

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Possível efeito da poluição ambiental atmosférica e o estresse oxidativo em
pacientes com Infarto Agudo do Miocárdio

FERNANDO ARAÚJO DE FREITAS

Porto Alegre, 2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Possível efeito da poluição ambiental atmosférica e o estresse oxidativo em
pacientes com Infarto Agudo do Miocárdio

Dissertação apresentada por **Fernando
Araújo de Freitas** para obtenção do
GRAU DE MESTRE em Ciências
Farmacêuticas

Orientadora: Prof^a. Dr. Solange Cristina Garcia

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado – da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 30.4.2012, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof^a. Dr. Carmen Regla Vargas
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof^a. Dr. Cláudia Rhoden
Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Prof. Dr. Rafael Noal Moresco
Universidade Federal de Santa Maria

Freitas, Fernando Araújo

Possível efeito da poluição ambiental atmosférica e o estresse oxidativo em pacientes com Infarto Agudo do Miocárdio / Fernando Araújo Freitas. -- 2012.
50 f.

Orientadora: Solange Cristina Garcia.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Infarto agudo do miocárdio. 2. Poluição ambiental. 3. Estresse oxidativo. I. Garcia, Solange Cristina, orient. II. Título.

Este trabalho foi desenvolvido, sob a orientação da Prof^a. Dr. Solange Cristina Garcia, no laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia do Rio Grande do Sul, Instituto de Cardiologia de Porto Alegre e no laboratório de Toxicologia da faculdade de Farmácia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul sob coordenação da Prof^a. Dr. Flávia Thiesen. A pesquisa foi financiada pela FAPERGS (PqG-2010). Fernando Araújo de Freitas recebeu bolsa de mestrado do CAPES.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

A professora **Dr^a Solange Cristina Garcia**, exemplo de dedicação, persistência e garra, sempre estimulando o crescimento profissional. Agradeço pela oportunidade de realizar este trabalho e por todos os ensinamentos transmitidos. Por tentar tornar possível a realização dos inúmeros projetos que orienta, buscando sempre dar as ferramentas necessárias para a realização dos mesmos. Agradeço por todo apoio recebido, pelos anos de convivência e amizade adquirida no decorrer dos anos. Obrigada por tudo!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar vida e saúde para alcançar meus objetivos.

A prof^a Solange, por me dar a oportunidade de compor o seu grupo de pesquisa e me orientar na realização desse trabalho.

Aos meus pais Paulo e Elsa pelo apoio incondicional. Sem vocês eu não teria chegado aqui.

A toda a família: pais, irmãos Daniel e Rafael, tias Máguida, Dora e Clara, primos, a minha madrinha Vera Sílvia, a minha “mãedrasta” Olinda . Muito obrigada pelo apoio, amizade e carinho.

Ao grupo de pesquisa da professora Flávia Thiesen pelo auxílio no desenvolvimento da parte prática dessa pesquisa.

Ao Instituto de Cardiologia de Porto Alegre, especialmente ao Prof. Iran de castro e a equipe do laboratório de análises clínicas.

Aos colegas do Laboratório de Tóxicologia, Ângela, Bruna, Elisa, Fernanda, Gabriela, Gilian, Guilherme, Mariele, Marilia, Natália, Sabrina, pela ajuda, companheirismo, pelas risadas, enfim, pelos momentos vividos por esse período.

Aos amigos e colegas Juliano e Rachel, que me ajudaram em todas etapas do meu trabalho, pela amizade, parceria e companheirismo, sem a ajuda de vocês teria sido muito mais difícil.

Aos amigos do Labitox, Gabi, Ana Laura, Rosi, Otávio, Madson, Vitória, Maíra, Paula, por todos os cafés, discussões científicas, risadas e bons momentos vividos, aos amigos Diego, Marcelo, Karolina, Luciane, Fran, e Prof^a. Eliane, pelo apoio e momentos de descontração.

Aos professores Carmen Vargas, Cláudia Rhoden e Rafael Moresco por aceitarem o convite para compor a banca examinadora desta dissertação.

A UFRGS e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade de realizar este curso.

A todos os amigos e demais pessoas que não foram citados, mas que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

A CAPES pelo fomento através da concessão da bolsa.

RESUMO

Doenças desencadeadas ou agravadas pela contaminação ambiental resultante dos poluentes atmosféricos vêm se tornando cada vez mais preocupantes, entre as quais se destacam as doenças respiratórias e cardiovasculares. Vários estudos têm mostrado uma associação entre poluição atmosférica e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, especialmente devido ao material particulado no ar. Este material, por sua vez, possui diversas substâncias em sua composição química, dentre eles os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), os quais têm sido fortemente associados com o processo inflamatório em estudos *in vitro*. O benzo[a]pireno (BaP) é um dos HPAs mais importantes, sendo que seu metabólito mais utilizado como biomarcador de exposição é o 1-hidroxipireno (1-HP) urinário. Considerando as doenças cardiovasculares, o infarto agudo do miocárdio (IAM) é um dos desfechos clínicos mais relevantes pela sua alta morbidade e mortalidade. Sabe-se que, além dos efeitos da poluição atmosférica, outros fatores são considerados determinantes no desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como o tabagismo, sedentarismo, dislipidemias, histórico familiar, entre outros. Neste contexto, o presente trabalho avaliou a possível associação entre exposição ambiental ao benzo[a]pireno, inflamação e biomarcadores do estresse oxidativo em pacientes com IAM. Fizeram parte deste estudo indivíduos diagnosticados com IAM (N=58) e indivíduos não infartados controles (N=41), sendo cada grupo dividido em fumantes e não fumantes. A concentração urinária de 1-HP foi quantificada por CLAE e os resultados corrigidos pela excreção urinária de creatinina. Análises laboratoriais de rotina como exames hematológicos, bioquímicos, bem como biomarcadores inflamatórios (PCRus) foram quantificados, além de biomarcadores do estresse oxidativo (MDA, SOD, δ -ALA-D, CAT, GPx), antioxidantes não-enzimáticos exógenos (β -caroteno, licopeno, vitamina E e retinol) e carboxihemoglobina (COHb), todos em amostras sanguíneas. Os resultados demonstram aumentos significativos dos níveis de 1-HP urinário, PCRus, MDA e das atividades das enzimas CAT e GPx em pacientes pós-infarto (fumantes e não fumantes) e ainda uma inibição da δ -ALA-D somente no grupo pós-infarto não fumantes, comparados aos grupos controles. Além disso, uma diminuição na atividade

enzimática de SOD e dos níveis de β -caroteno foram encontrados nos dois grupos pós-infarto comparados aos grupos controles. Os níveis de COHb não apresentaram alterações significativas nos grupos estudados, exceto para os fumantes, independente do infarto. Correlações positivas de MDA ($r=0,326$, $p=0,01$) e CAT ($r=0,474$, $p=0,001$) com os níveis urinários de 1-HP foram encontradas. Por outro lado, δ -ALA-D ($r=-0,353$, $p=0,01$) e β -caroteno ($r=-0,309$, $p=0,05$) foram negativamente correlacionados com a excreção urinária de 1-HP; as correlações foram obtidas somente para os grupos não-fumantes. Os resultados indicam que os indivíduos com IAM apresentam maiores níveis do biomarcador inflamatório PCRus, além de alterações em vários biomarcadores de dano oxidativo em conjunto com um aumento da excreção urinária de 1-HP. Desta forma, estes resultados sugerem que, para uma melhor compreensão da exposição ao benzo[a]pireno e eventos cardiovasculares, o tabagismo deve ser excluído. Ainda, os resultados demonstram que o BaP tende a aumentar a peroxidação lipídica, apesar de aumentar a atividade da catalase. Além disso, o BaP demonstrou inibir a enzima δ -ALA-D e atuar na depleção de β -caroteno. Desta forma, sugere-se que o BaP induz o estresse oxidativo e que este aumento, isoladamente e/ou em conjunto com o metabólitos ativos do benzo[a]pireno, podem contribuir para o desfecho clínico do infarto agudo do miocárdio em indivíduos não-fumantes.

Palavras chave: poluição do ar, 1-hidroxi-pireno, peroxidação lipídica, inflamação.

ABSTRACT

Diseases caused or aggravated by environmental pollutants are becoming increasingly worrisome, especially respiratory and cardiovascular diseases. Several studies have shown an association between air pollution and the development of cardiovascular diseases, considering the existence of particulate matter in the air pollution. Particulate matter presents various substances in its chemical composition, e.g. polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), which have been strongly associated with the inflammatory process in *in vitro* studies. Benzo[a]pyrene (BaP) is one of the most important PAHs, whose most commonly utilized biomarker of exposure is the urinary metabolite 1-hydroxypyrene (1-HP). Regarding cardiovascular diseases, acute myocardial infarction (AMI) is clinically relevant due to its high morbidity and mortality. In addition to air pollution effects, several other factors are determinant in the development of cardiovascular diseases, for instance, smoking, sedentary lifestyle, dyslipidemia, family history, etc. In this context, the present study evaluated the possible association of environmental exposure to BaP, inflammation and oxidative stress biomarkers in AMI patients. Patients diagnosed with AMI (N=58) and controls (N=41) were enrolled in this study and divided into smokers and non smokers. The urinary excretion of 1-hydroxypyrene (1-HP) was analyzed by HPLC and results were corrected by urinary creatinine values. Hematological and biochemical parameters, inflammatory (hsCRP) and oxidative stress (MDA, SOD, δ -ALA-D, CAT, GPx) biomarkers, exogenous non-enzymatic antioxidants (β -carotene, lycopene, vitamin E e retinol) and carboxyhemoglobin (COHb) were determined in blood samples. We report increases in 1-HP urinary excretion, hsCRP and MDA levels, in CAT and GPx enzymatic activities in post-infarction patients (smokers and non smokers) and also an inhibition of δ -ALA-D activity only in the post-infarction non smoker group, compared to the control groups ($p < 0.05$). Furthermore, decreases in SOD enzymatic activity and β -carotene levels have been found in the post-infarction groups compared to controls. COHb levels did not change significantly in both groups, except for smokers which increased independently from the infarction. MDA ($r=0.326$, $p=0.01$) and CAT ($r=0.474$, $p=0.001$) were positively correlated with the levels of urinary 1-HP. On the other

hand, δ -ALA-D ($r=-0.353$, $p=0.01$) and β -carotene ($r=-0.309$, $p=0.05$) were negatively correlated with 1-HP urinary excretion; correlations were obtained only with non smoker groups. Thus these results suggest that in order to better understand the exposure to BaP and cardiovascular events, smoking must be excluded. Moreover, BaP was shown to increase lipid peroxidation despite the increase in catalase activity; BaP was also able to inhibit δ -ALA-D enzymatic activity and deplete β -carotene levels. Therefore, our findings suggest that BaP increases oxidative stress by itself or in conjunction with its active metabolites, which may contribute to the clinical outcome of the AMI in non smokers.

Keywords: air pollution, 1-hydroxypyrene, lipid peroxidation, inflammation.

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|-----------------|---|
| 1-HP | 1-hidroxipireno |
| δ-ALA-D | Delta Aminolevulinato Desidratase |
| BaP | Benzo[a]pireno |
| CAT | Catalase |
| CO | Monóxido de Carbono |
| COHb | Carboxiemoglobina |
| CPK | Creatinoquinase |
| CPK-MB | Creatinoquinase fração MB |
| ERNs | Espécies Reativas de Nitrogênio |
| EROs | Espécies Reativas de Oxigênio |
| GPx | Glutathione Peroxidase |
| GSH | Glutathione Reduzida |
| HPAs | Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos |
| IAM | Infarto Agudo do Miocárdio |
| MDA | Malondialdeído |
| MP | Material Particulado |
| NO | Óxido Nítrico |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| PCRus | Proteína C Reativa ultra sensível |
| RLs | Radicais Livres |
| SO ₂ | Dióxido de Enxofre |
| SOD | Superóxido Dismutase |

SUMÁRIO

| | |
|--------------------------------------|------------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 19 |
| 2. OBJETIVOS..... | 23 |
| 2.1. Objetivo geral..... | 25 |
| 2.2. Objetivos específicos..... | 25 |
| 3. REVISÃO DA LITERATURA..... | 27 |
| 3.1. Poluição ambiental..... | 29 |
| 3.2. Doenças cardiovasculares..... | 31 |
| 3.3. Estresse oxidativo..... | 33 |
| 3.4. Antioxidantes..... | 36 |
| 3.5. Justificativa..... | 40 |
| 4. MANUSCRITO..... | 41 |
| 5. DISCUSSÃO..... | 83 |
| 6. CONCLUSÃO..... | 89 |
| 7. REFERÊNCIAS..... | 93 |
| 8. ANEXOS..... | 103 |

1. INTRODUÇÃO

Doenças desencadeadas ou agravadas pela contaminação ambiental atmosférica vêm sendo cada vez mais preocupantes, pois desencadeiam as doenças respiratórias e cardiovasculares. Além disso, representam, em médio e longo prazo, aumentos nos gastos com saúde, pelo Sistema Único de Saúde, com mais atendimentos ambulatoriais, gastos com medicamentos, internações, intervenções clínicas e ainda queda na qualidade de vida da população.

Os contaminantes ambientais atmosféricos ocasionam intoxicações exógenas que podem ser crônicas e/ou agudas, provocando o desenvolvimento de sinais e sintomas nos indivíduos expostos. Os grupos etários mais suscetíveis aos efeitos dos poluentes são os idosos e as crianças. Porém a população em geral e os profissionais que permanecem expostos a estes xenobióticos por um período diário maior também são afetados.

Neste sentido, consta no plano estratégico dos grandes centros de estudo em meio ambiente, como o *National Institute of Environmental Health Sciences* dos Estados Unidos da América, a definição de algumas principais metas no seu plano estratégico para os próximos anos, as quais podem ser adaptadas para a realidade brasileira da seguinte forma: aumento do papel da pesquisa clínica nas ciências ambientais, especialmente com estudos em seres humanos acerca dos efeitos tóxicos dos poluentes ambientais na saúde. Deste modo, é possível utilizar os estudos dos efeitos dos poluentes ambientais como uma forma de ampliação do conhecimento da biologia humana, incluindo investigações da relação do estresse oxidativo como mecanismo patológico desencadeador de doenças, bem como medidas de material particulado em amostras ambientais. Sabe-se que as doenças cardiovasculares contribuem significativamente, como grupo causal para a taxa de mortalidade em todas as regiões brasileiras. Estas doenças constituem uma das principais causas de permanência hospitalar prolongada e são responsáveis pela alocação de importantes quantias de recursos públicos em hospitalizações no Brasil. Vale ressaltar que os fatores ambientais são considerados determinantes das doenças cardiovasculares, apesar de outros hábitos de vida também exercerem forte influência no risco ao desenvolvimento de doenças coronárias, entre eles o tabagismo.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Avaliar possíveis associações entre biomarcadores da poluição atmosférica, dano oxidativo e inflamação em pacientes após infarto agudo do miocárdio.

2.2. Objetivos específicos

- Comparar os resultados entre percentagem da carboxihemoglobina e concentração urinária do 1-hidroxipireno como possíveis biomarcadores da exposição ambiental à poluição atmosférica;
- Estudar possíveis correlações entre os biomarcadores da poluição atmosférica e o biomarcador de lipoperoxidação;
- Estudar possíveis correlações entre os biomarcadores da poluição atmosférica e antioxidantes endógenos;
- Estudar possíveis correlações entre os biomarcadores da poluição atmosférica e antioxidantes exógenos;
- Estudar possíveis correlações entre os biomarcadores da poluição atmosférica e a inflamação;

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Poluição ambiental

Os efeitos deletérios da poluição ambiental sobre a saúde humana vêm sendo relatados nos últimos anos. Dentre eles, Logan reportou em 1953 o aumento da mortalidade em Londres no inverno de 1952, durante o qual houve aumento intenso da poluição do ar, sendo registradas mais de 4000 mortes.

Em 2002 uma publicação na Associação Médica Americana demonstrou que a exposição crônica aos poluentes atmosféricos reduz significativamente a expectativa de vida, devido um número excessivo de casos de câncer de pulmão, doença pulmonar obstrutiva crônica e doenças cardiovasculares.

No final de 2006 a Organização Mundial de Saúde (OMS) recomendou um rigoroso controle da qualidade do ar, reconhecendo que a poluição mundial é responsável por mais de dois milhões de mortes por ano.

No Brasil, o desenvolvimento tecnológico e econômico norteado pelo aumento do parque industrial, crescimento da frota leve e pesada e expansão da fronteira produtiva, acarretou novos desafios para a determinação dos impactos da poluição à saúde humana. Assim, a expansão das fontes levou problemas de poluição atmosférica a áreas desprovidas de capacidade de monitoramento e gestão do risco.

Neste sentido, vários trabalhos vêm sendo iniciados no país para investigar questões importantes entre os efeitos da poluição em cidades urbanas e a saúde humana, especialmente, com abordagem sobre o sistema cardiovascular e respiratório (Saldiva, 1994; Martins, 2002; Bakonyi, 2004; Braga, 2007; Carmo, 2010; Bueno, 2010; Souza, 2010).

Dentre os poluentes ambientais destacam-se o material particulado (MP). A poluição pelo MP refere-se a uma mistura de partículas sólidas ou líquidas suspensas no ar, que variam em forma, composição e origem. De modo geral, pode-se definir a distribuição do MP como trimodal, com frações grossa, fina e ultrafina (Pope et al., 2002). A fração grossa é composta por partículas com diâmetro aerodinâmico superior a 2,5 μm , estando presentes e naturalmente geradas a partir do solo ou outros materiais da crosta. Nas cidades com alta densidade de tráfego, uma fração significativa da fração grossa é produzida pela fricção dos pneus dos veículos com o asfalto das ruas, contendo elementos do pavimento e da borracha pneumática.

As partículas finas (MP 2,5) são derivadas, de maneira geral, de processos de combustão de motores, indústrias ou usinas termoelétricas. O MP 2,5 contém partículas primárias, produzidas diretamente pelas fontes emissoras, bem como partículas secundárias (principalmente sulfatos e nitratos), geradas pelo processo de conversão de gás a partículas a partir de óxidos de enxofre e óxidos de nitrogênio. Fazem parte do MP 2,5 partículas de carvão produzidas pela combustão dos combustíveis fósseis, que possuem adsorvidos à sua superfície diferentes elementos e compostos, tais como metais pesados e hidrocarbonetos. As partículas ultrafinas, definidas como aquelas com diâmetro aerodinâmico inferior a 0,1 μm , têm um tempo de residência na atmosfera relativamente curto, pois se agregam progressivamente para formar partículas finas.

Além do MP, o monóxido de carbono (CO), o ozônio (O_3), o óxido de nitrogênio (NO_2) e o dióxido de enxofre (SO_2) são importantes poluentes a serem estudados.

O CO é um gás incolor, inodoro, insípido, não irritante, emitido da combustão incompleta de materiais de carbono. As concentrações desse gás são geralmente elevadas em regiões de tráfego pesado, sendo os veículos responsáveis por cerca de 60% das emissões de CO (WHO, 1999). Outra fonte importante de exposição ao CO é a fumaça do cigarro que contém cerca de 5% desse gás (Maynard e Waller, 1999). A afinidade da hemoglobina pelo CO é de 200 a 300 vezes maior do que o oxigênio, formando a carboxiemoglobina (COHb), tornando a hemoglobina incapaz de se combinar com o oxigênio que dependendo do nível de exposição pode causar impactos sobre a saúde (Curtis, 2006; Maynard, 2004). A COHb é um biomarcador de exposição ao monóxido de carbono oriundo da poluição atmosférica, do tráfego e do cigarro, sendo que em um estudo com guardas de trânsito mostrou que a influência do cigarro era muito mais representativa em relação a exposição a poluição do ar nos níveis de COHb, indicando que este não seria um bom biomarcador de exposição a poluição atmosférica (Bono, 2007).

O MP em suspensão permanece por longos períodos na atmosfera antes de ser removido por mecanismos de depuração. O MP é tido como o maior causador de efeitos adversos à saúde entre os poluentes presentes no ar (D'Amato, 2002). Isso se deve ao fato de que geralmente está agregado em

sua superfície uma mistura complexa de substâncias tóxicas, como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) (Dallarosa, 2005; Valavanidis, 2006; Machado, 2009; Halec, 2010). O benzo[a]pireno é o mais abundante entre os HPAs, considerado um dos mais potentes agentes carcinogênicos em animais, além de embriotóxico e teratogênico (IARC, 2010). Por esta razão, ele tem sido utilizado como indicador da presença de outros HPAs em amostras ambientais. A toxicidade do BaP é provocada por sua potente ação pró-carcinogênica, uma vez que alguns dos seus metabólitos intermediários são intercalantes de DNA e, portanto, agentes mutagênicos/oncogênicos (Boffetta, 1997).

A exposição aos HPAs carcinogênicos tem sido implicada na etiologia da aterosclerose. Estudos têm demonstrado que a exposição ao BaP causa aumento da progressão da aterosclerose que é caracterizada pelo aumento das células inflamatórias e placas ateroscleróticas (Knaapen, 2005), importantes complicadores nas doenças cardiovasculares.

3.2. Doenças cardiovasculares

Sabe-se que as doenças cardiovasculares contribuem significativamente, como grupo causal, para a taxa de mortalidade em todas as regiões brasileiras. Além disso, constituem uma das principais causas de permanência hospitalar prolongada e são responsáveis pela principal alocação de recursos públicos em atendimentos ambulatoriais e hospitalizações no Brasil (James, 1991).

Apesar dos fatores de estilo de vida, como o hábito de fumar, a dieta e os exercícios, exercerem forte influência no risco ao desenvolvimento de doenças coronarianas, os fatores ambientais são considerados determinantes das doenças cardiovasculares. Nas últimas décadas, muitos estudos epidemiológicos mostraram que a exposição a MP presente no ar respirado está associada com o aumento da mortalidade cardiovascular. Relações estatísticas significativas foram obtidas entre o MP do ambiente e isquemia do coração, arritmias e derrames (Colombini, 2008; Cançado, 2006; De Paula, 2005). Estudo com animais mostrou que a exposição a MP aumenta o risco de trombozes e forma lesões ateroscleróticas (Zanobetti, 2005).

As doenças cardiovasculares são uma das principais causas de morte nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, principalmente o infarto agudo do miocárdio (IAM), que é uma necrose miocárdica causada pela isquemia, que pode ser diagnosticado e avaliado por métodos clínicos, eletrocardiográficos e bioquímicos. Os fatores de risco para doenças cardiovasculares são classificadas em não modificáveis, que são essencialmente imutáveis, tais como faixa etária mais elevada, sexo masculino e história familiar de doença cardiovascular e os modificáveis como tabagismo, dislipidemia, hipertensão, inatividade física, obesidade e álcool (Goldman, 2010).

Apesar das evidências epidemiológicas indicando que o MP pode promover lesões cardiovasculares e aterosclerose, os mecanismos da lesão cardiovascular e os seus efeitos ainda não estão bem esclarecidos. Os mecanismos que relacionam poluição do ar e sistema cardiovascular têm sido atribuídos a mudanças na síntese ou reatividade do óxido nítrico (NO) que podem ser causadas pela ação de oxidantes contidos no MP ou pelo aumento endógeno de espécies reativas de oxigênio (EROS), pela alteração dos fatores de coagulação sanguínea, por ativação de resposta inflamatória pulmonar e sistêmica, pela promoção e potencialização do processo aterosclerótico e disfunção cardíaca (Zeka, 2006; Cançado, 2006). Portanto, estudos de efeitos oxidantes são importantes, mais especificamente a abordagem do estresse oxidativo como mecanismo patológico. Porém, existem somente alguns trabalhos experimentais relacionando efeitos do BaP e as doenças cardiovasculares.

A toxicodinâmica de muitos xenobióticos está relacionada com o aumento de dano oxidativo, devido ao aumento da formação de oxidantes e/ou a depleção de antioxidantes no organismo. Muitos xenobióticos ao qual o ser humano está exposto ambientalmente geram intracelularmente espécies reativas, especialmente de oxigênio, ocasionando danos oxidativos, por exemplo, pode ocorrer modificação de proteínas e/ou enzimas, com perda de função biológica, a peroxidação lipídica, que aumenta a perda da integridade de membranas celulares e, ainda o dano de DNA, sendo que, em todas as situações, há como consequência danos teciduais. Os danos oxidativos induzidos nas células e tecidos têm sido relacionados com a etiologia de várias

doenças, incluindo algumas degenerativas, e também cardiopatias, aterosclerose e problemas pulmonares (Ames, 1993; Sies e Stahl, 1995).

3.3. Estresse oxidativo

O estresse oxidativo é um processo desencadeado pelo desequilíbrio gerado entre as espécies oxidantes e antioxidantes do organismo, decorrente da produção excessiva de agentes oxidantes e/ou depleção de antioxidantes (Sies, 1986; McGrath, 1995; Descamps-Latscha, 2001; Morena, 2002).

Os radicais livres (RLs) são agentes oxidantes caracterizados como espécies atômicas ou moleculares que possuem um ou mais elétrons desemparelhados na sua órbita externa, tornando-as espécies altamente reativas que agem como eletrófilos (GILLHAM et al., 1997). São substâncias capazes de reagir rapidamente com diversos compostos e alvos celulares, provocando danos a proteínas, carboidratos, lipídios e ácidos nucleicos (GILLHAM et al., 1997).

Dentre os oxidantes mais importantes envolvidos em processos patológicos estão as espécies reativas de oxigênio (EROS) e as de nitrogênio (ERNS). As principais EROS distribuem-se em dois grupos, as radicalares: superóxido ($O_2^{\cdot-}$), hidroxila (OH^{\cdot}), peróxila (ROO^{\cdot}) e alcoxila (RO^{\cdot}); e as não-radicalares: oxigênio singlete (1O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ácido hipocloroso. Dentre as ERNS incluem-se o óxido nítrico (NO^{\cdot}), o óxido nitroso e o peroxinitrito ($HNOO^{\cdot}$), dentre outros. A maioria destes compostos apresenta tempo de meia-vida muito curto (GILLHAM et al., 1997; SIES, 1997).

Os oxidantes podem ser formados no organismo através de diversos processos. Durante a fosforilação oxidativa, mecanismo usado pelas células para produzir energia química (ATP), parte dos elétrons é transferida para o oxigênio, dando origem ao radical ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (JUNQUEIRA & RAMOS, 2005). Eles ainda podem ser produzidos durante a oxidação de ácidos graxos, reações do citocromo P-450 e de células fagocíticas, entre outros. Algumas enzimas também são capazes de gerar RLs, sob condições normais ou patológicas. Fontes exógenas como tabaco, radiações, luz ultravioleta, solventes e alguns fármacos, dentre outros, também geram RLs ou espécies reativas não radicalares (BIESALSKI, 2002).

Em condições fisiológicas normais, as EROS podem desempenhar importante papel fisiológico na regulação da resposta imunológica, participando do processo fagocítico de defesa contra infecções e atuando como fatores de transcrição na sinalização intracelular, induzindo a apoptose (HALLIWELL, 1994; BIESALSKI, 2002). No entanto, o aumento na sua produção e/ou a redução de antioxidantes gera um desequilíbrio, caracterizando o estresse oxidativo (BEAL, 1995; FINKEL & HOLBROOK, 2000; GUTTERIDGE & HALLIWELL, 2000; JUNQUEIRA & RAMOS, 2005), que provoca danos em muitos constituintes celulares, como lipídios insaturados, proteínas e DNA (FINDLAY et al., 2005).

O ataque de espécies reativas aos lipídios das membranas desencadeia um processo chamado peroxidação lipídica (URSO & CLARKSON, 2003), que origina vários produtos secundários. Estes produtos são principalmente aldeídos, com capacidade para aumentar o dano oxidativo (UCHIDA, 2000).

O malondialdeído (MDA) é um dos mais conhecidos produtos secundários da peroxidação lipídica, resultante da exposição de membranas biológicas a radicais livres, podendo ser utilizado como indicador da injúria de membranas celulares. A quantificação de MDA em biomateriais é amplamente utilizada como biomarcador do estresse oxidativo (ESTERBAUER et al., 1991).

O tempo de vida longo e a alta reatividade permitem ao MDA agir tanto dentro, quanto fora das células, interagindo com outras biomoléculas como ácidos nucleicos e proteínas, frequentemente levando a danos irreversíveis sobre o delicado mecanismo de funcionamento da célula (DEL RIO, 2005). O contínuo dano oxidativo leva a destruição de membranas, ricas em ácidos graxos poliinsaturados, contribuindo para a diminuição da sua fluidez e para a injúria celular (HERSHKO, 1989). Ocorre perda da seletividade na troca iônica, inativação de enzimas e proteínas de transporte da membrana e liberação do conteúdo de organelas, como as enzimas hidrolíticas dos lisossomos. Adicionalmente, a oxidação de lipídios no sangue agride as paredes das artérias e veias, facilitando o acúmulo destes lipídios, com consequente aterosclerose, podendo causar trombose, infarto ou acidente vascular cerebral (BARREIROS, 2006).

Apesar disto, como na formação de RLs e espécies reativas, a peroxidação lipídica pode ser um processo fisiológico nem sempre prejudicial,

capaz de induzir a morte da célula, uma vez que participa da resposta inflamatória liberando ácido araquidônico e, subsequentemente, prostaglandinas e distintos endoperóxidos (JAMIESON, 1989). Todavia, a excessiva liberação destes produtos durante o dano oxidativo pode causar edema celular, modificações na permeabilidade vascular, quimiotaxia e danos teciduais (BLAKE et al., 1987), implicando, por exemplo, na patogênese da aterosclerose (VAGIMIGLI et al., 2003).

O alvo celular primário do estresse oxidativo pode variar dependendo do tipo celular, dos níveis absolutos de oxidantes produzidos, das espécies de EROS geradas, do sítio de geração (intra ou extracelular) e da proximidade do oxidante à estrutura celular. A extensão do dano também dependerá de múltiplos fatores.

As proteínas são um dos principais alvos celulares dos EROS e de produtos do estresse oxidativo, por constituírem importantes componentes de muitos sistemas biológicos e por combaterem de 50 a 75% de EROS como a OH^{\bullet} (DAVIES, 1999), sendo também modificadas por um vasto número de reações envolvendo EROS (NYSTRÖM, 2005). Algumas modificações protéicas provocadas por agentes oxidantes podem ou não provocar perda funcional e alterações estruturais em proteínas, originando oxidação reversível ou irreversível, respectivamente (LEVINE et al., 2000; DALLE-DONE et al., 2005).

O ácido delta-aminolevulínico desidratase (δ -ALA-D) é uma metaloenzima ligada ao zinco, que tem atividade ligada aos grupamentos tiólicos da sua estrutura (FUKUDA et al., 1998). É uma enzima essencial em muitos organismos, como componente da rota de biossíntese do heme, catalisando a condensação de duas moléculas de ácido δ -aminolevulínico (ALA) para formar o composto monopirrólico porfobilinogênio. Assim, por participar na biossíntese de moléculas tetrapirrólicas, tem ação na constituição de grupos prostéticos de importantes proteínas fisiológicas como a hemoglobina e citocromos (SASSA, 1998).

A δ -ALA-D é sugerida como um biomarcador de estresse oxidativo, uma vez que sua atividade é altamente sensível à presença de elementos pró-oxidantes, os quais podem oxidar seus grupamentos $-\text{SH}$ (BOLZAN et al., 2002; SOARES et al., 2002), levando a uma atividade enzimática reduzida (ROCHA et al., 2004).

Em patologias humanas, tais como câncer (GONÇALVES et al., 2005), diabetes (FERNANDEZ-CUARTERO et al., 1999) e insuficiência renal crônica (FONTANELLAS et al., 2002) são relatadas diminuições de atividade da δ -ALA-D, ao mesmo tempo em que ocorrem danos oxidativos.

3.4. Antioxidantes

Para se proteger dos danos causados pelo estresse oxidativo, o organismo dispõe de um elaborado sistema de defesa antioxidante constituído por enzimas como catalase, superóxido dismutase, glutathione peroxidase, e numerosos antioxidantes não enzimáticos endógenos como a glutathione reduzida (GSH) e ubiquinona e micronutrientes como as vitaminas A, C, E, carotenóides e flavonóides (MAYNE, 2003; URSO & CLARKSON, 2003). Tais moléculas e proteínas são responsáveis por manter a homeostase entre a formação e a degradação de EROs, restaurando o balanço redox (FINDLAY et al., 2005).

Por definição, uma substância antioxidante é aquela capaz de diminuir ou inibir a oxidação, mesmo presente em baixas concentrações em relação a seu substrato. Desta forma, estes compostos têm como função proteger os sistemas biológicos contra os efeitos deletérios dos processos ou das reações que levam a oxidação de macromoléculas ou estruturas celulares. Isto implica que, os diferentes antioxidantes podem atuar em níveis e com modos de ação distintos (CAMPOS, 2005)

Frente à ação potencialmente lesiva das substâncias oxidantes, torna-se vital um delicado controle de sua produção e consumo dentro das células, ou seja, um fino balanceamento de sua concentração intra e extracelular. O que é possível graças à atividade dos antioxidantes que, removendo as substâncias reativas, as mantém em baixas concentrações (REILLY et al., 1991).

O mecanismo de ação dos antioxidantes é bem variado, desde a remoção do oxigênio do meio, varredura das EROS, sequestro dos metais catalisadores da formação de radicais livres, aumento da geração de antioxidantes endógenos ou mesmo a interação de mais de um mecanismo. Ainda conforme a ação sobre os radicais livres, o antioxidante pode ser denominado de “*scavenger*”, quando age transformando um radical livre em

outro menos reativo, ou “*quencher*”, quando consegue neutralizar completamente o radical livre através da absorção de toda a energia de excitação (BELLÓ, 2002).

As espécies reativas podem ser inativadas por sistemas antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos presentes na circulação sanguínea ou no interior das células. A superóxido dismutase (SOD), a catalase e a glutathione peroxidase (GPx) são enzimas antioxidantes intracelulares, as vitaminas C (ácido ascórbico) e E (α -tocoferol), glutathione reduzida (GSH) e albumina são antioxidantes não enzimáticos. (NAKAZAWA et al., 1996).

O sistema enzimático é a primeira linha de defesa antioxidante do organismo, evitando o acúmulo do ânion superóxido e do peróxido de hidrogênio. É formado por diversas enzimas, destacando-se a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPx) (BELLÓ, 2002).

Na Figura 1, etapa A, é possível observar que a SOD age transformando ânions superóxido em peróxido de hidrogênio, a qual é uma reação normal em pH fisiológico, porém muito acelerada na presença dessa enzima. A superóxido dismutase pode ocorrer de três formas, dependendo do metal associado à mesma: cobre (Cu) e zinco (Zn) no citoplasma dos eucariontes, manganês (Mn) na matriz mitocondrial e ferro (Fe) em bactérias (GILLHAM et al., 1997, SIES, 1997).

Outro antioxidante enzimático é a catalase, a qual possui a capacidade de transformar o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio (Figura 1, etapa B). Sua localização está nos peroxissomas, tendo por isto ação diminuída em órgãos como o coração, pulmão e o cérebro que possuem poucos peroxissomas. Nestes órgãos a ação antioxidante por esta enzima ocorre quando os radicais livres atingem a corrente sanguínea, através da catalase eritrocitária (GILLHAM et al., 1997, SIES, 1997).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) também pode ser desintoxicado pela glutathione peroxidase (GPx) (Figura 1, etapa C), localizada no citoplasma e na matriz mitocondrial. Sua ação ocorre através da redução do H_2O_2 e de hidropeptídeos orgânicos através da utilização da glutathione reduzida (GSH). A GPx ocorre em sua maioria associada ao selênio (Se), e seus principais locais de ação são fígado e eritrócitos, podendo ocorrer também no coração, pulmões

e músculos (GILLHAM et al., 1997, SIES, 1997). Desta forma, o sistema antioxidante enzimático diminui a formação de radicais hidroxila e, conseqüentemente a peroxidação lipídica (Figura 1; etapa D).

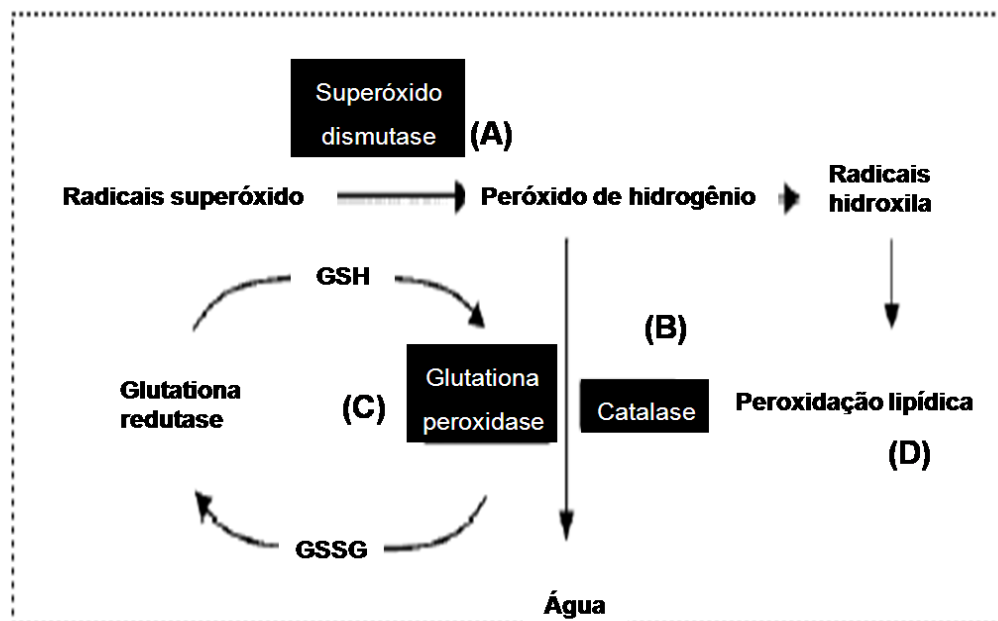


Figura 1 - Sistema antioxidante enzimático (Adaptado de SIES et al., 1972).

O sistema antioxidante não-enzimático é formado por antioxidantes hidrofílicos (GSH, vitamina C, indóis e catecóis) e lipofílicos (bioflavonas, vitamina E, carotenóides) (MAYNE, 2003; URSO & CLARKSON, 2003).

O sistema antioxidante exógeno é formado por antioxidantes hidrofílicos (vitamina C, indóis e catecóis) e lipofílicos (vitamina E, carotenóides, vitamina A) (MAYNE, 2003; URSO & CLARKSON, 2003). Dentre eles, as vitaminas lipossolúveis merecem destaque, uma vez que muitos estudos têm relatado que os carotenóides, tocoferóis (vitamina E) e retinol (vitamina A) apresentam função antioxidante, desempenhando um importante papel na defesa do organismo contra os danos causados pelo estresse oxidativo (MONAGHAN & SCHMITT, 1932; DI MASCIO et al., 1991; MILLER et al., 1993; PALACE et al., 1999; YOUNG & LOWE, 2001; ZHANG & OMAJE, 2001; TAPIERO et al., 2004; TAMIMI et al., 2004; SLUIJS et al. 2009).

A vitamina E é um componente muito importante para a defesa celular contra compostos que causam oxidação das moléculas celulares em

mamíferos, agindo como antioxidante pode prevenir a oxidação de várias formas: destruindo agentes oxidantes, ao agir como doador de hidrogênio para o radical peroxila, diminuindo a conversão de agentes oxidantes menos reativos a mais reativos, facilitando o reparo de danos causados pelos agentes oxidantes, providenciando um ambiente favorável para a atividade de outros antioxidantes (MILLER et al., 1993; ZHANG E OMAYE, 2001).

O retinol foi primeiramente descrito pelo trabalho de Monaghan e Schmitt (1932), os quais relatam que a vitamina A pode proteger lipídios de rancidez. A atividade antioxidante do retinol pode ser pelo fato dele atuar como um agente de quebra de cadeia oxidativa por se combinar com o radical peroxil, antes que esse radical possa propagar a peroxidação na fase lipídica da célula e gerar hidroperóxidos (PALACE et al., 1999). Tesoriere et al. (1993) sugerem melhor eficiência do retinol, comparado ao tocoferol, devido a sua curta cadeia de polímeros, que permite uma alta mobilidade e melhor oportunidade para interagir com o radical peroxil na membrana (DAS, 1989).

Além disso, Topinka et al. (2007) sugerem um efeito protetivo da vitamina A em condições de elevada exposição a hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Recentemente, Sram et al. (2009) mostraram em estudo conduzido com voluntários saudáveis de três países da Europa, que há uma associação inversa entre os níveis de vitamina A e aductos do DNA (os quais levam ao dano de DNA após ativação metabólica) e Ragin et al. (2010) mostraram essa mesma associação, em voluntários tabagistas.

Porém, atualmente muitos autores têm proposto um papel pró-oxidante do retinol em sistemas biológicos (GEILAN et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2009; ROEHRS et al., 2009). Oliveira e colaboradores relatam que o retinol induziu danos oxidativos a lipídios, proteínas e DNA, e em menor proporção, disfunção mitocondrial, através de um mecanismo envolvendo aumento do ânion superóxido, (OLIVEIRA et al., 2009). Roehrs et al. (2009), em estudo realizado com hemodialisados, relatam que níveis elevados de retinol na circulação atuam como pró-oxidantes, causando assim efeito adicional no processo de estresse oxidativo.

A principal atividade antioxidante dos carotenóides é a desativação do oxigênio singleto, que constitui uma forma altamente reativa do oxigênio

molecular, sendo que a velocidade para essa reação é superior à dos tocoferóis. Os carotenóides protegem as células de danos oxidativos provocados por RLs e por EROs que podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana, atacando lipídios, proteínas, carboidratos e DNA (SHAMI & MOREIRA, 2004), desempenhando assim, um importante papel na prevenção de doenças associadas ao processo de estresse oxidativo (RIBEIRO & SERAVALLI, 2004).

A proteção antioxidante é fornecida pelos carotenóides acíclicos, que possuem nove ou mais duplas ligações conjugadas (DI MASCIO et al., 1989). Esses carotenóides são capazes de seqüestrar EROs, como o radical peroxil e o oxigênio singleto, estabilizando o elétron desemparelhado do radical por ressonância. Ao combaterem EROs, podem interagir de três maneiras diferentes: transferência de elétrons, remoção de íons de hidrogênio, ou adição de espécies radicalares (YOUNG & LOWE, 2001).

Outros efeitos benéficos dos carotenóides incluem aumento da função do sistema imune (BENDICH, 1989), proteção da radiação solar (MATEWS-ROTH, 1990), e inibição do desenvolvimento de certos tipos de câncer (Nishino, 1998).

3.5. Justificativa

Existem poucos trabalhos científicos que correlacionam exposições a poluição atmosférica e os biomarcadores do estresse oxidativo em seres humanos, principalmente avaliando conjuntamente antioxidantes exógenos, como as vitaminas E, retinol e carotenóides. Desta forma, devido a escassez de trabalhos encontrados sobre esse assunto, estudos que contribuam para o melhor entendimento do possível envolvimento da exposição ambiental a poluição atmosférica, sistema antioxidante, exógeno e endógeno, e o estresse oxidativo são importantes.

4. MANUSCRITO:

“Possible association among biomarker of exposure to benzopyrene, inflammation and oxidative stress in patients with acute myocardial infarction.”

Submetido para publicação na revista *Science of the Total Environment*

Possible association among biomarker of exposure to benzo[a]pyrene, inflammation and oxidative stress in patients with acute myocardial infarction.

Fernando Freitas^{a,b}, Natália Brucker^{a,b}, Rachel Bulcão^{a,b}, Juliano Durgante^a,
Guilherme Bubols^{a,b}, Angela Moro^{a,b}, Mariele Charão^{a,b}, Marília Baierle^{a,b},
Sabrina Nascimento^{a,b}, Bruna Gauer^b, Elisa Sauer^{a,d}, Marcelo Zimmer^c, Flávia
Thiesen^c, Iran Castro^d, Paulo H. Saldiva^e, Solange C. Garcia^{a,d *}

^aToxicology Laboratory, Department of Clinical and Toxicological Analysis, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

^bPost-graduate Program of Pharmacy Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

^cToxicology Institute, Pharmacy Faculty, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

^dInstitute of Cardiology, University Cardiology Foundation, Porto Alegre, RS, Brazil.

^eDepartment of Pathology, College of Medicine, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil.

*Author to whom correspondence should be addressed: Prof Dr SC Garcia; Toxicology Laboratory, Department of Clinical and Toxicology Analysis, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil; Phone +55 51 33085297; Fax: +55 51 33085437; E-mail: solange.garcia@ufrgs.br.

Abstract

Several studies have shown an association of air pollution and the development of cardiovascular diseases, especially considering the existence of particulate matter in air pollution. Recently, the role of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on the inflammation has been described mostly by *in vitro* studies. Benzo[a]pyrene is one of the most important PAHs which is biotransformed into the urinary metabolite 1-hydroxypyrene. In this context, the present work evaluated the possible association among exposure to benzo[a]pyrene, inflammation and oxidative stress biomarkers in acute myocardial infarction (AMI) patients. 58 subjects diagnosed with AMI and 41 healthy controls were sub-divided into smokers and non-smokers. Urinary excretion of 1-hydroxypyrene (1-OHP) was quantified by HPLC. Hematological and biochemical parameters, inflammatory biomarker (hs-CRP) and oxidative stress biomarkers (MDA, SOD, δ -ALA-D, CAT, GPx and exogenous antioxidants) were determined in blood. We report increases of hs-CRP, MDA levels, CAT and GPx enzymatic activities and also increased 1-OHP urinary excretion in post-infarction patients in relation to controls. Besides, a decrease in β -carotene levels and SOD activities for smokers and non-smokers were found. δ -ALA-D activities were also decreased, but only in non-smokers ($p < 0.05$). COHb was not significantly altered in the studied groups. MDA ($r = 0.326$, $p = 0.01$) and CAT ($r = 0.474$, $p = 0.001$) were positively correlated to the 1-OHP urinary excretion in non-smokers. On the other hand, δ -ALA-D ($r = -0.353$, $p = 0.01$) and β -carotene ($r = -0.309$; $p = 0.05$) were negatively correlated to the urinary excretion of 1-OHP in non-smokers. Our findings demonstrate that AMI patients have higher hs-CRP levels and that exposure to BaP in non-smokers was correlated with oxidative damage and depletion of exogenous antioxidant. Thus, BaP could at least partially be responsible for the process that triggers AMI, considering its pro-oxidant and pro-inflammatory effects which may contribute to the development of atherosclerosis; however, this mechanism should be confirmed and fully elucidated in future animal studies.

Keywords: air pollution, 1-hydroxypyrene, lipid peroxidation, inflammation.

Evidências e estudos anteriores *in vitro* indicam que o benzo[a]pireno induz a inflamação que também está associado ao estresse oxidativo. Além disso, o MP da poluição atmosférica pode incorporar vários HPAs, especialmente o BaP (Pope et al., 2002). Neste contexto, este trabalho estudou as associações do biomarcador de exposição ao BaP com o dano oxidativo e inflamação em pacientes com infarto agudo do miocárdio. Deve-se notar que o número de pacientes infartados submetidos ao tratamento com fármacos tais como estatinas em nosso estudo foi maior em relação aos controles, o que pode explicar a diminuição significativa nos níveis de triglicerídeos. A lesão do miocárdio tem sido associada com uma leucocitose (Goldman e Ausiello, 2010) justificando o aumento dos leucócitos encontrado nos pacientes infartados.

A maioria dos estudos anteriores sugeriram que a quantificação de urinária 1-HP pode ser usado como um biomarcador representativo para avaliar HAP exposição, mais especificamente, a exposição a BAP (Bergamaschi et al, 2005;. Campo et al, 2010; Castaño- Vinyals et al, 2004; Jongeneelen et al, 1988; Liu et al, 2010). Por conseguinte, este biomarcador está sendo usado também no biomonitoramento de exposição humana à poluição do ar (Hansen et al, 2008; Martínez-Salinas et al, 2010). Um aumento no nível 1-HP urinário foi encontrado para fumantes e não fumantes, indicando que a poluição do ar é uma fonte possível de exposição ao BaP para os não fumantes após o infarto, considerando que é uma fonte comum para ambos os grupos fumantes e não fumantes. Observamos que os fumantes apresentaram valores muito mais elevados de 1-HP urinário em relação aos não-fumantes, indicando que os fumantes apresentam uma fonte adicional de exposição BaP, hábito de fumar (Wang et al., 2011), mas também tendo maior exposição ao benzo [a] pireno

para os infartados não-fumantes, o que é, provavelmente, devido à poluição do ar ambiental. Por outro lado, a COHb não demonstrou especificidade suficiente para ser adotado como um biomarcador de exposição ambiental (Bono et al., 2007), considerando a ausência de diferença significativa entre os controles e pacientes com IAM, mas apenas entre fumantes e não fumantes. Um estudo realizado com ratos expostos a benzo [a] pireno demonstrou que o BaP foi capaz de induzir danos as proteínas e ao DNA, provavelmente como resultado da formação de metabólitos reativos do BaP e espécies reativas do oxigênio (Kim e Lee, 1997).

Neste estudo, os pacientes pós-infarto apresentaram danos lipídico significativamente maiores em relação aos controles e também que a excreção do 1-HP é maior em pacientes fumantes e não-fumante com IAM. Além disso, pacientes pós-infarto agudo do miocárdio apresentaram uma inibição na atividade da δ -ALA-D em relação aos controles. A enzima δ -ALA-D tem sido sugerido como um biomarcador de estresse oxidativo, porque é altamente sensível à oxidação -SH por elementos pró-oxidantes (Soares et al., 2002), conduzindo a redução da atividade enzimática (Rocha et al., 2004). Trabalhos anteriores do nosso grupo também têm demonstrado que δ -Ala-D foi diminuída quando o stress oxidativo foi aumentado (Moro et al, 2010; Roehrs et al, 2009).

Nossos resultados também demonstraram uma diminuição da superóxido dismutase (SOD) em pacientes pós-infarto. SOD é considerada uma enzima chave na depleção de radicais superóxido, que são considerados EROs primários, uma vez que são conhecidos por culminar na formação de novas espécies reativas, a EROs assim chamada secundária, tais como os radicais hidroxila e peróxido de hidrogênio (Moro et al, 2010; Kiruthiga et al,

2007). Uma vez que a SOD é ativada, é conhecida por aumentar a formação de H_2O_2 como um resultado da atividade enzimática, na tentativa de reduzir os níveis de radicais superóxido. No nosso estudo, a diminuição da atividade SOD pode ser uma consequência de uma ativação enzimática prévia, que foi responsável por diminuir níveis de radicais superóxido, resultando assim na formação de H_2O_2 . Neste caso, é provável que não conseguimos detectar a ativação SOD uma vez uma diminuição da atividade enzimática já tinha sido estimulada por diminuição ânion superóxido. Por outro lado, observou-se uma ativação de ambas enzimas CAT e GPx que poderiam estar ligadas a uma tentativa de limpar e inativar EROs secundários, tal como peróxido de hidrogénio, por um sistema antioxidante compensatória (Fridovich, 1986; Liochev e Fridovich, 1994) .

Além disso, alguns estudos têm sugerido que os carotenóides sequestram radicais peroxila por influxo de hidrogénio e de transferência de adição ou de elétrons (Burton e Ingold, 1984; Liebler e McClure, 1996; Woodall et al, 1997). Neste contexto, β -caroteno é um antioxidante não-enzimático exógeno importante que pode atuar por eliminação de radicais livres e espécies reativas de oxigénio antes que eles exercem os seus efeitos deletérios (El-Agamey et al., 2004). Detectamos que os níveis de β -caroteno foram diminuídos em pacientes com infarto agudo do miocárdio em comparação com os controles, mas não houve alteração significativa de outros antioxidantes exógenos analisados nestes pacientes.

Os níveis séricos hsCRP foram aumentados em pacientes pós-infarto, indicando que este biomarcador de inflamação está ligado ao infarto agudo do miocárdio. Apesar do aumento desta proteína inflamatória, nenhuma correlação

com a excreção de 1-HP urinário foi encontrado. Neste cenário, o envolvimento de outras citocinas inflamatórias e moléculas de adesão poderia ser investigada e, possivelmente, correlacionadas com a excreção 1-HP.

A exposição ao benzo [a] pireno da poluição do ar, foi observada pelo aumento do seu metabólito o 1-HP, e suas correlações com importantes biomarcadores de estresse oxidativo, como MDA e δ -ALA-D, antioxidantes não enzimáticos como β -caroteno e do sistema antioxidante enzimático catalase são relatados em nosso estudo.

De acordo com as várias análises de regressão linear realizadas neste trabalho, os níveis urinários de 1-HP explicam a peroxidação lipídica, o aumento da atividade da catalase, e também explicam a inibição da atividade de enzima δ -Ala-D e diminuição dos níveis de β -caroteno em pacientes pós-infarto. Portanto, para nosso conhecimento, este é o primeiro estudo da associação entre poluição do ar e danos oxidativos a proteínas e lipídios, juntamente com alterações nos compostos antioxidantes, como carotenóides e catalase, em pacientes com IAM. Estes resultados corroboram estudos experimentais, sugerindo o envolvimento de BAP, em mecanismos de formação de espécies reativas, que pode estar associado com danos lipídicos e proteicos (Gao et al, 2011;. Gentner e Weber, 2011;. Park et al, 2009).

Apesar do fato de que os efeitos cancerígenos e mutagênicos do benzo [a] pireno estariam bem documentados na literatura, foram encontradas uma associação de inflamação com o estresse oxidativo e BaP da poluição do ar em pacientes com IAM neste trabalho, porém será necessário realizar mais estudos em diferentes populações que corroborem com os resultados aqui apresentados.

6. CONCLUSÃO

Nossos resultados indicam que indivíduos não-fumantes após o infarto quando, expostos ao benzo [a] pireno da poluição do ar, apresentam uma série de alterações bioquímicas em importantes enzimas e vias de sinalização que estão associados à patogênese do infarto agudo do miocárdio (IAM). O biomarcador de exposição ao BaP presente na poluição ambiental, o 1-hidroxi pireno, parece ser uma ferramenta importante na avaliação da exposição à poluição do benzo[a]pireno em indivíduos que sofreram infarto agudo do miocárdio, e permitiu diversas correlações entre os mecanismos subjacentes de danos oxidativos e a exposição ao BaP presente na poluição do ar.

Em resumo, os diferentes biomarcadores de dano oxidativo podem estar associados com a exposição ao BaP em pacientes com IAM. Um aumento na PCRus também foi encontrado em pacientes infartados. No entanto, a investigação de novos biomarcadores inflamatórios justifica-se, a fim de compreender como a ativação da inflamação é influenciada pela exposição ao BaP na poluição atmosférica e no início do infarto agudo do miocárdio.

7. REFERÊNCIAS

AMES, B.N.; SHIGENAGA, M.K.; HAGEN, T.M. Oxidants, and the degenerative diseases of aging. **Proceedings of the National Academy of Science of USA**, v. 90, p. 7915–7922, 1993.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-126, 2006.

BEAL, M. F. Aging, energy, and oxidative stress in neurodegenerative diseases. **Annals of Neurology**, v. 38, p. 357-366, 1995.

BELLÓ, A. **Dano oxidativo e Regulação Biológica pelos Radicais Livres**. Porto Alegre: Editora Ulbra, p. 15-19, 2002.

BENDICH, A. Carotenoids and the immune response. **Journal of Nutrition**, v. 119, p. 112-115, 1989.

BIESALSKI, H. K. Free radical theory of aging. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 5, n. 1, p. 5-10, 2002.

BLAKE, D. R.; RALLEN, R. E.; LUNEC, J. Free radicals in biological systems - a review oriented to inflammatory processes. **British Medical Bulletin**, v. 43, n. 2, p. 371-385, 1987.

BOFFETTA, P.; JOURENKOVA, N. & GUSTAVSSON, P.. Cancer risk from occupational and environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. **Cancer Causes & Control**, v. 8, p. 444-472, 1997.

BOLZAN, R. C. et al. Delta-aminolevulinatase inhibition by phenyl selenoacetylene: effect of reaction with hydrogen peroxide. **Pharmacology & Toxicology**, v.90, n. 4, p. 214-219, 2002.

CAMPOS, M. A. G. et al. Estado nutricional e fatores associados em idosos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 52, n. 4, p. 214-221, 2005.

CANÇADO, J. E. D. et al. Repercussões clínicas da exposição à poluição atmosférica. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 32, p. 5-11, 2006.

COLOMBINI, M. P. Air pollution and its impact on the cardiovascular system. **Einstein**, v. 6, p. 221-226, 2008.

DALLE-DONNE, I. et al. Proteins as biological markers of oxidative/nitrosative stress in diseases. The contribution of redox-proteomics. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 24, p. 55-99, 2005.

DAS, N. P. Effects of vitamin A and its analogs on nonenzymatic lipid peroxidation in rat brain mitochondria. **Journal of Neurochemistry**, v. 25, p. 585-588, 1989.

DAVIES, M. J. Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in study of human disease. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 27, p. 1151-1161, 1999.

DE PAULA, U. et al. Effects of air pollution on blood pressure and heart rate variability: a panel study of vehicular traffic controllers in the city of Sao Paulo, Brazil. **European Heart Journal**, v. 6, n. 2, p. 193-200, 2005.

DEL RIO, D.; STEWART, A. J.; PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 15, n. 4, p. 316-328, 2005.

Di MASCIO, P.; MURPHY, M.E.; SIES H. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, p. 194S-200S, 1991.

ESTERBAUER, H.; SCHAUR, R. J.; ZOLLNER, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. **Free Radical Biology & Medicine**, v.11, p.81-128, 1991.

FERNANDEZ-CUARTERO. B. et al. Delta aminolevulinate dehydratase (ALA-D) activity in human and experimental diabetes mellitus. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 31, p. 479-488, 1999.

FINDLAY, V. J.; TAPIERO, H.; TOWNSEND, D. M. Sulfiredoxin: a potential therapeutic agent? **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 59, p. 374-379, 2005.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, p. 239-247, 2000.

FONTANELLAS, A. et al. Erythrocyte aminolevulinic acid dehydratase activity as a lead marker in patients with chronic renal failure. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 40, n. 1, p. 43-50, 2002.

FUKUDA, H.; PAREDES, S.; BATLLE, A. M.;. Active site histidine in pig liver aminolevulinic acid dehydratase modified by diethylpyrocarbonate and protected by Zn²⁺ ions. **Comparative Biochemistry and Physiology B**, v. 1, p.285-291, 1998.

GEILAN, D.P. et al. Retinol increases catalase activity and protein content by a reactive species-dependent mechanism in Sertoli cells. **Chemico-Biological Interactions**, v. 174, p. 38-43, 2008.

GILLHAM, B.; PAPACHRISTODOULOU, D. K.; THOMAS, J. H. **Wills' biochemical basis of medicine**. 3. ed. Oxford: Reed Educational and Professional Publishing Ltd, 1997. p. 196-202.

GOLDMAN LEE, DENNIS AUSIELLO Cecil-Tratado de Medicina Interna. 23 th ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

GONÇALVES, T. L. et al. Involvement of oxidative stress in the pre-malignant and malignant states of cervical cancer in women. **Clinical Biochemistry**, v. 38, p. 1071-1075, 2005.

GUTTERIDGE, J.M.; HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. **Annals of New York Academy Science**, v. 899, p. 136-147, 2000.

HALLIWELL, B. Free radicals, antioxidants, and human diseases: curiosity, cause or consequence? **The Lancet**, v. 344, p. 721-724, 1994.

HERSHKO, C. Mechanism of iron toxicity and its possible role in red cell membrane damage. **Seminars in Hematology**, v. 26, n. 4, p. 277-285, 1989.

IARC, 2010. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Air Pollution, Part 1. Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related industrial exposures, vol. 92. World Health Organization, Lyon, France.

JAMES, S. A.; DE ALMEIDA-FILHO, N.; KAUFMAN, J. S.. Hypertension in Brazil: a review of the epidemiological evidence. **Ethnicity & disease**, v. 1, p. 91-98, 1991.

JAMIESON, D. Oxygen toxicity and reactive oxygen metabolites in mammals. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 7, n. 1, p. 87-108, 1989.

JUNQUEIRA, V. B. C.; RAMOS, L. R. Estresse Oxidativo. In: RAMOS, L. R.; NETO, J. T. **Geriatría e gerontologia**. Barueri : Manole Ltda, 2005. Cap. 24, p. 315-324.

KNAAPEN, P. et al. The environmental carcinogen benzo[a]pyrene induces expression of monocyte-chemoattractant protein-1 in vascular tissue: a possible role in atherogenesis, **Mutation Research**, v. 1, p. 31-41, 2007.

LEVINE, R. L.; MOSKOVITZ, J.; STADTMAN, E. R. Oxidation of methionine in proteins: roles in antioxidant defense and cellular regulation. **IUBMB Life**, v. 50, p. 301-307, 2000.

LOGAN, WP. Mortality in the London fog incident, 1952. **Lancet** v. 1, p. 336-338, 1953.

MATHEWS-ROTH, M.M.. Plasma concentration of carotenoids after large doses of beta-carotene. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 52, p. 500-501, 1990.

MAYNARD, R.L.; WALLER, R. Carbon monoxide. In: Air Pollution and Health. **Academic Press**. New York 1999, Cap. 33, p. 749-796.

MAYNE, S. T. Antioxidants nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. **The Journal of Nutrition**, v. 133, p. 933-940, 2003.

McGRATH, L. T. et al. Oxidative stress in erythrocyte membrane fluidity in patients undergoing regular dialysis. **Clinica Chimica Acta**, v. 235, p. 179-188, 1995.

MILLER, J. K.; SLEBODZINSKA, E. B.; MADSEN, F. C. Oxidative stress, antioxidants and animal function. **Journal Dairy Science**, v.76, n.9, p.2812-2823, 1993.

MONAGHAN, B. R.; SCHMITT, F. O. The effects of carotene and of vitamin A on the oxidation of linoleic acid. **Journal of Biological Chemistry**, v. 96, p. 387-395, 1932.

MORENA, M. et al. Convective and diffusive losses of vitamin C during haemodiafiltration session: a contributive factor to oxidative stress in haemodialysis patients. **Nephrology Dialysis and Transplantation**, v. 17, p. 422-427, 2002.

NAKAZAWA, H.; GENKA C. H.; FUJISHIMA M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. **Japanese Journal of Physiology**, v. 46, p.15-32, 1996.
NYSTRÖM, T. Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence. **The EMBO Journal**. v. 24, p. 1311-1317, 2005.

OLIVEIRA, M.R. et al. Evaluation of the effects of vitamin A supplementation on adult rat substantia nigra and striatum redox and bioenergetic states. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 33, p. 353-362, 2009.

PALLACE, V.P. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, p.746-761, 1999.

POPE, C. A. et al. Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. **The Journal of the American Medical Association**, v. 287, p. 1132-1141, 2002.

RAGIN, C. et al. Pooled analysis of studies on DNA adducts and dietary vitamins. **Mutation Research**, v. 705, p. 77-82, 2010.

REILLY, P. M.; SCHILLER, H. J.; BULKLEY, G. B. Reactive oxygen metabolites in shock. **Scientific American Inc**, v. 8, p. 1-28, 1991.

RIBEIRO, E.P.; SERAVALLI, A.G. **Química dos Alimentos**. Instituto Mauá de Tecnologia. Editora Edgard Blucher Ltda, Primeira Edição, São Paulo, p. 155-157, 2004.

ROCHA, J. B. T. et al. Effects of group 13 metals on porphobilinogen synthase in vitro. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 200, p. 169-176, 2004.

ROEHRS, M. et al. The plasma retinol levels as pro-oxidant/oxidant agents in haemodialysis patients. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 24, n. 7, p. 2212-2218, 2009.

SASSA, S. ALA-D Porphyrin. **Seminars in Liver Disease**, v.18, p. 95-101, 1998.

SHAMI, N.J.I.E.; MOREIRA, E.A.M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, v.17, p.227-236, 2004.

SIES, H. Biochemistry of oxidative stress. **Angewandte Chemie**, v. 25, n. 12, p. 1058-1071, 1986.

SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Experimental Physiology**, v. 82, n. 2, p. 291-295, 1997.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, p. 1315S-1321S, 1995.

SLUIJS, I. et al. Dietary carotenoid intake is associated with lower prevalence of metabolic syndrome in middle-aged and elderly men. **Journal of Nutrition**, v. 139, p. 987-992, 2009.

SOARES, J. C. M.; FOLMER, V.; ROCHA, J. B. T. Influence of dietary selenium supplementation and exercise on thiol-containing enzymes in mice. **Nutrition**, v. 19, p. 627-632, 2002.

SRAM, R.J. et al. Effect of vitamin levels on biomarkers of exposure and oxidative damage—The EXPAH study. **Mutation Research**, v. 672, p. 129–134, 2009.

TAMIMI, R.M. et al. Plasma carotenoids, retinol, and tocopherols and risk of breast cancer. **American Journal of Epidemiology**, v. 161, p. 153-160, 2005.

TAPIERIO, H.; TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 58, p. 100-110, 2004.

TESORIERE, L. Antioxidant activity of all-trans-retinol in homogenous solution and phosphatidylcholine liposomes. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.307, p. 217-223, 1993.

TOPINKA, J. Et al. Biomarkers of air pollution exposure—A study of policemen in Prague. **Mutation Research**, v. 624, p. 9–17, 2007.

UCHIDA, K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 28, p. 1685-96, 2000.

URSO, M. L.; CLARKSON, P. M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. **Toxicology**, v. 189, p. 41-54, 2003.

VAGIMIGLI, M. et al. Endothelial dysfunction in acute and chronic coronary syndromes: evidence for a pathogenetic role of oxidative stress. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 40, p. 255-261, 2003.

YOUNG, A.; LOWE, G.M. Antioxidant and Prooxidant Properties of Carotenoids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 385, p. 20-27, 2001.

ZANOBETTI, A. The effect of particulate air pollution on emergency admissions for myocardial infarction: A multicity case-crossover analysis. **Environ Health Perspect**, v. 113, n. 8, p. 978-982, 2005.

ZHANG, P.; OMAJE, S. T. β -Carotene: interactions with α -tocopherol and ascorbic acid in microsomal lipid peroxidation. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.12, n.1, p.38-45, 2001.

ANEXO I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu,.....
..... data de nascimento/...../....., sexo,
R.G:....., fui convidado(a) pelos professores Dr. Iran Catro (FUC) e Prof^a. Dr^a. Solange Cristina Garcia (UFRGS) a fazer parte de um trabalho científico intitulado “**AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL DOS EFEITOS TOXICOLÓGICOS DA POLUIÇÃO AMBIENTAL SOBRE A SAÚDE HUMANA**”.

Neste trabalho serão realizados exames clínico-laboratoriais com o objetivo de avaliar os níveis de vitaminas (substâncias capazes de impedir a ação dos radicais livres, que podem causar doenças). Além de analisar outros parâmetros que possam ser relacionados a exposição ambiental. Além destes exames serão realizadas entrevistas com questionários sobre o uso de medicamentos e o estado de saúde dos indivíduos. Fui esclarecido que minha participação é de livre e espontânea vontade e que caso aceite, será realizada uma coleta de sangue venoso (10mL) mínimo de risco já conhecido para esta técnica sem custo para o doador, além de uma amostra de urina (50mL)

Estou ciente de que receberei os resultados dos exames sem custo, mas não receberei nenhuma outra forma de pagamento e que poderei desistir de fazer parte do trabalho a qualquer momento, sem qualquer tipo de constrangimento, restrições ou conseqüências.

Eu terei garantia da não identificação e do caráter confidencial dos resultados. Terei garantia de acesso, em qualquer etapa da pesquisa, aos profissionais responsáveis pela mesma, para esclarecimento de eventuais dúvidas acerca de procedimentos, riscos, benefícios, contatando a professora Dra. Solange Cristina Garcia, responsável pelo projeto.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas por mim, descrevendo o estudo.

Concordo, voluntariamente, em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer hora, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

Porto Alegre, ___ de _____ de 201_.

Assinatura do paciente ou responsável

Assinatura de um dos responsáveis pela pesquisa

QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO

Data: ___/___/___

IDENTIFICAÇÃO:Nome:-
_____Endereço: _____ **Bairro:**
_____Telefone: _____ Escolaridade:
_____Idade: _____ Data de nascimento: ___/___/___ Estado civil:
_____**DIAGNÓSTICO:** _____**DADOS GERAIS:**

1) Profissão: _____

2) Tempo que exerce a função: _____

3) Local de Trabalho (Bairro): _____

4) Número de horas diárias de permanência no trabalho? _____

5) Medicamentos? () Sim () Não Qual? _____

6) tempo uso/frequência: _____

7) Polivitamínicos? () Sim () Não Qual? _____

8) tempo uso: _____

9) Doença crônica? () Sim () Não

() Hipertensão arterial () AVC

() Infarto do miocárdio () Diabetes mellitus

() Outros: _____

10) Frequência/episódios: _____

11) Apresenta histórico familiar de doença? () Sim () Não

Hipertensão arterial AVC Infarto do miocárdio Diabetes mellitus Outros: _____**ALTERAÇÕES RESPIRATÓRIAS E CARDIOVASCULARES**

| | Frequência (*) | Estação do ano | Tratamento | Observações |
|---------------------------|-------------------|-------------------|------------|-------------|
| Rinite | | | | |
| Sinusite | | | | |
| Gripes/resfriados | | | | |
| Dores de garganta | | | | |
| Tosse | | | | |
| Pigarro | | | | |
| Bronquites | | | | |
| Asma | | | | |
| Pneumonia | | | | |
| Falta de ar | | | | |
| Palpitação | | | | |
| Dor no peito | | | | |
| Tonturas | | | | |
| Escurecimento visão | | | | |
| Dores de cabeça | | | | |
| Enxaqueca | | | | |
| Convulsões | | | | |
| Perda de sensibilidade | | | | |
| Formigamento | | | | |
| Ardência nos olhos | | | | |
| Outros | | | | |

(*) **F** = frequentemente **R** = raramente **N** = nunca**HÁBITOS DE VIDA****Tabagismo:**

Fumante? () Fumante () Ex-fumante () Nunca fumou

34) Se fumante, quantos cigarros por dia? _____

35) Com que idade começou a fumar? _____ anos

36) Se Ex-fumante, quantos cigarros por dia? _____

37) Há quanto tempo parou de fumar? _____ anos ____ meses

Etilismo:

38) Faz uso de bebidas alcoólicas? () Sim () Não

39) Qual a frequência, a quantidade e o tipo de bebida (por semana)?

—

40) Fez uso de bebidas alcoólicas nos últimos 2 dias? () Sim () Não

41) Qual? _____

Hábitos Alimentares:

42) Churrasco; Assador; () Sim () Não

43) Consumo mensal;

() Nenhuma () uma vez () duas vezes () três vezes ou mais

44) Chimarrão; () Sim () Não

Frequência/quantidade; _____

Atividade Física:

45) Pratica regularmente atividades físicas? () Sim () Não

46) Qual atividade você pratica?

() Caminhada () Corrida () Bicicleta () Futebol ()

Outro _____

47) Com que frequência e onde você pratica?

Submission Confirmation

Science of the Total Environment ^{25 jun}

para 00184060

Dear Dr Solange Garcia,

Your manuscript entitled "Possible association among biomarker of exposure to benzo[a]pyrene, inflammation and oxidative stress in patients with acute myocardial infarction" has been successfully submitted and is now being reviewed for possible publication in Science of the Total Environment (STOTEN). You will be informed of the outcome of the review process as soon as we get comments back from the referees. This should normally take 6-10 weeks. Meanwhile, if you have any questions regarding your paper, please feel free to contact me. Thank you.

With kind regards,

Science of the Total Environment

A manuscript number has been assigned - STOTEN-D-12-01866

||

Science of the Total Environment ^{26 jun}

para 00184060

Ms. Ref. No.: STOTEN-D-12-01866

Title: Possible association among biomarker of exposure to benzo[a]pyrene, inflammation and oxidative stress in patients with acute myocardial infarction
Science of the Total Environment

Dear Dr Solange Garcia,

Your submission entitled "Possible association among biomarker of exposure to benzo[a]pyrene, inflammation and oxidative stress in patients with acute myocardial infarction" has been assigned the following manuscript number: STOTEN-D-12-01866. The manuscript will either be assigned in due time to an editor/associate editor for further processing.

You may check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial System as an author. The URL is <http://ees.elsevier.com/stoten/>.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Damia Barcelo
Co Editor-in-Chief
Science of the Total Environment



INSTITUTO DE CARDIOLOGIA DO RIO GRANDE DO SUL
FUNDAÇÃO UNIVERSITÁRIA DE CARDIOLOGIA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Porto Alegre, 30 de abril de 2010.

Pesquisador Colaborador

Prof. Dr. Iran Castro

Coordenação

Prof. Dra. Solange Cristina Garcia

c/c

Divisão de Produção Científica

Unidade de Pesquisa

Sra. Maria Del Carmem Stefani

Nesta Instituição

Ref. Projeto de Pesquisa – UP nº 4333.09 encaminhado para apreciação e julgamento ao Comitê de Ética em Pesquisa do IC/FUC.

O Comitê de Ética em Pesquisa analisou o Projeto de Pesquisa “*Avaliação Clínico-Laboratorial dos Efeitos Toxicológicos da Poluição Ambiental sobre a Saúde Humana*”

Projeto de Pesquisa, de cunho interdisciplinar, apresenta uma proposta em toxicologia clínico-laboratorial, a qual pretende analisar os níveis de poluentes que indivíduos estão expostos ambientalmente, avaliando os possíveis reflexos desta exposição para o sistema cardiovascular, bem como a sua relação com o estresse oxidativo, na tentativa de obter informações clínicas e laboratoriais qualificadas sobre os efeitos da poluição ambiental na saúde humana que possam ser fundamentais na elaboração de políticas voltadas à melhoria das questões relacionadas à poluição e a saúde.

Parecer: Projeto Aprovado em 28 de abril de 2010.

Dr. Ari Tadeu Lúcio dos Santos
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa
IC/FUC