins

Venho pela presente informar-lhe que o projeto de pesquisa **“AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES CORONARIOPATAS SUBMETIDOS À REABILITAÇÃO CARDÍACA”**, cadastrado na Plataforma Brasil sob o nº 20554913.0.0000.5265, foi submetido e aprovado na reunião de 11 de outubro de 2013, pelo Comitê de Ética em Pesquisa de nossa Instituição.

Esperando que seja bem sucedida a referida pesquisa, auguramos votos de êxito e enviamos nossos protestos de estima e consideração.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be the name of the coordinator.

Coordenador do CEP do ECAC

