

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MARÍLIA COSTA DE ARAUJO

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO REGULAR E SUPLEMENTAÇÃO DE
LICOPENO SOBRE MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO NA
DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA**

CRICIÚMA, FEVEREIRO DE 2008.

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

MARÍLIA COSTA DE ARAUJO

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO REGULAR E SUPLEMENTAÇÃO DE
LICOPENO SOBRE MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO NA
DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Aurino de Pinho.

Co-orientador: Prof. Dr. Magnus Benetti

CRICIÚMA, FEVEREIRO DE 2008.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

A663e Araújo, Marília Costa de.

Efeitos do exercício físico regular e suplementação de licopeno sobre marcadores de estresse oxidativo na doença arterial coronariana / Marília Costa de Araújo ; orientador: Ricardo Aurino Pinho. -- Criciúma: Ed. do autor, 2008.
76 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2008.

1. Exercícios físicos – Aspectos fisiológicos. 2. Estresse oxidativo. 3. Antioxidantes – Efeitos fisiológicos. 4. Coronariopatias. 5. Aterosclerose. I. Título.

CDD. 21ª ed. 617.1027

Bibliotecária: Flávia Cardoso – CRB 14/840
Biblioteca Central Prof. Eurico Back – UNESC

AGRADECIMENTOS

A todos os colaboradores deste trabalho;

Ao Professor Dr. Ricardo Aurino de Pinho, meu orientador e grande incentivador desta pesquisa, por ter me aberto portas, acreditado e oportunizado a realização deste estudo.

Ao Professor Dr. Magnus Benetti, co-orientador deste estudo, por ser sempre otimista, conseguir me animar e solucionar os “pepinos” que surgiram em Florianópolis.

A todos os pacientes e funcionários da Cardiosport, pelo apoio e todo o suporte para a concretização deste experimento.

A todos os integrantes do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do Exercício, pela energia positiva, pelo companheirismo e apoio, fundamentais para mim.

Aos integrantes do Laboratório de Fisiopatologia Experimental, em especial o Professor Dr. Felipe Dal Pizzol e Fabrícia Cardoso Petronilho por toda a ajuda.

À Lilian, Fernanda e Merieli meu agradecimento especial, pois sem vocês nada disso teria se concretizado!

A minha avó Adília, por ter me acolhido de todo coração em sua casa durante minha estada em Criciúma. Obrigada pelos almoços deliciosos e pelo carinho.

A todos os familiares e amigos que me apoiaram, me ouviram, me aconselharam e me tranquilizaram em momentos de incertezas. Em especial, meus pais, Jesualdo e Maria, minha irmã, Maysa, e meu noivo, Rodrigo, grandes incentivadores e motivadores. Muito obrigada por estarem sempre ao meu lado, pelo carinho, pela força, pelo apoio... Vocês são meu norte... Amo vocês!

RESUMO

Antioxidantes e exercício físico têm sido apontados como possíveis agentes preventivos da aterosclerose e por interferirem na função endotelial e estresse oxidativo. Diante disso, o presente estudo visou avaliar os efeitos do treinamento físico em diferentes intensidades e da suplementação de licopeno sobre a produção de óxido nítrico e parâmetros oxidativos na DAC. Para isso, 32 pacientes voluntários da clínica Cardiosport, portadores de DAC documentada por angiografia, foram recrutados e divididos em 4 grupos randomizados: Exercício Moderado mais Placebo (EM+P), (n=7), Exercício Moderado mais Licopeno (EM+L), (n=8), Exercício Intenso mais Placebo (EI+P), (n=8), Exercício Intenso mais Licopeno (EI+L), (n=9). Para a avaliação da produção de óxido nítrico (NO) foi medida a concentração plasmática de nitrito/nitrato (NOx). Já com relação à resposta oxidativa, foram mensurados os níveis de peroxidação lipídica (TBARS), carbonilação de proteínas (PC) e a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT). A concentração plasmática de NOx diminuiu significativamente nos grupos EM+P, EI+P e EM+L imediatamente e 72 horas após a última sessão de exercício. Além disso, o grupo EM+L diminuiu significativamente os níveis de NOx imediatamente após a última sessão de exercício em relação ao seu respectivo grupo controle. Um aumento significativo nos níveis de NOx foi observado no grupo EI+L 72h após a última sessão de exercício. Os níveis de MDA aumentaram significativamente somente no grupo EI+P imediatamente após a última sessão de exercício e o grupo EI+L mostrou uma diminuição significativa nos níveis de MDA imediatamente e 72h após a última sessão de exercício. Os níveis de carbonilação de proteínas diminuíram significativamente somente no grupo EI+P 72h depois da última sessão de exercício enquanto somente o grupo EI+L apresentou uma redução significativa em relação aos níveis basais e respectivo grupo controle durante o mesmo período. A atividade da SOD aumentou significativamente em ambos os grupos placebo imediatamente e 72h após a última sessão de exercício e diminuiu no grupo EM-L 72h após a última sessão de exercício e no grupo EI-L imediatamente após a última sessão de exercício, ambos em relação aos respectivos grupos controle. A atividade da CAT aumentou significativamente nos grupos EM+P, EI+P e EI+L somente 72h após a última sessão de exercício. Em conclusão, as observações do presente estudo mostram que o exercício intenso aumenta a concentração de plasmática de NO em pacientes com DAC suplementados com licopeno e que essa suplementação foi capaz de reduzir níveis de peroxidação lipídica e carbonilação de proteínas nesses pacientes submetidos a exercícios intensos.

Palavras-chave: licopeno, doença arterial coronariana, estresse oxidativo, óxido nítrico, exercício intenso.

ABSTRACT

Antioxidants and exercise may prevent atherosclerosis by interfering with endothelial function and oxidative stress. The aim of this study was to investigate the effects of moderate and intense exercise (ME, MI) and lycopene (L) supplementation on nitric oxide (NO) production and oxidative stress biomarkers in patients with coronary artery disease (CAD). Forty males volunteers with documented CAD were recruited and divided into four groups: ME-Placebo (n=7), ME+L (n=8), IE-Placebo (n=8), IE-L (n=9). Nitrite/nitrate concentrations (NO_x), lipoperoxidation (MDA levels), protein carbonylation (PC) and superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activity were assessed. Plasmatic concentration of NO_x decreased significantly in the ME-P, IE-P and ME-L groups immediately and 72h after the last exercise session and the group ME-L had decreased NO_x values immediately after the last exercise session in relation to the corresponding control group. An increase was observed in the IE-L group 72 h after the last exercise session. MDA levels increased significantly only in the IE-P group immediately after the last exercise session and the IE-L group showed significantly decreased MDA level immediately after and 72 h after the last exercise session. The level of protein carbonylation increased only in EI-P group 72h after the last exercise session, while only the group EI-L group presented a significant reduction in relation to the basal and placebo groups during the same period. SOD activity increased significantly in both placebo groups immediately after and 72h after the last exercise session and decreased in the ME-L group 72h after exercise and immediately after exercise in the IE-L group, both in relation to placebo groups. CAT activity increased in ME-P, IE-P and IE-L groups only 72h after the last exercise session. In conclusion, the results suggested that intense exercise augments plasmatic concentration of NO in patients with CAD supplemented with lycopene and this supplementation is able to decrease oxidative damage in these patients.

Key-words: lycopene, coronary artery disease, oxidative stress, nitric oxide, intense exercise.

LISTA DE ABREVIATURAS

$^1\text{O}_2$: oxigênio singlete
AMP: monofosfato de adenosina
ATP: adenina triposfato
CAT: catalase
DAC: doença arterial coronariana
DNA: ácido desoxirribonucléico
eNOS: óxido nítrico sintase endotelial
ERN: espécies reativas de nitrogênio
ERO: espécies reativas de oxigênio
GMPc: guanilato monofosfato cíclico
GPX: glutationala peroxidase
GSH: glutationala reduzida
 H_2O_2 : peróxido de hidrogênio
iNOS: óxido nítrico sintase induzível
LDL: lipoproteína de baixa densidade
LDL-ox: lipoproteína de baixa densidade oxidada
NO: óxido nítrico
NOS: óxido nítrico sintase
NOx: nitrito/nitrato
 $\text{O}_2^{\bullet-}$: ânion superóxido
 O_2 : oxigênio
 OH^{\bullet} : radical hidroxil
RL: radical livre
RLO: radical livre de oxigênio
ROOH: hidroperóxido orgânico
SOD: superóxido dismutase
TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TNF-alfa: fator de necrose tumoral alfa
 $\text{VO}_2\text{máx}$: volume máximo de Oxigênio
XO: xantina oxidase

SUMÁRIO

Resumo.....	4
Abstract.....	5
Lista de Abreviaturas.....	6
1. Introdução.....	8
1.2 Fundamentação teórica.....	10
1.2.1 Função Endotelial e Aterosclerose.....	10
1.2.2 Espécies Reativas de Oxigênio e Estresse Oxidativo na DAC.....	12
1.2.3 Sistema de Defesa Antioxidante e Licopeno.....	16
1.2.4 Exercício Físico e Estresse Oxidativo.....	21
1.2.5 Exercício Físico e o Endotélio.....	23
2. Objetivos.....	27
 Capítulo I: Lycopene supplementation attenuated oxidative stress in plasma of humans with coronary artery disease after intense exercise.....	 28
 3. Discussão.....	 50
4. Conclusões.....	58
5. Perspectivas.....	59
Referências bibliográficas.....	60
Anexo A.....	76

1 INTRODUÇÃO

A doença arterial coronariana (DAC) caracteriza-se pela insuficiência de irrigação sanguínea ao coração através das artérias coronárias. Está diretamente relacionada ao grau de obstrução ao fluxo sanguíneo pelas placas ateroscleróticas, resultando em estreitamento das artérias coronárias (estenose), o qual diminui a chegada do oxigênio ao coração devido à redução do fluxo sanguíneo coronariano (Franco & Matos, 2005).

As doenças cardiovasculares lideram os índices de morbidade e mortalidade no Brasil e no mundo, sendo a DAC a causa de um grande número de morte e de gastos em assistência médica. No Brasil, segundo a Síntese de Indicadores Sociais de 2002, realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), as doenças cardiovasculares se destacam como a principal causa de mortes no país (28,8% para homens e 36,9% para mulheres), em todas as regiões e estados. A região Sul e o estado do Rio Grande do Sul, em particular, registram as maiores proporções, sendo responsáveis por 40% das mortes de mulheres (IBGE, 2006). O fumo, a obesidade, o *diabetes mellitus*, a hipertensão, os níveis elevados de colesterol, a história familiar de DAC e a falta de exercícios aumentam o risco da doença (Franco & Matos, 2005).

Hermann & Lerman (2001) sugerem que inúmeros fatores de risco para a DAC estão diretamente relacionados à disfunção endotelial. A presença desses fatores de risco induz a um grande número de mudanças prejudiciais à biologia vascular, incluindo a diminuição da biodisponibilidade de óxido nítrico (NO), aumento da formação de radicais livres de oxigênio (RLO) e aumento da atividade endotelial. Essas mudanças podem levar a uma capacidade vasodilatadora prejudicada (Steinberg, 1991; Lerman et al., 1993; Tsao et al., 1998).

Inúmeras intervenções são realizadas no tratamento da DAC, incluindo agentes farmacológicos, mudança nos hábitos alimentares, suplementação nutricional e exercício físico regular.

O exercício físico regular é recomendado para a manutenção da saúde e prevenção de inúmeras doenças. No entanto Polidori et al. (2000) e MacNee & Rahman (2001) apresentam evidências de que o exercício físico, principalmente os mais intensos, está associado tanto com danos musculares quanto à produção elevada de radicais livres.

Os efeitos benéficos do exercício físico regular sobre a função endotelial vêm sendo demonstrados em experimentos com animais e humanos (Goto et al., 2003). Entretanto, a literatura ainda é controversa quanto à intensidade de esforço necessária para provocar alterações protetoras significativas na função endotelial. Segundo Farsifar et al. (2006) e Wisløff et al., (2007), exercícios agudos e intensos apresentam significativa e rápida resposta na função endotelial, porém exercícios intensos estão também relacionados ao aumento no consumo de oxigênio e ao conseqüente aumento na formação de radicais livres (Sánchez-Quesada et al., 1997).

Além do efeito cardio-protetor do exercício regular, existe um interesse crescente pela suplementação nutricional com antioxidantes no tratamento e controle da DAC. Embora estudos com animais sugiram que a suplementação dietética com antioxidantes forneça proteção contra o dano oxidativo cardíaco, ainda não está claro se a suplementação com antioxidantes pode fornecer a mesma proteção em humanos (Antoniades et al., 2003).

Dado o pressuposto potencial terapêutico dos antioxidantes e do exercício físico, o presente estudo visou avaliar os efeitos do treinamento físico em diferentes

intensidades e da suplementação de licopeno sobre a função endotelial e parâmetros oxidativos na DAC.

1.2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.2.1 Função Endotelial e Aterosclerose

Sabe-se bem que as características funcionais das artérias coronárias são determinadas pelas células endoteliais, células do músculo liso vascular e de elementos do tecido conectivo nas paredes arteriais. O músculo vascular é o final do caminho habitual para ativar o controle do diâmetro das artérias e, portanto, da resistência vascular (Laughlin et al., 1998).

Tradicionalmente considerava-se que o papel do endotélio era, sobretudo, de barreira seletiva para a difusão de macromoléculas da luz dos vasos sanguíneos para o espaço intersticial. Durante os últimos 20 anos, foram definidas muitas outras funções para o endotélio, como regulação do tônus vagal, modulação da inflamação, promoção e inibição do crescimento neovascular e modulação da agregação plaquetária e da coagulação (Laughlin et al., 1998).

O endotélio é responsável pela síntese de fatores vasoconstritores e vasodilatadores, sendo o óxido nítrico (NO) um dos fatores relaxantes derivados do endotélio de maior importância (Johnstone et al., 1999).

Em condições basais, em indivíduos saudáveis, há tônus vasodilatador moderado e constante, causado pelo NO endotelial se difundindo para as células da musculatura lisa vascular; se a formação basal de NO cessa, aparecerá vasoconstrição. A baixa

formação de NO (em várias doenças vasculares) reduz a perfusão tecidual e promove a formação de trombo, enquanto a alta formação de NO produz vasodilatação pronunciada e choque (Wennmalm, 1994).

Diversas doenças, como as dislipidemias, a aterosclerose e a hipertensão arterial sistêmica, apresentam em sua gênese e/ou em seus mecanismos, alterações na função endotelial. Assim, a disfunção endotelial, caracterizada por menor produção e/ou biodisponibilidade de NO, é um dos fatores que contribuem para o aparecimento das doenças cardiovasculares (Kingwell, 2000).

Em pessoas sem aterosclerose, o efeito predominante da ativação endotelial e liberação de NO é a vasodilatação. O ferimento endotelial e a desnudação resultam na disfunção (vasoconstrição paradoxal em resposta a agentes vasodilatadores), que parece ser o evento inicial para o desenvolvimento da aterosclerose. A disfunção endotelial precede a aparência física da aterosclerose na angiografia (Reddy et al., 1994). O conhecimento crescente de que o diâmetro do lúmen das coronárias do epicárdio, vasos de resistência e artérias periféricas maiores é altamente dinâmico em resposta aos fatores fluxo-mediado e agonista-mediado (NO e endotélio-1) têm avançado o entendimento da aterosclerose. Ludmer et al. (1986) primeiro observaram uma vasoconstrição paradóxica de segmentos ateroscleróticos de artérias coronárias em resposta à infusão de acetilcolina.

Percebe-se, portanto, que o dano endotelial e sua disfunção são eventos iniciais da aterosclerose. Em estudos recentes, foi documentada uma alta prevalência de aterosclerose em adolescentes assintomáticos e adultos jovens, e disfunção endotelial em crianças obesas (Tuzcu et al., 2001; Tounian et al., 2001). Disfunção endotelial é também reconhecida como fator importante em síndrome coronariana aguda (Davies,

2001). Rozanski et al. (2001), em recente estudo, compararam a resposta do fluxo sanguíneo periférico em 57 pacientes com doença coronariana e 50 sujeitos aparentemente saudáveis com controle. Os dois grupos foram submetidos a um exercício físico em esteira ergométrica, e os resultados revelaram não haver nenhuma manifestação de vasodilatação induzida pelo exercício no grupo controle, enquanto que 53% dos sujeitos com doença coronariana demonstraram vasoconstrição progressiva.

O endotélio, quando agredido por fatores de risco, perde progressivamente sua função fisiológica de proteção, passando a ser fonte de elementos que participam da progressão da aterosclerose. Esses danos ou ativação do endotélio modificam funções regulatórias, resultando na disfunção endotelial, alterando a resposta vasodilatadora, reduzindo a atividade anti-trombótica, ocasionando alterações estruturais e obviamente dano vascular (De Meyer & Herman, 1997).

Atualmente, a aterosclerose é o protótipo da doença caracterizada em todas as suas fases por uma disfunção endotelial, que é definida como uma oferta insuficiente de NO que dispõe ao estresse oxidativo, à inflamação, à erosão e à vasoconstrição (Hermann & Lerman, 2001).

Entre os fatores que causam dano ao endotélio as espécies reativas de oxigênio (ERO) e as espécies reativas de nitrogênio (ERN) são crescentemente reconhecidas como as maiores responsáveis por comprometer a função endotelial celular e estão implicadas na aterogênese (Singh & Jialal, 2006).

1.2.2 Espécies Reativas de Oxigênio e Estresse Oxidativo na DAC

Sob condições fisiológicas normais, a maioria das espécies reativas de oxigênio (ERO) é produzida na cadeia respiratória mitocondrial, pela qual de 90% a 95% do

oxigênio consumido é reduzido à água. Entretanto, as ERO podem ser geradas em outros eventos bioquímicos na célula, por exemplo, em processos inflamatórios, no catabolismo de ácidos graxos, degradação da xantina a ácido úrico e auto-oxidação de catecolaminas. Embora esses processos sejam normais para a vida das células, a produção excessiva de ERO, mais especificamente radicais livres (RL), pode induzir danos a biomoléculas, entre elas ácidos nucleicos, proteínas e lipídeos que, em grande extensão, podem levar à morte celular (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Por definição, segundo Halliwell & Gutteridge (2007), RL são moléculas ou fragmentos moleculares reativos que contêm um elétron não pareado em seu orbital mais externo e tendem a extrair elétrons de outras moléculas para alcançar um estado quimicamente mais estável.

A geração de RL nem sempre é prejudicial ao organismo, pelo contrário, é necessária em vários processos biológicos como sinalização celular, contração muscular e sistema imune (Matsuo & Kaneko, 2001). Por exemplo, quando as células são agredidas por algum agente estressor (que também pode ser RL), elas acabam produzindo RL para combater esses agentes. O grande problema é que, quando os níveis totais gerados de RLO forem maiores que a capacidade de defesa, podem ocorrer danos celulares significativos.

Já se reconhece que o aumento do estresse oxidativo pode contribuir para a patogênese de doenças cardiovasculares, e estudos clínicos experimentais têm sugerido que essas doenças estão associadas com o aumento da formação de radicais livres e com a redução das defesas antioxidantes (Lorgeril et al., 2001).

A oxidação pode levar a um dano tecidual por meio da modificação de espécies moleculares, como lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos, induzindo doenças como, por exemplo, aterosclerose e câncer (Hasnain & Mooradian, 2004).

As principais fontes de RL na parede vascular com aceitável relevância fisiológica nas doenças cardiovasculares são: NADPH oxidase, NOS (eNOS desacoplada e iNOS), mieloperoxidase, xantina oxidase, lipoxigenase/ciclooxigenase, cadeia respiratória/fosforilação oxidativa (Singh & Jialal, 2006).

A modificação oxidativa de lipoproteínas circulatórias por RL, particularmente as lipoproteínas de baixa densidade (LDLs), parece ser bastante importante para o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas principalmente a oxidação em particular de ácidos graxos poliinsaturados na LDL que parece ocorrer dentro das lesões ateroscleróticas. Seguindo o processo de oxidação, a lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDL-ox) estimula a migração de monócitos circulantes para o espaço subendotelial e também causa lesão na célula endotelial. A LDL-ox é então capturada por macrófagos, mais rapidamente que o normal, para formar células espumosas carregadas de colesterol. Esse processo histológico prematuro leva ao desenvolvimento de placas ateroscleróticas (Antoniades et al., 2003; Singh & Jialal, 2006).

Além disso, a própria LDL-ox é citotóxica para as células endoteliais, promove a expressão de citocinas, é pró-inflamatória, causa inibição da eNOS, promove vasoconstrição e adesão, e aumenta a agregação plaquetária (Sánchez-Quesada et al., 1997; Singh & Jialal, 2006).

Fatores de risco para aterosclerose, como fumo, *diabetes mellitus*, hipertensão, hipercolesterolemia e outros, estão associados com o aumento da produção de RL. A

disponibilidade de ERO, como, por exemplo, radicais superóxido e hidroperóxidos, promovem a produção direta de espécies citotóxicas e a inativação de NO, que podem ser prevenidas por antioxidantes (Antoniades et al., 2003). Essa inativação leva à perda dos efeitos protetores do NO, como regulação do tônus arterial, inibição da inflamação local e coagulação, e da proliferação celular.

O efeito protetor do NO na aterosclerose ocorre por intermédio da inibição da oxidação das moléculas de LDL colesterol e do impedimento da agregação plaquetária. O mecanismo pelo qual o NO impede a formação da molécula de LDL-ox se dá por meio de sua ação antioxidante, impedindo a formação de ânions superóxidos, que promovem a oxidação da molécula de LDL colesterol (Mombouli & Vanhoutte, 1999). A ação antiagregante do NO é devida a sua ligação com a molécula de guanilatociclase, a qual induz a formação de guanilato monofosfato cíclico (GMPc), que promove a redução da concentração de íons cálcio dentro da plaqueta, inibindo sua ativação e agregação (Hobbs & Moncada, 2003).

A perda de NO prejudica esses mecanismos protetores contribuindo para o desenvolvimento da aterosclerose. Acredita-se que o estresse oxidativo induz a uma disfunção endotelial na aterosclerose coronária pelo aumento da degradação e inibição da síntese de NO (Goto et al., 2003).

Atualmente, o mais importante mecanismo pelo qual se acredita que o estresse oxidativo altera a função endotelial é por intermédio da inativação do NO pelos ânions superóxidos e LDLs oxidadas. Esses RL desativam os receptores endoteliais para acetilcolina, serotonina, trombina, bradicinina e outros mediadores, diminuindo a estimulação da NOS nas células endoteliais e conseqüente redução na produção de

NO, prejudicando o relaxamento das células musculares lisas e predispondo à formação da placa aterosclerótica (Antoniades et al., 2003).

Além disso, a produção de ERO pode reagir com a molécula de NO e produzir o ânion peroxinitrito (ONOO^-) e dióxido de nitrogênio, podendo assim iniciar a peroxidação lipídica e potencializar a lesão inflamatória em células vasculares, diminuindo a disponibilidade de NO para as células e favorecendo os processos tromboembólicos (Beckman et al., 1990).

Baseados nesses achados, pesquisadores estão tentando encontrar uma relação entre vários antioxidantes e a função endotelial (Antoniades et al., 2003).

1.2.3 Sistema de Defesa Antioxidante e Licopeno

A preocupação com a ação dos antioxidantes e a sua relação com os RL se tornou essencial à compreensão de algumas etiopatogenias (Shami & Moreira, 2004).

As lesões causadas pelos RL nas células podem ser prevenidas ou reduzidas por meio da atividade de antioxidantes (Shami & Moreira, 2004). Os antioxidantes podem agir diretamente na neutralização da ação dos RL ou participar indiretamente de sistemas enzimáticos com essa função (Barreiros & David, 2006).

De acordo com Halliwell & Gutteridge (2007), esse sistema de defesa pode atuar de forma associada ou independente por duas vias:

- 1) Ativação de enzimas antioxidantes: as principais enzimas antioxidantes incluem a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutatona peroxidase (GPX) que são ativadas normalmente durante o metabolismo celular, porém suas atividades podem aumentar em função da presença de ERO.

A SOD constitui a primeira linha de defesa enzimática contra a produção intracelular de RL, catalisando a desmutação do ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) (Hollander et al., 2000). Está presente na matriz mitocondrial (Mn-SOD), no citosol (CuZn-SOD) e no meio extracelular. Embora o $O_2^{\bullet-}$ não seja altamente danoso, pode extrair elétrons de diversos componentes celulares, causando reações em cadeia de radicais livres (Halliwell & Gutteridge, 2007). O produto resultante da reação catalisada pela SOD é o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que deve ser retirado do meio o mais rápido possível.

A enzima CAT catalisa a degradação do H_2O_2 . Na reação, uma das moléculas de H_2O_2 é oxidada a oxigênio molecular e a outra é reduzida à água (Chance et al., 1979). Está localizada, principalmente, no peroxissoma; entretanto, outras organelas, como as mitocôndrias, podem conter alguma atividade. A catálise do H_2O_2 é importante, pois, na presença de Fe^{2+} , leva à formação de radical hidroxil (OH^{\bullet}) (reação de Fenton), altamente reativo e danoso às biomoléculas.

A GPX é uma enzima selênio-dependente que catalisa a redução do H_2O_2 e hidroperóxidos orgânicos (ROOH) para H_2O e álcool, usando a glutathiona (GSH) como doador de elétrons (Flohé & Gunzler, 1984). Está localizada tanto no citosol quanto na matriz mitocondrial.

2) Antioxidantes biológicos não-enzimáticos: são constituídos por antioxidantes hidrossolúveis que incluem glutathiona reduzida (GSH), ácido ascórbico e ácido úrico e antioxidantes lipossolúveis que incluem alfa-tocoferol, ubiquinóis e carotenóides.

Segundo Halliwell & Gutteridge (2007), a GSH é um dos mais abundantes antioxidantes biológicos, atua na conversão de dissulfidas para tióis e serve como um substrato para a GPX e glutathiona S-transferase. A GSH, em sua forma reduzida, tem um

importante papel no mecanismo de defesa do pulmão contra ataques de radicais livres (Smith et al., 1994; Zhang et al., 1999) e, dependendo do nível na célula, a GSH pode ser uma fonte importante contra respostas inflamatórias causadas por partículas industriais (Zhang et al., 1999).

Entre os antioxidantes biológicos não-enzimáticos lipossolúveis encontram-se os carotenóides. Estes são corantes naturais presentes nas frutas e nos vegetais, e sua estrutura química é composta de ligações duplas conjugadas, que são responsáveis por sua cor e por algumas de suas funções biológicas (Shami & Moreira, 2004).

Segundo Olson (1999), os carotenóides seqüestram o oxigênio singlete (1O_2), removem os radicais peróxidos, modulam o metabolismo carcinogênico, inibem a proliferação celular, estimulam a comunicação entre células (junções gap) e elevam a resposta imune. A ação seqüestrante de radicais é proporcional ao número de ligações duplas conjugadas, presentes nas moléculas dos carotenóides. O mecanismo pelo qual os carotenóides protegem os sistemas biológicos dos radicais depende da transferência de energia do oxigênio excitado para a molécula do carotenóide, em que a energia é dissipada por meio de rotações e vibrações do carotenóide no meio solvente.

Os carotenóides reagem com os RL, notavelmente com os radicais peróxidos e com o oxigênio molecular, sendo esta a base de sua ação antioxidante. Carotenóides, como betacaroteno, licopeno, zeaxantina e luteína, exercem funções antioxidantes em fases lipídicas, bloqueando os RL que danificam as membranas lipoproteicas (Olson, 1999).

Atualmente, o licopeno tem atraído interesse pelos seus efeitos benéficos nas doenças cardiovasculares e câncer. É o carotenóide predominante no plasma e nos tecidos humanos (o fígado é o órgão que mais o acumula), não sintetizado pelo

organismo humano, sendo encontrado em um número limitado de alimentos de cor vermelha, como tomates e seus produtos, goiaba, melancia, mamão e pitanga (Shami & Moreira, 2004).

O licopeno é um carotenóide sem a atividade provitamina A, lipossolúvel, caracterizado por uma estrutura simétrica e acíclica, e constituído somente por átomos de carbono e hidrogênio, contendo onze ligações conjugadas e duas ligações duplas não conjugadas. Sua estrutura é responsável pela coloração vermelho-alaranjada de frutas e vegetais nos quais está presente (Agarwal & Rao, 2000; Rissanen et al., 2002).

É tido como o carotenóide que possui a maior capacidade de atuar como “scavenger” do $^1\text{O}_2$, possivelmente devido à presença das duas ligações duplas não conjugadas, o que lhe oferece maior reatividade. Aparece atualmente como um dos mais potentes antioxidantes, sendo sugerido na prevenção da carcinogênese e aterogênese por proteger moléculas, como lipídeos, LDLs, proteínas e DNA (Lee et al., 2006; Sahin et al., 2006; Ahuja et al., 2006).

Tomates e derivados aparecem como as maiores fontes de licopeno. O tomate cru apresenta, em média, 30 mg de licopeno/kg do fruto; o suco de tomate, cerca de 150 mg de licopeno/litro; e o *catchup* contém, em média, 100 mg/kg. Este se encontra em maiores quantidades na casca dos alimentos, aumentado consideravelmente durante o seu amadurecimento. Além disso, sua concentração é maior nos alimentos produzidos em regiões de climas quentes (Rodriguez-Amaya, 1999).

Em relação à biodisponibilidade, estudos mostram que o consumo de molho de tomate aumenta as concentrações séricas de licopeno em taxas maiores do que o consumo de tomates crus ou suco de tomate fresco (Giovannuci, 1999). Essa diferença de biodisponibilidade está relacionada com as formas isoméricas apresentadas pelo

licopeno, sendo o calor responsável pela modificação da sua forma isomérica. O licopeno ingerido, na forma natural (trans-licopeno), é pouco absorvido, mas estudos demonstram que o processamento térmico dos tomates e seus produtos melhora a sua biodisponibilidade. O processamento térmico rompe a parede celular e permite a extração do licopeno dos cromoplastos (Wilcox et al., 2003).

Ainda com relação a sua biodisponibilidade, a absorção de licopeno parece ser maior em produtos que utilizam tomates cozidos e influenciada pela quantidade de gordura da refeição. Além disso, algumas fibras, como a pectina, podem reduzir a absorção de licopeno devido ao aumento da viscosidade. Alguns carotenóides também podem afetar a biodisponibilidade do licopeno, por exemplo, a luteína obtida do vegetal e o betacaroteno, pois ocorre uma competição durante a absorção intestinal do licopeno (Bramley, 2000).

Portanto, percebe-se que existem vários fatores que podem interferir na biodisponibilidade dos carotenóides, como: matriz alimentar; forma isomérica do licopeno; quantidade e tipo de gordura dietética; processo de absorção; interações entre os carotenóides; presença de fibra alimentar e processamento de alimentos fontes (Moritz & Tramonte, 2006).

Segundo um estudo realizado no Canadá por Rao et al. (1998), a média de ingestão de licopeno, verificada por meio de questionários de frequência alimentar, foi de 25 mg por dia, com 50% dessa ingestão representada por produtos processados de tomates. Os mesmos autores também sugerem que o valor de 35 mg/dia seria uma ingestão média diária apropriada desse antioxidante.

1.2.4 Exercício Físico e Estresse Oxidativo

Taxas metabólicas elevadas como resultado de exercício físico podem aumentar dramaticamente o consumo de oxigênio (VO_2 máx) em até 20 vezes em relação aos valores de repouso (Carmeli et al., 2000). Esse aumento é seguido por um concomitante aumento na produção de ERO (Alessio & Goldfarb, 1988). Entretanto, estudos têm demonstrado que o treinamento de *endurance* aumenta as defesas antioxidantes, assim como a capacidade oxidativa do músculo (Alessio & Goldfarb, 1988; Radák et al., 1999; Terblanche, 2000).

O estresse oxidativo tem sido associado com a diminuição da performance, fadiga, dano muscular e excesso de treinamento. Por essa razão, alguns pesquisadores (Powers et al., 1999; Radák et al., 1999; Polidori et al., 2000; Carmeli et al., 2000) sugerem que reduzir o estresse oxidativo pode melhorar a tolerância ao exercício bem como a performance física.

Embora os benefícios do aumento no VO_2 máx sejam bem estabelecidos, um paradoxo bioquímico é verificado. O aumento no consumo máximo de O_2 é essencial para a aptidão cardiovascular e performance, porém o aumento no consumo durante o exercício pode ser prejudicial. Dependendo do tipo e da intensidade do exercício, têm sido propostos vários mecanismos na geração de ERO, segundo König e Berg (2002):

- 1) Aumento na produção de $O_2\bullet^-$ na cadeia respiratória.

- 2) Ativação da xantina oxidase (XO): a XO catalisa a degradação do monofosfato de adenosina (AMP) durante o trabalho muscular isquêmico, levando ao aumento na produção de $O_2\bullet^-$. Durante a isquemia, o AMP, formado do ATP (trifosfato de adenosina) pela reação de adenilato quinase, é degradado para hipoxantina. A XO é

convertida e, dessa forma, reduzida para xantina desidrogenase durante a isquemia por proteases intramusculares, as quais necessitam de Ca^{+2} . A XO converte a hipoxantina para xantina e ácido úrico usando o oxigênio molecular como receptor de elétrons, formando assim o $\text{O}_2^{\bullet-}$. Em condições aeróbicas, o oxigênio suficiente assegura que o ATP seja repostado via fosforilação oxidativa mitocondrial e que a hipoxantina e a xantina sejam, primeiramente, convertidas para ácido úrico por meio da xantina desidrogenase. Além disso, o músculo esquelético tem baixa atividade da XO. Todavia, a XO pode ser um importante caminho quando o músculo apresentar um déficit de adenina dinucleotídeo. Essa situação, teoricamente, pode acontecer em situação isquêmica, exercício isométrico, déficit de O_2 e exercícios com limitação vascular de fluxo sanguíneo (JI, 1999).

3) Ativação de neutrófilos após danos musculares induzidos por exercício: o exercício leva à formação de várias células do sistema imune, como neutrófilos, monócitos e macrófagos, que são capazes de produzir ERO. Entre essas células, os neutrófilos são a maior fonte de produção de $\text{O}_2^{\bullet-}$ pela reação NADPH-oxidase. Na presença de H_2O_2 e íon clorido, os neutrófilos geram ácido hipocloroso, pela atividade da mieloperoxidase.

As ERO produzidas por neutrófilos são geradas para destruir bactérias invasoras e remover tecidos danificados. A neutrofilia induzida pelo exercício ocorre como resultado da migração de neutrófilos vindos dos tecidos endoteliais (mediada por catecolaminas) e da medula óssea (mediada pelo cortisol) (Trevor & Sandy, 2001). Isso faz com que removam proteínas e células danificadas e também células mortas. Embora isso seja uma reação desejável, quando não bem regulada, pode ser uma das

causas de inflamações agudas devido a um grande aumento na produção de mediadores proinflamatórios (interleucinas 1, 8, TNF-alfa) e prostaglandinas, levando à indução e à intensificação de processo inflamatório adicional, aumentando a produção de ERO que são ativadores de fator transcrição NF-kB (Mastaloudis et al., 2004).

4) Menor homeostase do cálcio em músculos estressados: o exercício leva a uma isquemia muscular e à diminuição da homeostase do Ca^{+2} , o que favorece a produção de ERO por reações catalisadas pela XO (Chevion et al., 2003).

Entretanto, mesmo que o exercício intenso induza a uma alteração significativa na produção de ERO, estudos recentes mostram que o exercício físico regular de *endurance* pode tornar mais eficiente o sistema de defesa antioxidante e melhorar a capacidade oxidativa dos sistemas orgânicos, estabelecendo um equilíbrio entre os danos induzidos pelas ERO e os sistemas de reparos antioxidantes (Alessio & Goldfarb, 1988; Powers et al., 1999; Radák et al., 1999; Terblanche, 2000; Carmeli et al., 2000).

1.2.5 Exercício Físico e o Endotélio

Além da estratégia antioxidante como prevenção das doenças cardiovasculares, o exercício físico também desempenha um importante papel na prevenção e no prognóstico dessas doenças. Nos últimos anos, foram descritos inúmeros benefícios do exercício regular para portadores de cardiopatia, além da melhora na capacidade funcional (Araújo et al., 2004).

A realização do exercício constitui um estresse fisiológico para o organismo em função do grande aumento da demanda energética em relação ao repouso, o que provoca grande liberação de calor e intensa modificação do ambiente químico muscular e sistêmico. Conseqüentemente, a exposição regular ao exercício ao longo do tempo

(treinamento físico) promove um conjunto de adaptações morfológicas e funcionais que conferem maior capacidade ao organismo para responder ao estresse do exercício. É importante destacar que os efeitos crônicos do exercício dependem, fundamentalmente, de uma adaptação periférica, que envolve tanto um melhor controle e uma distribuição do fluxo sanguíneo, como adaptações específicas da musculatura esquelética (Diretriz de Reabilitação Cardíaca, 2005).

Grande parte dos pacientes com doença cardiovascular estabelecida refere diminuição da capacidade funcional, a qual se relaciona com redução no VO_2 máx obtido durante realização de teste ergométrico. Nesses pacientes, a capacidade de exercício é determinada pela complexa interação entre os sistemas cardiovascular, respiratório, metabólico e muscular, somada à modulação pelo sistema nervoso autônomo. Dessa forma, qualquer desequilíbrio nessa interação pode diminuir a capacidade funcional do indivíduo (Stone et al., 2001).

O conhecimento que envolve a relação entre exercício físico, prevenção primária e secundária da DAC já vem sendo amplamente discutido, e os resultados de inúmeros estudos mostram o impacto do exercício físico no tratamento dessa doença. Entre muitos estudos pode-se destacar duas meta-análises que confirmaram uma importante redução de 20% a 25% na mortalidade por doenças cardiovasculares em pacientes submetidos à reabilitação cardíaca (Oldridge et al., 1988, O'connor et al., 1989).

Estudos em seres humanos e em animais de laboratório mostram que o *shear stress* (força que o sangue exerce sobre a parede das artérias) induzido pelo exercício físico é um poderoso estímulo para a liberação de fatores vasorrelaxantes produzidos pelo endotélio vascular, como o NO. Ficou demonstrado que o treinamento físico moderado aumenta o relaxamento da musculatura lisa vascular e não vascular e que

esse maior relaxamento seria devido à maior produção de NO pelas células endoteliais em resposta ao exercício físico (Griffin et al.,1999; Goto et al., 2003). Além disso, observou-se que o *shear stress* induzido pelo exercício físico aumenta a expressão da NOS endotelial e neuronal (Roberts et al.,1999).

Assim, durante o exercício físico, ocorre aumento do débito cardíaco e redistribuição do fluxo sanguíneo para musculatura esquelética e circulação coronariana. Esse mecanismo é mediado pela eNOS cuja expressão genética pode ser potencializada com exercícios aeróbios regulares (Shen et al., 1995).

Segundo Taddei (2000), o treinamento físico pode prevenir a disfunção endotelial por meio do reparo da disponibilidade de NO conseqüente à prevenção do estresse oxidativo. Essas evidências sugerem que o exercício físico pode prevenir ou atenuar o declínio na vasodilatação endotélio-dependente.

Dessa forma, os efeitos benéficos da prática de exercício regular sobre as doenças cardiovasculares são associados, principalmente, à maior produção de agentes vasodilatadores derivados do endotélio, com conseqüente redução da resistência vascular periférica, diminuição dos níveis de LDL colesterol e inibição da agregação plaquetária (Kingwell, 2000).

Com relação à circulação coronariana, resultados de estudos recentes têm demonstrado que o treinamento físico provoca melhora expressiva na perfusão miocárdica (Franco e Matos, 2005). Entre os componentes envolvidos pode-se citar:

- 1) A função endotelial: O aumento freqüente da pressão transmural no vaso sanguíneo decorrente do exercício repetido leva à melhora no funcionamento endotelial, facilitando a perfusão miocárdica. Esse mecanismo de vasodilatação, mediado pela ação

endotelial, tem sido apontado como uma das principais adaptações vasculares provocadas pelo treinamento físico (Hambrecht et al., 2000; Griffin et al., 2001).

2) Velocidade de produção e de degradação de óxido nítrico: Na tentativa de compensar a formação de peroxinitrito, as células musculares lisas presentes no vaso produzem uma enzima antioxidativa, a superóxido dismutase (SOD), que bloqueia a ação dos radicais livres, diminuindo dessa forma a degradação do NO. Estudos em animais e em humanos têm mostrado que o treinamento físico aumenta a expressão dessa enzima antioxidativa, assim como a produção e expressão da NOS (Fukai et al., 2000).

Os mecanismos bioquímicos pelos quais esses benefícios se estabelecem ainda não estão completamente claros. Apesar de a melhora da função endotelial ser o fenômeno mais precoce (de quatro a seis semanas) da melhora do fluxo coronariano em indivíduos treinados, é precipitado assegurar que esse seja o único mecanismo envolvido na melhora da perfusão miocárdica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Verificar a resposta oxidativa plasmática de pacientes com DAC após a suplementação de licopeno e programa de exercício físico em diferentes intensidades de esforço.

2.2 Objetivos específicos

- Verificar os efeitos do treinamento aeróbio com diferentes intensidades e da suplementação de licopeno sobre os marcadores de dano oxidativo em pacientes com DAC.
- Verificar a resposta do sistema de defesa antioxidante após suplementação de licopeno e exercício físico em diferentes intensidades em pacientes com DAC.
- Verificar se a suplementação de licopeno apresenta respostas diferenciadas nos sistemas de defesa antioxidante e nos marcadores de estresse oxidativo em pacientes com DAC.

CAPÍTULO I

Lycopene supplementation attenuated oxidative stress in plasma of humans with coronary artery disease after intense exercise.

Artigo submetido ao American Heart Journal

**Lycopene supplementation attenuated oxidative stress in plasma of humans with
coronary artery disease after intense exercise**

Marília Costa de Araujo¹; Fernanda Schuveitzer Soares¹; Merieli Medeiros Ronsani¹;
Luiz Gustavo Costa da Rocha¹; Lilian Cardoso Vieira²; Magnus Benetti PhD²; Ricardo
Aurino de Pinho PhD¹

¹Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do Exercício/PPGCS/UNESC

²Núcleo de Cardiologia e Medicina do Exercício/UDESC

Address:

Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do Exercício/UNESC

Av. Universitária, 1105 – Bairro Universitário

88806-000 - Criciúma – SC – Brazil

E-mail: pinho@unesc.net

Abstract

Background Antioxidants and exercise may prevent atherosclerosis by interfering with endothelial function and oxidative stress. The aim of this study was to investigate the effects of moderate and intense exercise (ME, MI) and lycopene (L) supplementation on endothelial function and oxidative stress biomarkers in patients with coronary artery disease (CAD).

Methods 32 males volunteers with documented CAD were recruited and divided into four groups: ME-Placebo (n=7), ME+L (n=8), IE-Placebo (n=8), IE-L (n=9). Nitrite/nitrate concentrations (NOx), lipoperoxidation (MDA levels), protein carbonylation (PC) and superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activity were assessed.

Results Plasmatic concentration of NOx (NO stable end product) decreased significantly in the ME-P, IE-P and ME-L groups immediately and 72h after the last exercise session and the group ME-L had decreased NOx values immediately after the last exercise session in relation to the corresponding control group. An increase was observed in the IE-L group 72 h after the last exercise session. MDA levels increased significantly only in the IE-P group immediately after the last exercise session and the IE-L group showed significantly decreased MDA level immediately after and 72 h after the last exercise session. The level of protein carbonylation increased only in EI-P group 72h after the last exercise session, while only the group EI-L group presented a significant reduction in relation to the basal and placebo groups during the same period. SOD activity increased significantly in both placebo groups immediately after and 72h after the last exercise session and decreased in the ME-L group 72h after exercise and

immediately after exercise in the IE-L group, both in relation to placebo groups. CAT activity increased in ME-P, IE-P and IE-L groups only 72h after the last exercise session.

Conclusions The results suggested that intense exercise augments plasmatic concentration of NO in patients with CAD supplemented with lycopene and this supplementation is able to decrease oxidative damage in these patients.

Introduction

Coronary artery disease (CAD) is, with others cardiovascular diseases, one of the main causes of morbidity and mortality in the world and its incidence has been increasing lately in developing countries.¹ According to the World Health Organization (WHO), 3.8 million men and 3.4 million women worldwide die each year from CAD.

Recently, oxidative stress induced by reactive oxygen species (ROS) is being considered to play an important role in the pathophysiology of this disease.² Oxidation of the circulating low-density lipoprotein (LDL-ox) is thought to play a key role in the pathogenesis of atherosclerosis and CAD. Macrophages inside the arterial wall take up the LDL (ox) and initiate the process of plaque formation.^{1,3} Increased ROS inactivates the production of nitric oxide (NO), which accelerates the pathological phenomenon named endothelial dysfunction. Alteration in the endothelial function is an initial step in the pathogenesis of atherosclerosis.⁴

Moderate aerobic exercises have been used in cardiac rehabilitation programs to improve the symptoms in patients with CAD⁵ and to promote the development of antioxidant systems.⁶⁻⁸ However, some studies have demonstrated that although intense exercise improves the peripheral endothelial function^{9,10,11} it also increases the

production of ROS.¹² This contradictory effect can be minimized by supplementation with antioxidants.

Nutrition also plays an important role in the development of coronary artery disease. Diets rich in fruit and vegetables containing carotenoids have been of interest because of their potential health benefits against chronic diseases such as cardiovascular diseases (CVD) and cancer.¹³ Lycopene is a bright red carotenoid pigment, a phytochemical found in tomatoes and other red fruit. Lycopene is the most common carotenoid in the human body and is one of the most potent carotenoid antioxidants¹⁴ and has attracted substantial interest for reducing oxidative stress in CVD and other chronic diseases.^{15,16} The protective effect of tomato or lycopene against oxidation has been shown both in human and animal studies. A decreased oxidative modification of LDL may be one of the mechanisms by which lycopene may reduce the risk of CVD and atherosclerotic progression.^{13,17}

Although several authors have suggested that antioxidants supplementation prevents oxidative stress induced by strenuous exercise¹⁸⁻²¹ only few studies have used lycopene supplementation to reduce oxidative effects generated by intense exercise and against CAD.

Thus, the aim of the present study was to investigate the effects of different intensities of exercise and lycopene supplementation on the endothelial function and the oxidative stress biomarkers in patients with CAD.

Methods

Subjects: 32 male volunteers with CAD documented by angiography and with an average age of 55.65 ± 2.27 yr, weight of 77.27 ± 3.95 kg and height of 171.9 ± 2.80 cm

were recruited from Cardiosport, a cardiac rehabilitation clinic, Florianopolis, Santa Catarina, Brazil. The criteria for inclusion in the study required: angiographic evidence with $\geq 50\%$ occlusion of ≥ 1 major coronary artery, nonsmokers for at least six months, not being on antioxidant supplementation, to have participated in physical training (cardiac rehabilitation) for at least six months, to have not participated of any other form of structured exercise for at least six months, recent myocardial infarction and/or revascularization (<6 months prior to inclusion in the study), episode of unstable angina, decompensated heart failure, life-threatening arrhythmias, known symptomatic aortic outflow obstruction, severe hypertension ($>180/100$ mm Hg), treatment with immunosuppressive/anti-inflammatory agents, or any severe disease that might compromise the results or be aggravated by physical exercise. All subjects were informed about the purpose of the study and the associated risks, and all of them gave written informed consent. Approval for this study was obtained from the Ethics Committee of the Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, Santa Catarina, Brazil – protocol number: CAAE – 0025.0.139.000-06/385/2006.

Study Design: This was a single-blind, crossover study. Patients were randomly divided into four groups: Moderate Exercise plus Placebo (ME-P), (n=7), Moderate Exercise plus Lycopene (ME-L), (n=8), Intense Exercise plus placebo (IE-P), (n=8), Intense Exercise plus Lycopene (IE-L), (n=9). Before the training program, patients performed a cardiopulmonary exercise test on a treadmill (model Super ATL, Imbramed, Brazil), with a ramp protocol. Maximum oxygen uptake ($VO_2\max$) was determined by the average respiratory gas exchange ratio by using a computerized system (Cortex Metalyzer II, Biophysik, Leipzig, Germany). The $VO_2\max$ was defined at the end of the exercise until

voluntary cessation or until when the patient was unable to maintain pedaling frequency or presented some clinical symptom. Heart rate was monitored throughout the test using a 12-lead electrocardiogram (Marquette Medical Systems, Inc. CardioSoft, Wisconsin, USA). Blood pressure was measured using a mercury-column sphygmomanometer before the beginning of the test and during the exercise bout. Food intake of the subjects was evaluated by a reminding questionnaire.²² Subjects were instructed to maintain their usual diet throughout the duration of the study, however, with a daily consumption of an average 25 mg lycopene from several sources, monitored by weekly interviews. In particular, the frequency of consumption of fruit and vegetables was checked to verify compliance with what was agreed.

Supplementation: Cereal bars produced by Nutrimental S.A. Indústria e Comércio de Alimentos, Curitiba, Brazil, and enriched with 15 mg of synthetic lycopene obtained from Galena Química e Farmacêutica Ltda, Sao Paulo, Brazil. The placebo bars contained the same ingredients as enriched bars (corn oil, oats, rice crisps, sugar, glucose, maltodextrin), but devoid of lycopene. Patients were instructed to consume one bar per day for five weeks, i.e. throughout the duration of the study.

Exercise protocol: The patients were submitted to a cardiac rehabilitation program at the Cardiosport clinic for five weeks. This period is considered to be sufficient to obtain changes in the endothelial function.^{23,24} The subjects performed the exercise running on a treadmill at moderated intensity (65-70% VO_2 max, groups ME-P and ME-L) and high intensity (80-85% VO_2 max, groups IE-P and IE-L) during 45 min per session, followed by 15 min of stretching, three times a week. These aerobic exercise sessions were

intercalated by resisted exercise sessions, twice a week. Qualified professionals supervised all exercise sessions and cardiac frequency was monitored and assessed by them.

Dietary Assessment: Dietary nutrient intakes were measured by 3-d food records taken during the last supplementation week. The patients reviewed the food records, and the nutrient content was determined with the use of specific software (Diet Analysis Plus ESHA Research, Salem OR).²²

Blood collection: Blood samples were collected from each patient three times: collection 1 (baseline): before supplementation and before exercise sessions; collection 2: after five weeks of supplementation and immediately after the last exercise session; collection 3: 72 h after the last exercise session. Blood was obtained in heparin tubes by venous puncture (antecubital vein). Plasma was obtained by centrifuging blood samples for 10 min at 5000 rpm. The samples were stored at -70°C.

Biochemical Analysis

Plasmatic parameters: plasma glucose, total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, VLDL-cholesterol and triglyceride levels were determined by standard laboratory methods using certified assays in a local clinical laboratory.

Nitrite/Nitrate: This was determined as previously described.²⁵ The reaction was based on the enzymatic reduction of nitrate and nitrite in the presence of vanadium(III) combined with detection by the acidic Griess reaction by ELISA (540nm).

Oxidative Damage: The oxidative damage in lipids and proteins was determined in plasma. As indicator of lipid peroxidation, the formation of substances that react to the heating of thiobarbituric acid (malondialdehyde – MDA) was measured spectrophotometrically (532 nm) and expressed as malondialdehyde equivalents.²⁶ Oxidative damage in proteins was measured by determining the carbonyl grouping based on the reaction with dinitrophenylhydrazine. Carbonyl content was determined spectrophotometrically (370 nm) using a coefficient of 22.000 M.²⁷

Antioxidant Enzymes: Superoxide dismutase (SOD) activity was determined in plasma and assayed by measuring the inhibition of adrenaline autoxidation, as previously described.²⁸ The CAT activity was determined in erythrocytes and measured by the rate of decrease in hydrogen peroxide absorbance at 240 nm.²⁹

Protein Determination: The quantity of proteins in SOD, CAT, TBARS and carbonyl assays was measured using the technique of Lowry.³⁰

Statistical Analysis: Data was expressed as mean±SEM. Statistical analysis was carried out by analysis of variance (ANOVA) followed by appropriate post hoc tests including Tukey's. All analyses were made using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 15.0 for Windows and probability value of less than 0.05 was considered as statistically significant.

Results

Plasmatic parameters: The clinical characteristics of the 32 patients are summarized in Table I. There was no significant difference among the groups in age, height, body mass index, and plasma concentrations of total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides, and glucose.

Dietary Assessment: Dietary intake assessed over a 3-d period show that the supplemented groups had a higher lycopene intake in relation to the placebo groups (Table II).

Nitrate/Nitrite: Plasmatic concentration of NO_x decreased significantly in the ME-P, IE-P and ME-L groups immediately after and 72 h after the last exercise session when compared with baseline. Additionally, only the ME-L group had decreased NO_x values immediately after the last exercise session in relation to the corresponding control group (Figure 1). Furthermore, an increase was observed in the IE-L group 72 h after the last exercise session in relation to the corresponding control.

Oxidative damage: MDA levels increased significantly only in the IE-P group immediately after the last exercise session when compared with baseline. Additionally, the IE-L group showed significantly decreased MDA level immediately after and 72 h after the last exercise session when compared with baseline and the corresponding control (Figure 2). Differently from lipoperoxidation, the level of protein carbonylation increased only in the IE-P group 72 h after the last exercise session, while only the IE-L group presented a significant reduction in relation to the basal and placebo groups during the same period (Figure 3).

Antioxidant Enzymes: Interestingly, in relation to SOD activity, the results show a significant increase in the ME-P and IE-P groups immediately after and 72 h after the last exercise session, a decrease in the ME-L group immediately after and 72 h after

exercise in the IE-L group, both when compared to the placebo groups (Figure 4). CAT activity increased in the ME-P, IE-P and IE-L groups only 72 h after the last exercise session (Figure 5).

Discussion

Impaired endothelium-dependent vasodilation has been linked to the pathogenesis of atherosclerotic vascular diseases and acute cardiovascular events^{5,6,9} and oxidative stress induced by reactive oxygen species seems to play an important role in this vascular impairment and consequently in the etiology of coronary heart disease.^{1,31}

This study supposed that regular exercise and lycopene supplementation could ameliorate endothelial dysfunction and oxidative stress present in CAD.

NO produced in the vascular endothelial cells has a potent vasodilatory effect and has been proposed to have antiatherosclerotic properties. Therefore, altered plasma NO concentrations may have important clinical significance.³² In the present study, plasma NOx (NO stable end product) concentration had decreased significantly after moderate and intense (Figure 1). This is quite an unexpected finding, since it is well known that exercise training is associated with an increase in vascular shear stress resulting from increased flow, which stimulates the release of NO with consequent vasodilation.^{7,9}

These findings suggest that oxidative modifications present in CAD may be a major mechanism capable of justifying the vascular impairment. Besides, there is wide evidence that atherosclerosis represents a state of heightened oxidative stress, which alters the bioavailability of NO leading to an endothelial dysfunction^{1,3,33} that in this study couldn't be reversed by lycopene supplementation and moderate exercise training.

On the other hand, higher NOx concentrations were observed in the IE-L group (Figure 1), a result that is corroborated by literature.^{9,10,11} Matsumoto and colleagues³⁴ reported that the production of NO progressively increases as exercise intensity increases, although some researches suggests that long-term intense (anaerobic) exercise may impair endothelium-dependent vasodilation through decreases in levels of antioxidants and an increase in reactive oxygen species, resulting in a reduction in NO bioavailability.^{35,36}

It has also been pointed out by several research groups that CAD and high-intensity exercise are linked to oxidation damage, significantly increasing lipid peroxidation in plasma and muscle, and significantly decreasing the antioxidants content.^{5,21,37,38} It has also been demonstrated that the intake of lycopene-rich food or lycopene supplementation is able to decrease the formation of lipid peroxidation (MDA).^{15,21,38,39} In our research, MDA plasma levels were significantly higher only in the IE-P group. It is possible that this response is related to the intensity of exercise, and the time of training was not enough to revert those effects.⁴⁰ Additionally, in the IE-L group lycopene supplementation significantly decreased MDA level in plasma. These results show that a lycopene supplement efficiently inhibits lipid peroxidation induced by exhaustive exercise and CAD.

In relation to protein carbonylation, the results were significantly increased in the IE-P group immediately after the last exercise session. These results decreased only in IE-L group 72 hours after the last exercise session when compared with baseline and its respective control group.

The potential protection mechanism of lycopene could be related to protein metabolism. Additionally, the destruction of proteins containing iron could increase the

free iron, favoring the production of free radicals,⁴¹ a fact that can be explained by the activity presented by SOD and CAT. It is possible that the SOD/CAT relationship favors the formation of additional ROS, from the easy interaction with iron.⁴² Duffy and colleagues⁴³ demonstrated that the increased availability of iron present in CAD harms the release of NO and alters the antioxidant defense systems.

In relation to the antioxidant defenses, results showed an increase in SOD activity in the placebo groups immediately after and 72 h after the last exercise session. Results further showed a reduction in the ME-L group 72 h after the last exercise session and in the IE-L group immediately after the last exercise session. The increase in the supplemented groups was an expected result, considering that physical exercise elevates the consumption of oxygen during and after the exercise^{12,35} what suggests a concomitant increase of the production of anion superoxide. The results still show a decrease of SOD activity in both supplemented groups in relation to controls and no alteration in relation to the basal level. It is possible that this result is related to the function of lycopene on the production of anion superoxide.^{38,44}

Except for the IE-L group, results show that only 72 h after the last exercise session there was a significant increase in CAT activity. This does not correspond to what was found for SOD. In the supplemented groups, it is possible that this is due to, in a first place, to the difference in the analyzed material., since SOD was determined in plasma while CAT was determined in erythrocytes. And secondly, the catalysis of hydrogen peroxide might also be being conducted by glutathione peroxidase. The results also show a significant increase in CAT activity 72 h after the last exercise session; this is related to the effects obtained in lipoperoxidation and protein carbonilation.

In conclusion, the observations of the present study show that intense exercise increases plasmatic concentration of NO in patients with CAD supplemented with synthetic lycopene and this supplementation is also able to reduce oxidative damages in patients submitted to high-intensity exercises. These observations support the notion that oxidative modifications may play an essential role in atherosclerosis.

Acknowledgements: the authors thank Nutrimental S.A. Indústria e Comércio de Alimentos and Cardiosport for all support.

References

1. Singh U, Jialal I. Oxidative stress and atherosclerosis. *Pathophysiol* 2006;13: 129-42.
2. Madamanchi NR, et al. Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25: 29-38.
3. Antoniades C, Tousoulis D, Tentolouris C, et al. Oxidative stress, antioxidant vitamins, and atherosclerosis. *Herz* 2003;28: 628-38.
4. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases; the role of oxidative stress. *Circ Res* 2000;87:840-44.
5. Sesso HD, Paffenbarger Jr RS, Lee IM. Physical activity and coronary heart disease in men: the Harvard Alumni Health Study. *Circulation* 2000;102: 975–80.
6. Marsh SA, Coombes JS. Exercise and the endothelial cell. *Int J Cardiol* 2005;99: 165–69.
7. Farsidfard F, Kasikcioglu E, Oflaz H, et al. Effects of different intensities of acute exercise on flow-mediated dilatation in patients with coronary heart disease. *Int J Cardiol* 2007, In press.

8. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Ji LL, Viña J. Exercise as an antioxidant: it up-regulates important enzymes for cell adaptations to exercise. *Science & Sports* 2006;21: 85–89.
9. Goto C, Nakagawa N, Kawamura M. et al. Effect of Different Intensities of Exercise on Endothelium-Dependent Vasodilation in Humans: role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. *Circulation* 2003;108: 530-35.
10. Benetti M, Cascaes H, Carvalho T, et al . The impact of different aerobic exercise intensity on endothelial function in patients post myocardial infarction. *JACC* 2007;49: 30A.
11. Wisløff U; Støylen A; Loennechen JP; et al. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients. A randomized study. *Circulation* 2007; 115: 3086-3094.
12. Clarkson P M, Thompson HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and healthy? *Am J clin Nutr* 2000;72: 637-46.
13. Rissanen T, Voutilainen S, Nyyssonen K, et al. Lycopene, atherosclerosis, and coronary heart disease. *Exp Biol Med* 2002;227: 900-07.
14. Blum A, Monir M, Wirsansky I, Ben-Arzi S. The beneficial effects of tomatoes. *Eur J Intern Med* 2005;16: 402-04.
15. Agarwal S, Rao AV. Tomato lycopene and its role in humam health and chronic diseases. *CMAJ* 2000;19:163-66.
16. Gianetti J, Pedrinelli R, Petrucci R, et al. Inverse association between carotid intima-media thickness and the antioxidant lycopene in atherosclerosis. *Am Heart J* 2002;143:467-74.

17. Heber D, Lu Q. Overview of mechanisms of action of lycopene. *Exp Biol Med* 2002;227: 920-23.
18. Atalay M, Laaksonen DE, Khanna S, et al. Vitamin E regulates changes in tissue antioxidants induced by fish oil and acute exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32:601-07.
19. Mastaloudis A, Morrow JD, Hopkins DW, et al. Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. *Free Radic Biol Med* 2004;36: 1329-341.
20. Aguiar AR Jr, Tuon T, Soares FS, et al. The Effect of n-acetylcysteine and deferoxamine on exercise-induced oxidative damage in striatum and hippocampus of mice. *Neurochem Res.* 2007; Oct 17 (Epub ahead of print)
21. Liu C, Huang C, Lin W, et al. Lycopene supplementation attenuated xanthine oxidase and myeloperoxidase activities in skeletal muscle tissues of rats after exhaustive exercise. *British Journal of Nutrition* 2005;94:595-601.
22. Bollmer RJ, Goldfarb AH, McKenzie MJ, et al. Effects of antioxidant therapy in women exposed to eccentric exercise. *International Journal of Sports Nutrition and Exercise Metabolism.* 2004; 14:377-88.
23. Maiorana A, O'driscoll G, Cheetham C, et al. The effect of combined aerobic and resistance training on vascular function in type 2 diabetes. *J Am Coll Cardiol* 2001;38: 860-66.
24. Desouza CA, Shapiro LF, Clevenger CM, et al. Regular aerobic exercise prevents and restores age-related declines in endothelium-dependent vasodilation in healthy men. *Circulation* 2000;102:1351-357.

25. Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide* 2001; 5: 62-71.
26. Drapper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Meth. Enzymol* 1990;186: 421-31.
27. Levine RL, Garland D, Oliver CN, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Meth. Enzymol* 1990;186:464-78.
28. Bannister JV, Calabrese L. Assay for SOD. *Meth. Biochem* 1987;32: 279-312.
29. Aebi H. Catalase in vitro. *Meth. Enzymol* 1984;105:121-26.
30. Lowry OH, Rosebough NG, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem* 1951;193: 265-75.
31. Kaliora AC, Dedoussis GVZ, Schmidt H. Dietary antioxidants in preventing atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2006;187: 1-17.
32. Maeda S, Otsuki T, Iemitsu M, et al. Effects of leg resistance training on arterial function in older men. *Br J Sports Med* 2006;40: 867–69.
33. Kals J, Kampus P, Kals M, et al. Impact of oxidative stress on arterial elasticity in patients with atherosclerosis. *AJH* 2006;19: 902-08.
34. Matsumoto A, Hirata Y, Momomura S, et al. Increased nitric oxide production during exercise. *Lancet*. 1994;343: 849–50.
35. Davies KJA, Quintanilha AT, Brooks GA, et al. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun* 1982; 107:1198–205.
36. Bergholm R, Makimattila S, Valkonen M, et al. Intense physical training decreases circulating antioxidants and endothelium-dependent vasodilation in vivo. *Atherosclerosis* 1999;145: 341–49.

37. Sanchez-Quesada JL, Ortega H, Payes-romero A, et al. LDL from aerobically-trained subjects shows higher resistance to oxidative modification than LDL from sedentary subjects. *Atherosclerosis* 1997;132: 207-13.
38. Bose KSC, Agrawal BK. Effect of lycopene from cooked tomatoes on serum antioxidant enzymes, lipid peroxidation rate and lipid profile in coronary heart disease. *Singapore Med* 2007;48: 415-20.
39. Visioli F, Riso P, Grande S, et al. Protective activity of tomato products on in vivo markers of lipid oxidation. *Eur J Nutr* 2003; 42: 201-06.
40. Pinho RA, Chiesa D, Mezzomo KM, et al. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease patients submitted to a rehabilitation program. *Respir Med* 2007;101:1830-5.
41. Jackson MJ. Exercise and oxygen radical production by muscle. In: Sen CK, Packer L, Hanninen L, editors. *Handbook of oxidants and antioxidants.*: Amsterdam: Elsevier Science; 2000. p. 57-68.
42. Pinho RA, Andrades ME, Oliveira MR, Pirola AC, et al. Imbalance in SOD/CAT activities in rat skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. *Cell Biol Int* 2006;30:848-53.
43. Duffy SJ, Biegelsen ES, Holbrook M, Russell JD, et al. Iron Chelation Improves Endothelial Function in Patients With Coronary Artery Disease. *Circulation* 2001;103: 2799-804.
44. Halliwell B; Gutteridge JMC. *Free Radical in Biology and Medicine.* Oxford: University Press; 2007.

Table I: Anthropometrics characteristics and lipid profile.

Groups	Age (Years)	BM (kg)	Height (cm)	BMI (Kg/m ²)	TC (mg/dL)		HDL (mg/dL)		LDL (mg/dL)		VLDL (mgdL)		TG (mg/dL)	
					Before	After	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
EM-Placebo	55.5 (4.13)	85 (5.44)	173.7 (2.83)	28.29 (2.35)	183.33 (22.26)	168.67 (24.86)	58.33 (6.74)	53.00 (4.04)	126.00 (4.90)	110.00 (16.33)	35.00 (6,50)	22.67 (11.46)	178.33 (12.85)	136.67 (16.68)
EM-Lycopene	55.17 (1.60)	72.71 (2.66)	172.0 (2.02)	24.53 (0.55)	140.33 (6.05)	165.67 (11.15)	55.67 (1.75)	59.00 (2.93)	78.67 (5.62)	91.33 (9.29)	16.67 (1,31)	16.67 (2.80)	83.67 (6.67)	85.67 (14.22)
EI - Placebo	56.60 (1.9)	73.87 (4.3)	170 (3.7)	25.22 (1.06)	155.32 (5.98)	161.88 (4.21)	49.99 (3.78)	51.39 (2.88)	101.87 (4.71)	97.39 (7.44)	28.23 (4,99)	24.24 (3.93)	159.26 (8.07)	145.09 (18.67)
EI-Lycopene	55.33 (1.44)	77.51 (3.38)	171.9 (2.62)	26.20 (0.95)	149.67 (1,37)	155.50 (8.40)	42.67 (3.14)	38.00 (4.55)	89.67 (1.03)	92.00 (6.66)	34.33 (6.10)	30.00 (6.51)	173,00 (31.55)	152.50 (32.99)

Note: Values are expressed as mean (SEM). BM: body mass; BMI: body mass index; TC: total cholesterol; HDL: high density lipoprotein; LDL: low density lipoprotein; VLDL: very low density lipoprotein; TG: triglycerides.

Table II: Mean dietary intake assessed over 3 days for patients with CAD provided lycopene supplement.

Group	Kcal	Protein (%)	Carbohydrate (%)	Fat (%)	Vitamin C (mg)	Lycopene (mg)
Supplemented groups	2311.56 ±101.71	18.03 ±0.61	53.95 ±1.39	28.00 ±1.59	225.23 ±40.90	27.58* ±1.86
Placebo groups	2027.39 ±245.10	15.05 ±0.87	59.21 ±2.14	25.75 ±1.90	292.76 ±58.51	8.32 ±1.27

Note: Values are expressed as mean±SEM and the significant difference (*) used was from $p < 0.05$.

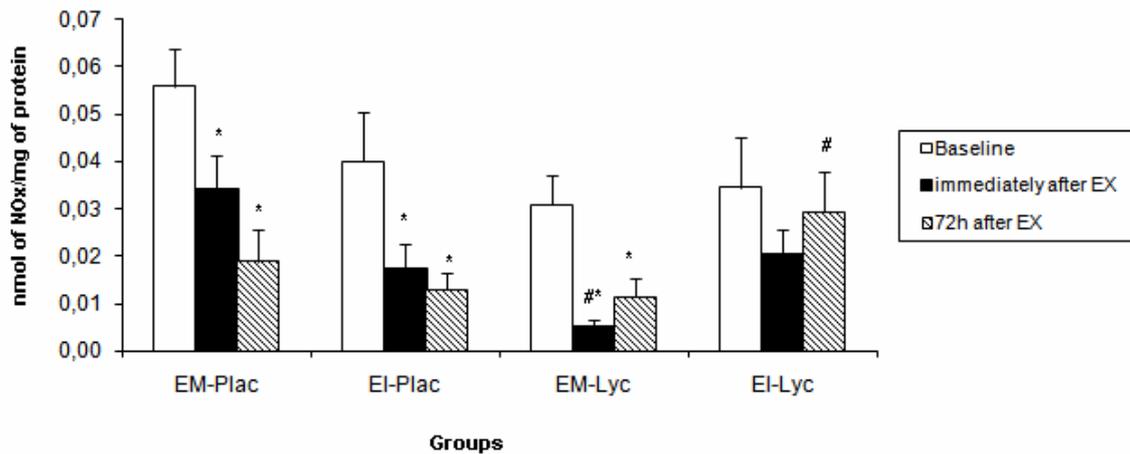


Figure 1: Effects of lycopene supplementation and different intensities of exercise training on plasma nitrite/nitrate concentration of patients with CAD. Values are expressed as mean±SEM and the results expressed in nmol of NOx/mg of proteins. The significant difference used in relation to respect control group (#) and in relation to baseline (*) was from $p < 0.05$.

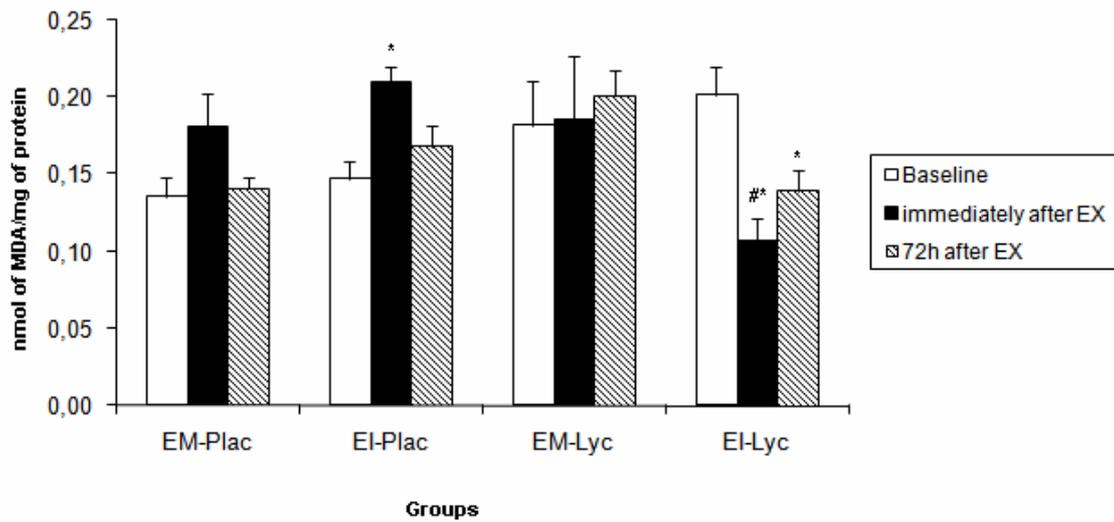


Figure 2: Effects of lycopene supplementation and different intensities of exercise training on lipoperoxidation levels of patients with CAD. Values are expressed as mean \pm SEM and the results expressed in nmol of MDA/mg of protein. The significant difference used in relation to respect control group (#) and in relation to baseline (*) was from $p < 0.05$.

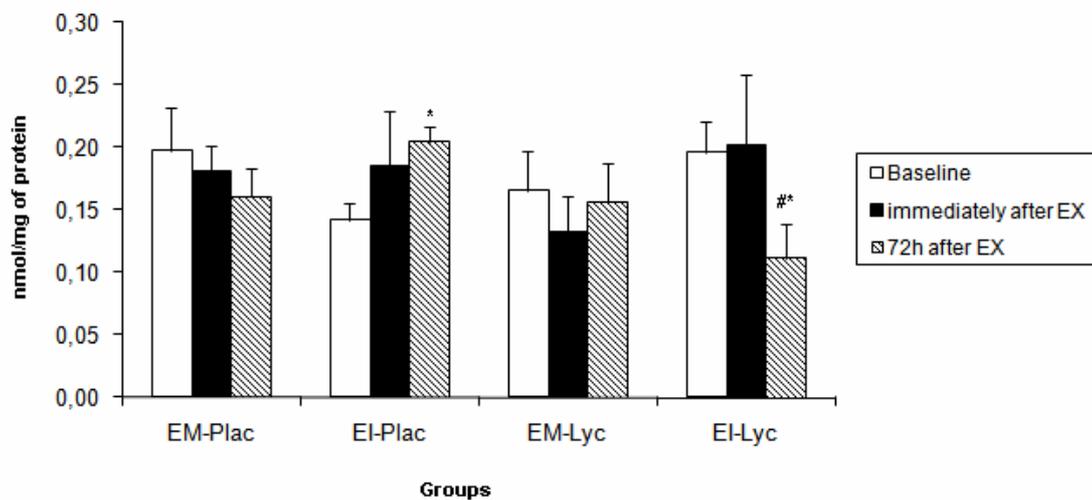


Figure 3: Effects of lycopene supplementation and different intensities of exercise training on carbonylation levels of patients with CAD. Values are expressed as mean \pm SEM and the results expressed in nmol/mg of protein. The significant difference used in relation to respect control group (#) and in relation to baseline (*) was from $p < 0.05$.

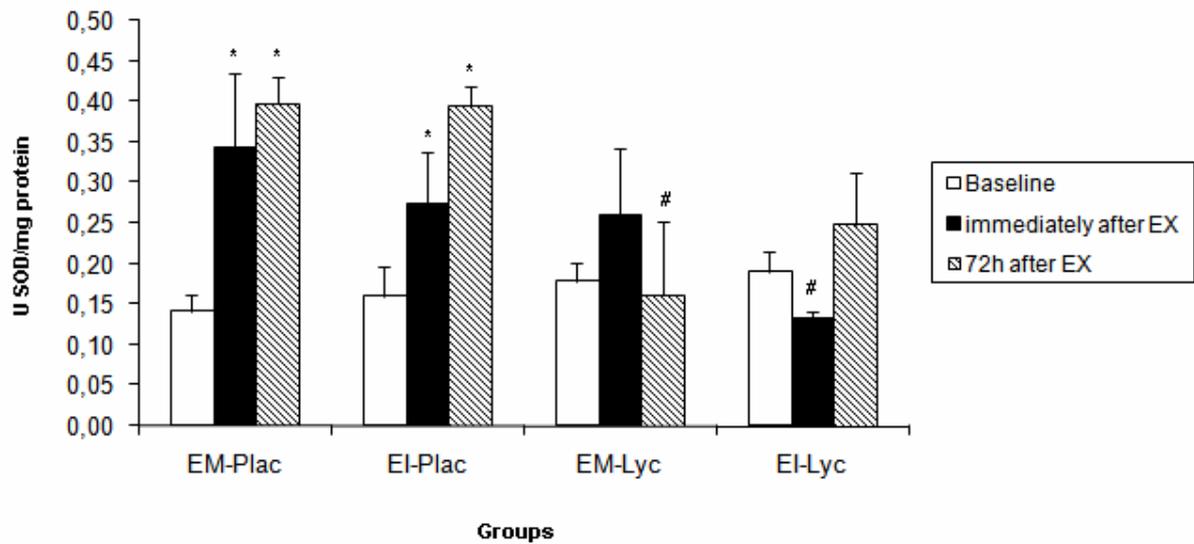


Figure 4: Effects of lycopene supplementation and different intensities of exercise training on SOD activity of patients with CAD. Values are expressed as mean \pm SEM and the results expressed in U SOD/mg protein. The significant difference used in relation to respect control group (#) and in relation to baseline (*) was from $p < 0.05$.

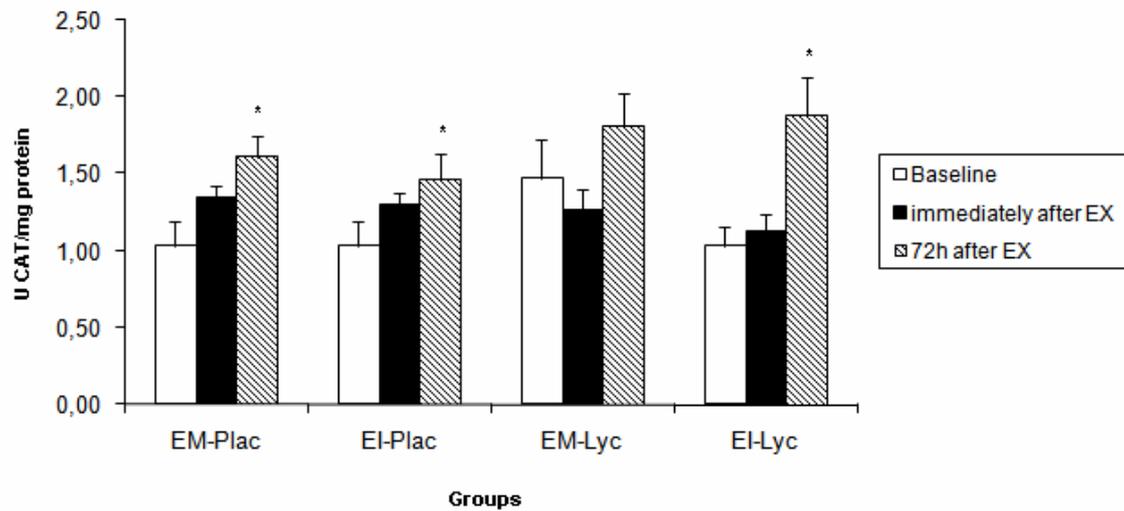


Figure 5: Effects of lycopene supplementation and different intensities of exercise training on CAT activity of patients with CAD. Values are expressed as mean \pm SEM and the results expressed in U CAT/mg protein. The significant difference used in relation to respect control group (#) and in relation to baseline (*) was from $p < 0.05$.

3 DISCUSSÃO

Os objetivos desta dissertação foram pautados na possível relação entre o exercício regular e a suplementação de licopeno sobre alterações nos parâmetros de dano oxidativo e produção de NO de pacientes portadores de doença arterial coronariana. Para tanto, partiu-se das seguintes evidências científicas descritas na literatura:

a) O exercício regular melhora a disfunção endotelial presente na DAC. Já é bem postulado que o exercício físico focado na reabilitação cardíaca melhora a capacidade e tolerância ao exercício e os sintomas de pacientes com DAC (Sesso et al., 2000). O aumento do *shear stress* (força que o sangue exerce sobre a parede das artérias, também denominada força de cisalhamento) provocado pelo treinamento físico regular tem sido apontado como o principal responsável pela melhora da disfunção endotelial verificada nesses pacientes (Marshe & Coombes, 2005; Farsidfar et al., 2006; Gomez-Cabrera et al., 2006). Estudos demonstraram que o treinamento físico moderado aumenta o relaxamento da musculatura lisa vascular e não vascular e que esse maior relaxamento seria devido à maior produção de NO pelas células endoteliais em resposta ao exercício físico (Griffin et al., 1999; Goto et al., 2003). Além disso, observou-se que o *shear stress* induzido pelo exercício físico aumenta a expressão da NOS endotelial e neuronal (Roberts et al., 1999) e da enzima antioxidativa SOD (Fukai et al., 2000).

b) Exercícios intensos estão associados com uma resposta mais rápida na função endotelial, porém o aumento da intensidade de esforço é acompanhado por um aumento na produção de ERO e conseqüente dano oxidativo. Em estudo realizado por Matsumoto et al. (1994) foi demonstrado que a produção de NO

aumentava progressivamente à medida que a intensidade do exercício aumentava, dado que corrobora com os resultados encontrados por Goto et al. (2003), Benetti et al. (2007) e Wisløff et al. (2007). Entretanto, estudos mostram que o aumento no consumo de oxigênio provocado por exercícios, principalmente os intensos, está associado com o concomitante aumento na formação de RL, fato que parece estar relacionado com o prejuízo na vasodilatação endotélio dependente em virtude da diminuição nos níveis de antioxidantes e do aumento de ERO, resultando na redução da biodisponibilidade de NO. (Davies et al., 1982, Bergholm et al., 1999; Clarkson & Thompson, 2000). Porém é importante ressaltar que estudos têm demonstrado que o treinamento de *endurance* aumenta as defesas antioxidantes, assim como a capacidade oxidativa do músculo, equilibrando desta forma o aumento na produção de ERO pelo aumento no consumo de oxigênio (Alessio & Goldfarb, 1988; Radák et al., 1999; Terblanche, 2000).

c) A suplementação de licopeno pode melhorar os parâmetros de dano oxidativo induzidos pela DAC e exercícios intensos. O licopeno tem atraído bastante interesse devido a suas propriedades antioxidantes e seu efeito benéfico na redução do estresse oxidativo originado por doenças cardiovasculares (Lee et. al., 2006; Sahin et al., 2006, Ahuja et. al, 2006; Agarwal & Rao, 2000). A redução da oxidação da molécula de LDL por ERO parece ser um dos mecanismos pelos quais o licopeno poderia estar reduzindo os risco de DAC e a progressão da aterosclerose (Rissanen et al., 2002; Herber & Lu, 2002). Além disso, é tido como o carotenóide que possui a maior capacidade de atuar como “scavenger” do $^1\text{O}_2$, possivelmente devido à presença das duas ligações duplas não conjugadas, o que lhe oferece maior reatividade (Lee et al., 2006; Sahin et al., 2006; Ahuja et al., 2006). A suplementação de licopeno também tem sido associada com a redução da peroxidação lipídica e

inibição da redução de níveis de GSH em humanos e ratos submetidos a exercícios intensos (Liu et al., 2005).

Com base nessas evidências, hipotetizou-se que a suplementação de licopeno poderia reverter o estresse oxidativo induzido pelo exercício intenso, e que, portanto, melhoraria a disfunção endotelial presente na DAC pelo aumento da biodisponibilidade de NO.

O NO é um gás incolor e estável, moderadamente solúvel em água e sua meia vida varia de 3 a 60 segundos, mas pode ser maior devido ao ambiente do NO, concentração de O^2 e $O^2\bullet-$ (Wennmalm, 1994). Possui um elétron não pareado e reage facilmente com oxigênio O^2 , $O^2\bullet-$, ou metais de transição, como ferro, cobalto, manganês ou cobre. O NO tem alta afinidade com o heme, encontrado em proteínas intracelulares (NOS, cicloxigenase e guanilato ciclase) e também liga-se a grupos -SH, formando tiol (Kingwell, 2000).

Como já comentando neste trabalho, o NO produzido pelas células endoteliais vasculares possui um poderoso efeito vasodilatador e devido a este fato tem sido proposto que o mesmo possua propriedades antiateroscleróticas. Desta forma, alterações nas concentrações plasmáticas de NO possuem importante significância clínica (Maeda et al., 2006). Os resultados encontrados neste estudo mostram inicialmente uma redução nos níveis de NOx (produto estável final de NO oxidado) após o exercício moderado e intenso nos grupos controle, e o mesmo comportamento foi encontrado no grupo suplementado submetido ao exercício moderado. Apesar de não ser um resultado esperado, esse prejuízo na função vascular pode ser explicado pela forte modificação oxidativa a que pacientes com DAC estão submetidos (Antoniades et al., 2003; Kals et al., 2006; Singh & Jialal,

2006), e essa alteração na produção de NO não poder ser revertida pelo exercício moderado ou pela suplementação de licopeno.

Por outro lado, no grupo suplementado submetido ao exercício foram encontradas concentrações significativamente elevadas de NOx, resultado corroborado pela literatura que postula o aumento na biodisponibilidade de NO com o aumento da intensidade de esforço (Matsumoto et al., 1994; Goto et al., 2003; Benetti, et al., 2007; Wisløff et al., 2007). Nesse caso, a suplementação de licopeno se mostrou eficaz, revertendo a produção de RL induzida pelo exercício intenso e DAC.

Com relação aos marcadores de dano oxidativo, o presente estudo teve-se ao dano a lipídeos e proteínas. O processo de oxidação resultante do ataque de RL sobre ácidos graxos poliinsaturados presente nas membranas celulares e lipoproteínas chama-se lipoperoxidação. Durante a lipoperoxidação, intermediários podem sofrer quebras gerando hidrocarbonetos de cadeia curta (etano, pentano), aldeídos (como o malonaldeído, 4-hidroxinonenal), epóxidos e outros produtos altamente citotóxicos. Como resultado da lipoperoxidação as membranas sofrem alterações na fluidez e na permeabilidade, resultando em perda na homeostase e morte celular (Matsuo & Kaneko, 2001).

Segundo Halliwell & Gutteridge (2007) a lipoperoxidação consiste em três fases: iniciação, propagação e término. Na fase de iniciação (1), o radical RL remove hidrogênio do ácido graxo insaturado produzindo um radical de lipídeo ($\bullet L$), que ao reagir com o oxigênio molecular forma o radical peroxila ($LOO\bullet$). Na propagação (2) o $LOO\bullet$ retira hidrogênio de outro lipídeo, formando o hidroperóxido de lipídeo ($LOOH$) e $\bullet L$ e assim sucessivamente. Na fase terminal (3), os radicais produzidos

se combinam formando um não-radical. O LOOH pode sofrer outras reações produzindo aldeídos e alcanos.

No presente estudo foi observado inicialmente que somente o grupo submetido ao treinamento intenso e não suplementado aumentou significativamente os níveis de lipoperoxidação imediatamente após a última sessão de exercício físico. Esse resultado parece contraditório em relação a diversos estudos que mostram uma redução dos níveis de lipoperoxidação após a um programa de treinamento físico (Pinho et al., 2007). Entretanto, essa diferença nos resultados se deve principalmente à intensidade do treinamento e ao fato de que o tempo de cinco semanas não foi suficiente para provocar alterações significativas nos níveis de lipoperoxidação, conforme previsto nos referidos estudos. Esse fato é confirmado diante do resultado apresentando pelo grupo placebo submetido ao exercício moderado, no qual nenhuma diferença significativa foi encontrada, indicando o efeito protetor no treinamento, visto que nesse grupo os pacientes já vinham se exercitando por seis meses.

Adicionalmente, a suplementação de licopeno diminuiu os níveis de lipoperoxidação e carbonilação de proteínas no grupo suplementado submetido ao exercício intenso, induzidos pelo exercício intenso e DAC. Diversos estudos têm demonstrado que o consumo de produtos ricos em licopeno ou a sua suplementação é capaz de diminuir os níveis de lipoperoxidação (Agarwal & Rao, 2000; Visioli et al., 2003; Liu et al., 2005; Bose & Agrawal, 2007). Isso se justifica, uma vez que seu depósito nas camadas das membranas celulares é facilitado por ser uma molécula lipossolúvel e a sua facilidade de doar elétrons aos peróxidos e hidroperóxidos faz com que o licopeno tenha alta afinidade na proteção dos lipídeos de membrana contra a ação dos RL (Rao & Agarwal, 1998; Bose & Agrawal, 2007). Nesta

situação, portanto, o licopeno reduziu as taxas de lipoperoxidação atuando como uma boa cadeia de quebra antioxidante, a qual reage com os radicais peróxil formados na fase de propagação da peroxidação lipídica para formar radicais carbonocentrados, os quais reagem rapidamente e reversivelmente com o oxigênio para formar uma nova cadeia carreadora de radicais peróxil, os quais são formas altamente estáveis quando comparadas às ERO (Bose & Agrawal, 2007).

As proteínas também são alvos de ataque dos radicais livres. A oxidação dos aminoácidos resulta na formação de grupos carbonil, tióis oxidados, entre outras modificações que alteram a função normal da proteína. Especificamente, os grupos carbonil são formados principalmente a partir da oxidação de alguns aminoácidos mediados por ERO, como lisina, argenina, prolina e treonina. Porém, reações secundárias de cadeias laterais de alguns aminoácidos (cisteína, lisina e histidina) com sub-produtos da lipoperoxidação e da oxidação de carboidratos, também foram grupos carbonil (Dalle-Donne, 2003).

Está bem estabelecido que a oxidação de proteínas depende dos níveis de proteossomas intracelulares. De acordo com Davies e Dhringarpure (2006), os danos em proteínas mediados por radicais livres e o acúmulo de proteínas oxidadas levam a um concomitante aumento na oxidação de proteínas reduzindo a degradação de proteínas oxidadas. Proteases intracelulares são responsáveis por 70% a 80% da degradação de proteínas após a oxidação e esse mecanismo é essencial para os sistemas de reparo e antioxidantes. Assim, o proteossoma constitui uma parte importante do sistema de defesa antioxidante.

Quanto à diminuição dos níveis de carbonilação de proteínas apresentados neste estudo, o possível mecanismo de proteção do licopeno pode estar relacionado com o metabolismo protéico, uma vez que a degradação protéica durante o

exercício e nos dias seguintes torna-se necessária para a produção de novas fibras musculares (Meydani et al., 1997).

Adicionalmente, a destruição de proteínas que contêm ferro pode levar a um aumento no ferro livre, o que favorece a produção de RL (Jackson, 2000), fato que pode ser explicado pela atividade apresentada pela SOD e CAT. É possível que essa relação SOD/CAT possa favorecer a formação de ERO adicionais a partir da fácil interação com o ferro (Pinho et al., 2006). Em estudo realizado por Duffy et al. (2001) ficou demonstrado que o aumento da disponibilidade de ferro, presente na DAC, prejudica a ativação de NO e altera os sistemas de defesa antioxidante.

Em relação às defesas antioxidantes, os resultados mostram um aumento na atividade da SOD imediatamente e 72h após a última sessão de exercício nos grupos placebo. E, ainda, uma redução no grupo suplementado submetido ao exercício moderado 72h após a sessão de exercício e no grupo suplementado submetido ao exercício intenso imediatamente após a última sessão. A SOD é a primeira enzima na linha de defesa contra a formação de RL catalisando a dismutação do $O_2^{\bullet-}$ em H_2O_2 (Halliwell & Gutteridge, 2007). O aumento nos grupos não suplementados é um resultado esperado, haja vista que o exercício físico eleva o consumo de oxigênio durante e após o exercício (Davies et al., 1982; Clarkson & Thompson, 2000), o que sugere um aumento concomitante da produção de $O_2^{\bullet-}$. Os resultados ainda mostram uma diminuição da atividade da SOD em relação aos respectivos controles e a não alteração quanto ao nível basal, em ambos os grupos suplementados com licopeno. É possível que esse resultado esteja relacionado com a função do licopeno sobre a produção de $O_2^{\bullet-}$ (Bose & Agrawal, 2007; Halliwell & Gutteridge, 2007).

A CAT é uma enzima que catalisa a degradação do H_2O_2 formando oxigênio e água (Halliwell & Gutteridge, 2007). Sua atividade é importante, pois o H_2O_2 na presença de Fe^{+2} , forma $OH\bullet$, o qual é altamente reativo e danoso às biomoléculas. Os resultados dos grupos suplementados foram praticamente similares aos grupos placebos, ou seja, somente 72h após a última sessão de exercício houve aumento significativo na atividade da CAT, exceto o grupo suplementado e submetido ao exercício moderado. Esses resultados não correspondem àqueles observados na SOD. É possível que isso decorra a um fator ou a soma dos seguintes fatores, especificamente para os grupos não suplementados. Primeiro, a diferença no material analisado. A SOD foi determinada em plasma enquanto que a CAT foi determinada em eritrócito. Segundo, a catálise do H_2O_2 pode estar sendo feita também pela GPX. Entretanto, cabe destacar o resultado obtido no grupo suplementado com licopeno que realizou exercício intenso. Os resultados mostram um significativo aumento na atividade 72h após a última sessão de exercício, o que se relaciona com os efeitos obtidos na lipoperoxidação e carbonilação de proteínas.

Em conclusão, as observações do presente estudo mostram que o exercício intenso aumenta as concentrações plasmáticas de NO em pacientes com DAC suplementados com licopeno e que essa suplementação foi capaz de reduzir níveis de peroxidação lipídica e carbonilação de proteínas nesses pacientes submetidos a exercícios intensos. Esses resultados reafirmam o papel que o estresse oxidativo ocupa na etiogênese da aterosclerose. Até o momento, nenhum estudo mostra que o exercício intenso seja prejudicial para portadores de doenças cardiovasculares. Além disso, ainda não está claro se o exercício moderado de longa duração, por sua vez, reduz eventos cardíacos e qual dose e formulação de licopeno seria completamente eficaz na prevenção da DAC. Diante do exposto, percebe-se que

novos estudos são necessários a fim de elucidar os efeitos de diferentes intensidades de exercício e suplementação de antioxidantes sobre as doenças cardiovasculares.

4 CONCLUSÕES

Considerando-se os objetivos iniciais deste estudo, chegou-se às seguintes conclusões:

- 1) O exercício intenso e a suplementação de licopeno atuam sobre a produção de NO de pacientes com DAC.
- 2) A suplementação de licopeno atua de diferentes formas sobre a peroxidação lipídica e carbonilação de proteínas de pacientes com DAC submetidos a exercícios intensos.
- 3) A suplementação de licopeno e o exercício intenso apresentam respostas diferenciadas nos sistemas de defesa antioxidante e nos marcadores de danos oxidativos em pacientes com DAC.
- 4) A suplementação de licopeno diminui os efeitos oxidativos gerados pelo exercício físico intenso.

5 PERSPECTIVAS

Embora os resultados sugiram um efeito positivo na associação da suplementação de licopeno e exercício intenso no tratamento da DAC, pretende-se ainda:

- 1) Verificar os efeitos do treinamento aeróbio com diferentes intensidades e da suplementação de licopeno sobre os marcadores inflamatórios de pacientes com DAC.
- 2) Analisar outras variáveis relacionadas ao estresse oxidativo, como a atividade da GPX e de seu substrato, GSH, e a expressão da SOD e CAT.
- 3) Dosar o licopeno plasmático dos respectivos grupos amostrais deste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL S, RAO AV. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. **Canadian Medical Association Journal** 19:163-166. 2000.

AHUJA KDK; PITTAWAY JK; BALL MJ. Effects of olive oil and tomato lycopene combination on serum lycopene, lipid profile, and lipid oxidation. **Nutrition** 22: 259-65. 2006.

ALESSIO HM; GOLDFARB AH. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptative response to training. **Journal of Applied Physiology** 64: 1333-1336. 1988.

ANTONIADES C; TOUSOULIS D; TENTOLOURIS C; TOUTOUZAS P; STEFANADIS C. Oxidative stress, antioxidant vitamins, and atherosclerosis. **Herz** 28: 628-38. 2003.

ARAÚJO CGS; CARVALHO T; CASTRO CLB; COSTA RV; MORAES RS; OLIVEIRA JAF; GUIMARÃES JI. Normatização dos equipamentos e técnicas da reabilitação cardiovascular supervisionada. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia** 83: 448-52. 2004.

BARREIROS ALS; DAVID JM. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova** 29 (1): 113-123. 2006.

BECKMAN J; BECKMAN TW; CHEN J; MARSHALL PA; FREEMAN BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA** 87: 1620-1624. 1990.

BENETTI M; CASCAES H; CARVALHO T. The impact of different aerobic exercise intensity on endothelial function in patients post myocardial infarction. **Journal of American College Cardiology** 49: 330A. 2007.

BERGHOLM R; MAKIMATTILA S; VALKONEN M; LIU M; LAHDENPERÄ S; TASKINEN M; SOVIJÄRVI A; MALMBERG P; YKI-JÄRVINEN H. Intense physical training decreases circulating antioxidants and endothelium-dependent vasodilatation in vivo. **Atherosclerosis** 145: 341–349. 1999.

BOSE KSC; AGRAWAL BK. Effect of lycopene from cooked tomatoes on serum antioxidant enzymes, lipid peroxidation rate and lipid profile in coronary heart disease. **Singapore Medical Journal** 48: 415-420. 2007.

BRAMLEY PM. Is lycopene beneficial to human health? **Phytochemistry** 54: 233-236. 2000.

CARMELI E; LAVIAM G; REZNICK A.Z. The role of antioxidant nutrition in exercise and aging. In: Radák Z, editor. **Free radicals in exercise and aging**. Champaign: Human Kinetics, pp. 73-115. 2000.

CHANCE B; SIES CH; BOVERIS A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. **Physiology** 59: 527-605.1979.

CHEVION S; MORAN DS; HELED Y; SHANI Y; REGEV G; ABBOU B; BERENSHTEIN E; STADTMAN ER; EPSTEIN Y. Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA** 100: 5119-5123. 2003.

CLARKSON PM; THOMPSON HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and healthy? **American Journal of Clinical Nutrition** 72: 637-646. 2000.

DALLE-DONNE I; GIUSTARINI D; COLOMBO R; ROSSI R; MILZANI A. Protein carbonylation in human Diseases. **Trends in Molecular Medicine** 9(4): 169-76. 2003

DAVIES KJA; DHRINGARPURE R. Preferential degradation of oxidized proteins by the 20S proteasome may be inhibited in aging and inflammatory neuromuscular diseases. **Neurology** 66: 93-96. 2006.

DAVIES KJA; QUINTANILHA AT; BROOKS GA; PACKER L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. **Biochemical and Biophysical Research Communications** 107:1198–1205. 1982.

DAVIES MJ. Going from immutable to mutable atherosclerotic plaques. **American Journal of Cardiology** 88:2-9. 2001.

DE MEYER G; HERMAN AG. Vascular endothelial dysfunction. **Progress in Cardiovascular Diseases** 39:325-342. 1997.

DIRETRIZ DE REABILITAÇÃO CARDÍACA. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia** 84: 431-440. 2005.

DUFFY SJ; BIEGELSEN ES; HOLBROOK M; RUSSELL JD; GOKCE N; KEANEY JF Jr; VITA JA. Iron Chelation Improves Endothelial Function in Patients With Coronary Artery Disease. **Circulation** 103: 2799-2804. 2001.

FARSIDFAR F; KASIKCIOGLU E; OFLAZ H; KASIKCIOGLU D; MERIC M; UMMAN S. Effects of different intensities of acute exercise on flow-mediated dilatation in patients with coronary heart disease. **International Journal of Cardiology** Mar 16 (Epub ahead of print). 2007.

FLOHÉ L; GUNZLER W. Assay of glutathione peroxidase. **Methods in Enzymology** 105: 114-21. 1984.

FRANCO FGM; MATOS LDNJ. Exercício físico e perfusão miocárdica. In: **Cardiologia do exercício: do atleta ao cardiopata** (Negrão CE; Barreto AC). Manole: São Paulo pp. 179- 259. 2005.

FUKAI T; SIEGFRIED MR; USHIO-FUKAI M; CHENG Y; KOJDA G; HARRISON DG. Regulation of the vascular extracellular superoxide dismutase by nitric oxide and exercise training. **Journal of Clinical Investigation** 105: 1631-1639. 2000.

GIOVANNUCCI E. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiologic literature. **Journal of the National Cancer Institute** 91(4): 317-33. 1999.

GOMEZ-CABRERA MC; DOMENECH E; JI LL; VIÑA J. Exercise as an antioxidant: it up-regulates important enzymes for cell adaptations to exercise. **Science & Sports** 21: 85–89. 2006.

GOTO C; HIGASHI Y; KIMURA M; NOMA K; HARA K; NAKAGAWA K; KAWAMURA M; CHAYAMA K; YOSHIZUMI M; NARA. I. Effect of Different Intensities of Exercise on Endothelium-Dependent Vasodilatation in Humans: role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. **Circulation** 108: 530-535. 2003.

GRIFFIN KL; WOODMAN CR; PRICE EM; LAUGHLIN MH; PARKER JL. Endothelium-mediated relaxation of porcine collateral-dependent arterioles is improved by exercise training. **Circulation** 104: 1393-1398. 2001.

GRIFFIN KL; LAUGHLIN MH; PARKER JL. Exercise training improves endothelium mediated vasorelaxation after chronic coronary occlusion. **Journal of Applied Physiology** 87: 1948-56. 1999.

HALLIWELL B; GUTTERIDGE JMC. **Free Radical in Biology and Medicine.** University Press, Oxford, NY. 2007.

HAMBRECHT R; WOLF A; GIELEN S; LINKE A; HOFER J; ERBS S; SCHOENE N; SCHULER G. Effect of exercise on coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. **New England Journal of Medicine** 342: 454-460. 2000.

HASNAIN BI; MOORADIAN AD. Recent trials of antioxidant therapy: what should we be telling our patients. **Cleveland Clinic Journal of Medicine** 71: 327-34. 2004.

HEBER D; LU Q. Overview of mechanisms of action of lycopene. **Experimental Biology and Medicine** 227: 920-923. 2002.

HERMANN J; LERMAN A. The endothelium: dysfunction and beyond. **Journal of Nuclear Cardiology** 8: 197-206. 2001.

HOBBS AJ; MONCADA S. Antiplatelet properties of a novel, non-NO-based soluble guanylate cyclase activator. **Vascular Pharmacology**. 40: 149-54. 2003.

HOLLANDER J; BEJMA J; OOKAWARA T; OHNO H; JI LL. Superoxide dismutase gene expression in skeletal muscle: fiber-specific effect of age. **Mechanisms of ageing and development** 116: 33-45. 2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Síntese de Indicadores Sociais 2002**. Síntese de Indicadores Sociais confirma as desigualdades da sociedade brasileira. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: abril de 2006.

JACKSON MJ. Exercise and oxygen radical production by muscle. In: SEN CK; PACKER L; HANNINEN L; editors. **Handbook of oxidants and antioxidants**. Elsevier Science: Amsterdam pp. 57-68, 2000.

JI LL. Aging and acute exercise enhance free radical generation in rat skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology** 87: 465-470. 1999.

JOHNSTONE MH; CREAGER SJ; SCALES KM; CUSCO JA; LEE BK; CREAGER BK. Impaired endothelium-dependent vasodilatation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. **Circulation** 88: 2510-2516.1999.

KALS J; KAMPUS P; KALS M; ZILMER K; KULLISAAR T; TEESALU R; PULGES A; ZILMER M. Impact of oxidative stress on arterial elasticity in patients with atherosclerosis. **American Journal of hypertension** 19: 902-908. 2006.

KINGWELL BA. Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disease. **Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology** 14: 1685-96. 2000.

KÖNIG D; BERG A. Exercise and oxidative stress: is there a need for additional antioxidants. **Österreichisches Journal für Sportmedizin** 3. 2002.

LAUGHLIN MH; OLTMAN CL; BOWLES DK. Exercise training-induced adaptations in the coronary circulation. **Medicine & Science in Sports & Exercise** 30: 352-360. 1998.

LEE DK; GRANTHAM RN; MANNION JD; TRACHTE AL. Carotenoids enhance phosphorylation of Akt and suppress tissue factor activity in human endothelial cells. **Journal of Nutritional Biochemistry**. 01. 006. 2006.

LERMAN A; WEBSTER MWI; CHESEBRO JH; EDWARDS WD; WEI CM; FUSTER V; BURNETT JR JC. Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in hypercholesterolemic pigs. **Circulation** 88: 2923-2928. 1993.

LIU C; CHICHANG H; WANTENG L; CHINCHENG H; SHIH YI H; LIN SJ; SUHCHING Y. Lycopene supplementation attenuated xanthine oxidase and myeloperoxidase activities in skeletal muscle tissues of rats after exhaustive exercise. **British Journal of Nutrition** 94:595-601. 2005.

LORGERIL M; SALEN P; ACCOMINOTTI M. Dietary and blood antioxidants in patients with chronic heart failure. Insights into potential importance of selenium in heart failure. **European Journal of Heart Failure** 3:661-669. 2001.

[LUDMER PL](#); [SELWYN AP](#); [SHOOK TL](#); [WAYNE RR](#); [MUDGE GH](#); [ALEXANDER RW](#); [GANZ P](#). Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary segments. **New England Journal of Medicine** 315: 1046-1051. 1986.

MacNEE W; RAHMAN I. Is oxidative stress central the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease? **Trends in Molecular Medicine** 7: 55-62. 2001.

MAEDA S; OTSUKI T; LEMITSU M; KAMIOKA M; SUGAWARA J; KUNO S; AJISAKA R; TANAKA H. Effects of leg resistance training on arterial function in older men. **British Journal of Sports Medicine** 40: 867–69. 2006.

MARSH SA; COOMBES JS. Exercise and the endothelial cell. **International Journal of Cardiology** 99: 165–169. 2005.

MASTALOUDIS A; MORROW JD; HOPKINS DW; DEVARAJ S; TRABER MG. Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. **Free Radical Biology and Medicine** 36: 1329-1341. 2004.

[MATSUMOTO A](#), [HIRATA Y](#), [MOMOMURA S](#), [FUJITA H](#), [YAO A](#), [SATA M](#), [SERIZAWA T](#). Increased nitric oxide production during exercise. **Lancet**. 343: 849–850. 1994.

MATSUO M; KANEKO T. The chemistry of reactive oxygen species and related free radicals. In: RADÁK Z, editor. **Free radicals in exercise and aging**. Human Kinetics: Champaign pp. 1-33. 2001.

MEYDANI SN; MEYDANI M; BLUMBERG JB; LEKA LS; SIBER G; LOSZEWSKI R; THOMPSON C; PEDROSA MC; DIAMOND RD; STOLLAR BD. Vitamin E supplementation and in vivo immune response in healthy elderly subjects. A randomized trial. **Journal of the American Medical Association** 277:1380-1386. 1997.

MOMBOULI JV; VANHOUTTE PM. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**. 31: 61-74. 1999.

MORITZ B; TRAMONTE VLC. Bioavailability of lycopene. **Brazilian Journal of Nutrition** 19: 265-273. 2006.

O'CONNOR GT; BURING JE; YUSUF S. GOLDHABER SZ; OLMSTEAD EM; PAFFENBARGER RSJr; HENNEKENS CH. An overview of randomized trials of rehabilitation with exercise after myocardial infarction. **Circulation** 80: 234-244. 1989.

OLDRIDGE NB; GUYATT G; FISCHER M; RIMM AA. Cardiac rehabilitation after myocardial infarction: combined experience of randomized clinical trials. **Journal of the American Medical Association** 260: 945-950. 1988.

OLSON JA. Carotenoids and human health. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición** 49: 7-11. 1999.

PINHO RA; ANDRADES ME; OLIVEIRA MR; PIROLA AC; ZAGO MS; SILVEIRA PCL; DAL-PIZZOL F; MOREIRA JCF. Imbalance in SOD/CAT activities in rat skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. **Cell Biology International** 30(10):848-53. 2006.

[PINHO RA](#); [CHIESA D](#); [MEZZOMO KM](#); [ANDRADES ME](#); [BONATTO F](#); [GELAIN D](#); [DAL-PIZZOL F](#); [KNORST MM](#); [MOREIRA JC](#). Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease patients submitted to a rehabilitation program. **Respiratory Medicine** 101(8):1830-5. 2007.

POLIDORI MC; MECOCCHI P; CHERUBINI A; SENIN U. Physical activity and oxidative stress during aging. **International Journal of Sports Medicine** 21: 154 – 157. 2000.

POWERS SK; JI LL; LEEUWENBURG C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. **Medicine & Science in Sports & Exercise** 31: 987 – 997.1999.

RADÁK Z; KANEKO T; TAHARA S; NAKAMOTO H; OHNO H; SASVÁRI M; NYAKAS C; GOTO, S. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and dna in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcome. **Free Radical Biology and Medicine** 27:69 – 74. 1999.

RAO AV; AGARWAL S. Bioavailability and in vivo antioxidant properties of lycopene from tomato products and their possible role in the prevention of cancer. **Nutrition and cancer** 31: 199-203. 1998.

RAO AV; WASEEM Z; AGARWAL S. Lycopene contents of tomatoes and tomato products and their contribution to dietary lycopene. **Food Research International** 31: 737-741. 1998.

REDDY KG; NAIR RN; SHEERAN HM; HODGSON JM. Evidence that selective endothelial dysfunction may occur in the absence of angiographic or ultrasound atherosclerosis in patients with risk factors for atherosclerosis. **Journal of the American College of Cardiology** 23: 833-843. 1994.

RISSANEN T; VOUTILAINEN S; NYSSONEN K; SALONEN JT. Lycopene, atherosclerosis, and coronary heart disease. **Experimental Biology and Medicine** 227: 900-907. 2002.

ROBERTS K; BARNARD RJ; JASMAN A; BALON TW. Acute exercise increase nitric oxide synthase activity in skeletal muscle. **American journal of physiology** 277: 390-394. 1999.

RODRIGUEZ-AMAYA DB. Latin American food sources of carotenoids. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición** 49: 74-84. 1999.

[ROZANSKI A](#); [QURESHI E](#); [BAUMAN M](#); [REED G](#); [PILLAR G](#); [DIAMOND GA](#). Peripheral arterial responses to treadmill exercise among healthy subjects and atherosclerotic patients. **Circulation** 103: 2084-2089. 2001.

SAHIN K; ONDERCI M; SAHIN N; GURSU MF; KHACHIK F; KUCUK O. Effects of lycopene supplementation on antioxidant status, oxidative stress, performance and carcass characteristics in heat-stressed Japanese quail. **Journal of Thermal Biology** 31: 307-12. 2006.

[SÁNCHEZ-QUESADA JL](#); [ORTEGA H](#); [PAYÉS-ROMERO A](#); [SERRAT-SERRAT J](#); [GONZÁLEZ-SASTRE F](#); [LASUNCIÓN MA](#); [ORDÓÑEZ-LLANOS J](#). LDL from aerobically-trained subjects shows higher resistance to oxidative modification than LDL from sedentary subjects. **Atherosclerosis** 132: 207-213. 1997.

SESSO HD; PAFFENBARGER JR RS; LEE IM. Physical activity and coronary heart disease in men: the Harvard Alumni Health Study. **Circulation** 102: 975–980. 2000.

SHAMI NJIE; MOREIRA EAM. Lycopene as an antioxidant agent. **Brazilian Journal of Nutrition** 17: 227-236. 2004.

SHEN W; ZHANG X; WOLIN MS; SESSA W; HINTZE TH. Nitric oxide production and NO synthase gene expression contribute to vascular regulation during exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise** 8: 1125-1134. 1995.

SINGH U; JIALAL I. Oxidative stress and atherosclerosis. **Pathophysiology** 13: 129-142. 2006.

[SMITH CM](#); [KELSEY KT](#); [WIENCKE JK](#); [LEYDEN K](#); [LEVIN S](#); [CHRISTIANI DC](#). Inherited glutathione-s-transferase deficiency is a risk factor for pulmonary asbestosis. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention** 3:471-477. 1994.

STEINBERG D. Antioxidants and atherosclerosis: a current assessment. **Circulation** 84: 1420-1425. 1991.

STONE JA; CYR C; FRIESEN M; KENNEDY-SYMONDS H; STENE R; SMILOVITCH M. Canadian guidelines for cardiac rehabilitation and atherosclerotic heart disease prevention: a summary. **Canadian Journal of Cardiology** 17: 3B-30B. 2001.

TADDEI S; GALETTA F; VIRDIS A; GHIADONI L; SALVETTI G; FRANZONI F; GIUSTI C; SALVETTI A. Physical activity prevents age-related impairment in nitric oxide availability in elderly athletes. **Circulation** 101:2896-2901. 2000.

TERBLANCHE SE. The effects of exhaustive exercise on the activity levels of catalase in various tissues of male and female rats. **Cell Biology International** 23: 749-753. 2000.

TOUNIAN P; AGGOUN Y; DUBEM B; VARILLE V; GUY-GRAND B; SIDI D; GIRARDET J; BONNET D. Presence of increased stiffness of the common carotid artery and endothelial dysfunction in severely obese children: a prospective study. **Lancet** 358 :1400-1406. 2001.

TREVOR CC; SANDY SH. Effects of a 7-day eccentric training period on muscle damage and inflammation. **Medicine & Science in Sports & Exercise** 33: 1732-1738. 2001.

[TSAO PS](#); [NIEBAUER J](#); [BUITRAGO R](#); [LIN PS](#); [WANG BY](#); [COOKE JP](#); [CHEN YD](#); [REAVEN GM](#). Interaction of diabetes and hypertension on determinants of

endothelial adhesiveness. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology** 18: 947-953. 1998.

[TUZCU EM](#); [KAPADIA SR](#); [TUTAR E](#); [ZIADA KM](#); [HOBBS RE](#); [MCCARTHY PM](#); [YOUNG JB](#); [NISSEN SE](#). High prevalence of coronary atherosclerosis in asymptomatic teenagers and adults: evidence from intravascular ultrasound. **Circulation** 103: 2705-2710. 2001.

[VISIOLI F](#); [RISO P](#); [GRANDE S](#); [GALLI C](#); [PORRINI M](#). Protective activity of tomato products on in vivo markers of lipid oxidation. **European Journal of Nutrition** 42: 201-206. 2003.

WENNMALM A. Endothelial nitric oxide and cardiovascular disease. **Journal of Internal Medicine** 235:317-27. 1994.

WILLCOX JK; CATIGNANI GL; LAZARUS S. Tomatoes and cardiovascular health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 43: 1-18. 2003.

[WISLØFF U](#); [STØYLEN A](#); [LOENNECHEN JP](#); [BRUVOLD M](#); [ROGNMO Ø](#); [HARAM PM](#); [TJØNNA AE](#); [HELGERUD J](#); [SLØRDAHL SA](#); [LEE SJ](#); [VIDEM V](#); [BYE A](#); [SMITH GL](#); [NAJJAR SM](#); [ELLINGSEN Ø](#); [SKJAERPE T](#). Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients. A randomized study. **Circulation** 115: 3086-3094. 2007.

ZAGO AS; ZANESCO A. Nitric Oxide, Cardiovascular Disease and Physical Exercise. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia** 87: 264-270. 2006.

ZHANG Z; SHEN HM; ZHANG QF; ONG CN. Critical role of GSH in silica-induced oxidative stress, cytotoxicity, and genotoxicity in macrophages. **American Journal of Physiology** 277: 743-748. 1999.

ANEXO A – Termo de Consentimento Informado

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
LABORATÓRIO DE FISIOLOGIA E BIOQUÍMICA DO EXERCÍCIO
TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

Estamos desenvolvendo um estudo intitulado EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO REGULAR E SUPLEMENTAÇÃO DE LICOPENO SOBRE MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO NA DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA. Nosso objetivo com esse estudo é verificar se a suplementação de licopeno e o exercício físico em diferentes intensidades de esforço melhora a resposta plasmática contra ataques de radicais livres. Os radicais livres são moléculas que, em excesso no organismo, podem provocar danos para célula e diminuir os efeitos positivos do exercício e da reabilitação.

Licopeno: é um carotenóide natural, com propriedades antioxidantes, predominante no plasma e nos tecidos humanos, sendo encontrado em um número limitado de alimentos de cor vermelha.

Efeitos colaterais: não há relatos de toxicidade aguda ou crônica pelo seu uso.

Contra-indicações: não é indicado para gestantes, mulheres que amamentam e crianças.

Interações medicamentosas: não existe.

O exercício físico com prescrição individualizada e com orientação e acompanhamento de profissionais habilitados não trás riscos para saúde.

A coleta de sangue praticamente não traz riscos à saúde. Todo material utilizado será descartável e a coleta será feita por um profissional com habilidade técnica. Eventualmente pode ocorrer queda de pressão/ tonturas e hematomas no local da punção.

Declaração:

Eu _____ (nome do(a) paciente), abaixo identificado(a) e firmado(a), declaro ter sido informado(a) claramente sobre todas as indicações, contra-indicações, principais efeitos colaterais, relacionados ao exercício físico e a suplementação licopeno e ácido lipóico.

Os termos utilizados foram explicados e todas as minhas dúvidas foram resolvidas pelo pesquisador responsável.

Estou ciente que posso abandonar o referido programa de treinamento a qualquer momento, sem que este fato implique em qualquer forma de constrangimento, punição e ressarcimento. Declaro ter compreendido e concordado com todos os termos deste consentimento informado.

Expresso também minha concordância e espontânea vontade em submeter-me ao referido experimento, assumindo a responsabilidade e os riscos pelos eventuais efeitos indesejáveis decorrentes.

Assim o assino por livre e espontânea vontade e por decisão pessoal.

R.G. do paciente: _____

Sexo do paciente: () Masculino () Feminino () Idade do Paciente: _____

Endereço: _____

Cidade: _____ CEP: _____ Telefone: () _____

Assinatura do Paciente ou Responsável _____

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)