



## ESTRESSE OXIDATIVO NA CORRIDA: PAPEL DO TREINAMENTO E A INFLUÊNCIA DE DIFERENTES DISTÂNCIAS E INTENSIDADES

Elaine Cristina Laguna

Rodrigo Luiz Vancini

Claudio Andre Barbosa de Lira

### 1. Introdução

Radical livre pode ser definido como um átomo ou molécula com ao menos um elétron não pareado na órbita mais externa (Clarkson, Thompson, 2000). O não pareamento de elétrons na última camada confere a esses átomos e moléculas uma meia vida curta e alta reatividade a outras biomoléculas, principalmente proteínas, lipídeos e ácido desoxirribonucléico (DNA) (Matsubara, Ferreira, 1997; Bianchi, Antunes, 1999; Clarkson, Thompson, 2000; Schneider, de Oliveira, 2004).

Os radicais livres podem ser gerados por todas as células vivas aeróbias (Bianchi & Antunes, 1999; Cooper et al., 2002) sendo os principais o ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), o radical hidroperoxila ( $HO_2^{\cdot}$ ) e o radical hidroxila ( $HO^{\cdot}$ ) (Matsubara, Ferreira, 1997; Bianchi, Antunes, 1999; Clarkson, Thompson, 2000).

Existem, entretanto, moléculas altamente reativas, mas que não apresentam elétrons desparelhados na última camada e que dessa forma, não podem ser classificadas como radical livre. Estas moléculas são derivadas do metabolismo de oxigênio, sendo conhecidas como espécies reativas de oxigênio (EROs). Dentre as EROs podemos citar o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) (Ferreira, Matsubara, 1997; Bianchi, Antunes, 1999; Clarkson, Thompson, 2000).

Por outro lado, o nitrogênio e os íons metálicos, dentre eles o ferro e o cobre, também podem gerar espécies reativas de nitrogênio e oxigênio. Entre os íons metálicos, o ferro é o metal mais abundante no organismo e o que está biologicamente mais capacitado para gerar as EROs e catalisar as reações de oxidação das biomoléculas (Ferreira, Matsubara, 1999). As espécies reativas de

nitrogênio mais importantes são o óxido nítrico ( $\text{NO}^{\bullet}$ ), o dióxido de nitrogênio ( $\text{NO}_2^{\bullet}$ ) e o peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ) (Cooper et al, 2002).

As EROs geradas no organismo podem provir de diferentes locais, sendo as principais fontes: a mitocôndria, por onde o oxigênio que escapou da cadeia de transporte de elétrons pode extravasar para o sarcoplasma; o endotélio capilar, onde o processo de isquemia e reperfusão acontece durante exercício; as células inflamatórias mobilizadas para reparar o dano muscular ou tecidual e a auto-oxidação das catecolaminas, mioglobinas e hemoglobinas (Evans, 2000; Cooper et al, 2002).

A geração de EROs é comumente associada ao metabolismo de oxigênio mitocondrial cuja fosforilação oxidativa resulta na formação de adenosina trifosfato (ATP). Os substratos oxidativos originam-se na glicólise, no ciclo de Krebs e na cadeia de transporte de elétrons, sendo o  $\text{O}_2$  o aceptor final de elétrons (Finald, Lac, Filaire, 2006). Conforme citado por Halliwell (1999), 85 a 90% do oxigênio inspirado é utilizado pela mitocôndria na cadeia de transporte de elétrons e os 10 a 15% restantes são utilizados por diversas enzimas oxidases e oxigenases e por reações químicas de oxidação direta. Na parte terminal da cadeia de transporte de elétrons, a enzima citocromo oxidase remove um elétron de cada uma das quatro moléculas reduzidas de citocromo c, adicionando-os ao oxigênio para formar água, sendo esta reação catalisada pela coenzima Q (CoQ). Porém, de 2 a 5% do oxigênio inspirado é reduzido univalentemente, formando  $\text{O}_2^{\bullet-}$ . A formação de EROs pela mitocôndria é proporcional à atividade da cadeia de transporte de elétrons, mas esta não é proporcional ao consumo de oxigênio (Finald, Lac, Filaire, 2006).

O fenômeno de isquemia e reperfusão também é um importante fator no processo de produção de EROs. Este fenômeno pode ocorrer após um trauma ou durante o exercício físico. Durante o exercício, a circulação sanguínea é desviada para os músculos em atividade, enquanto outros tecidos podem sofrer uma hipóxia temporária que, após o exercício, recebem uma grande quantidade de oxigênio, o que pode favorecer a formação de EROs (Finald, Lac, Filaire, 2006). A xantina desidrogenase, enzima importante na conversão de purinas degradadas em ácido úrico, participa deste processo. Nos tecidos em hipóxia, a xantina desidrogenase pode ser convertida em xantina oxidase e, durante a reperfusão, na presença de xantina ou hipoxantina, ocorre a redução do oxigênio molecular a  $\text{O}_2^{\bullet-}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{HO}^{\bullet}$

(Finald, Lac, Filaire, 2006). A xantina oxidase também pode ser estimulada pela interrupção temporária das bombas de ATP dependentes de cálcio durante o exercício, o que aumenta a concentração intracelular de cálcio e ativa proteases dependentes de cálcio que estimulam a xantina oxidase (Schneider, de Oliveira, 2004).

No sistema imune, macrófagos e neutrófilos são encarregados de destruir microorganismos e partículas estranhas. Essas células produzem  $O_2^{\cdot-}$  através das reações de redução do sistema nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato oxidase (NADPH-oxidase) presente nos leucócitos, sendo que durante este processo são requeridas duas moléculas de  $O_2$ , reação conhecida como queima oxidativa, ou *burst oxidativo* (Finald, Lac, Filaire, 2006).

No sangue, a oxidação de hemoglobina, mioglobina e catecolaminas podem causar a formação de EROs. Durante o exercício, tanto a oxidação de hemoglobina como a de catecolaminas está aumentada. A mioglobina pode ser atacada por EROs durante o processo de isquemia e reperfusão ou pode sofrer auto-oxidação, assim como pode interagir com  $H_2O_2$  e formar novas EROs (Finald, Lac, Filaire, 2006).

As EROs são, portanto, produzidas naturalmente em nosso organismo através de processos metabólicos oxidativos que podem ser de extrema utilidade, como na ativação do sistema imunológico e da resposta inflamatória ou na detoxificação de drogas (Ferreira, Matsubara, 1997; Schneider, de Oliveira, 2004). Contudo, podem ocorrer vários eventos nocivos, como a apoptose de células saudáveis, o envelhecimento precoce, a alteração da função celular, o aparecimento de doenças degenerativas como a aterosclerose, o câncer, a doença de Alzheimer ou a de Parkinson, se houver um desequilíbrio entre a produção e a remoção dessas espécies, associado a uma falha do sistema de defesa antioxidante (Ferreira, Matsubara, 1997; Finald, Lac, Filaire, 2006).

Como o exercício pode aumentar o consumo de oxigênio e o fluxo de elétrons por meio da cadeia respiratória, promover alteração dos níveis de diferentes hormônios, redirecionar o fluxo sanguíneo para os músculos em atividade, causar microlesões teciduais e dependendo da intensidade causar uma imunossupressão, o presente texto tem por objetivo discutir as adaptações fisiológicas no sistema de pró-oxidantes e antioxidantes no organismo em decorrência do treinamento de corrida e

a influência de diferentes volumes e intensidades de treinamento na produção de estresse oxidativo.

## **2. Sistema de defesa antioxidante**

A produção contínua de EROs durante os processos metabólicos do organismo levou ao desenvolvimento de muitos mecanismos de defesa durante o processo evolutivo do organismo. O principal mecanismo de defesa do organismo contra a produção de EROs é feito pelos os antioxidantes que são responsáveis pela inibição, redução e remoção das lesões celulares causadas pelas mesmas (Bianchi, Antunes, 1999).

Um antioxidante pode ser definido como qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparado a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz (Bianchi, Antunes, 1999).

Os principais mecanismos de defesa antioxidantes ocorrem pela inibição das reações envolvendo íons metálicos; pela interceptação dos radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou pelas fontes exógenas como o ozônio, as radiações gama e ultravioleta, os medicamentos, a dieta e o cigarro; pelo reparo das lesões com a remoção de danos ao DNA e reconstituição das membranas celulares danificadas; pela adaptação do organismo em resposta a geração de EROs com aumento da síntese de enzimas antioxidantes (Bianchi, Antunes, 1999).

Os antioxidantes podem ser classificados em enzimáticos e não-enzimáticos. Os antioxidantes enzimáticos compreendem a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPX) (Ferreira, Matsubara, 1997). A SOD é a primeira linha de defesa contra as EROs por neutralizar a formação de  $O_2^{\cdot-}$  na mitocôndria e por neutralizar  $O_2^{\cdot-}$  e  $H_2O_2$  do citosol. O manganês é um importante cofator para a SOD mitocondrial enquanto o zinco e o cobre são importantes na SOD citosólica. A CAT está presente em todas as células, principalmente em peroxissomos, que usam oxigênio para converter  $H_2O_2$  em água e oxigênio. A GPX está presente na mitocôndria e no citosol, catalisando a reação da glutathione reduzida (GSH) com  $H_2O_2$  para formar glutathione oxidada (GSSG) e água (Finald, Lac, Filaire, 2006).

Dentre os antioxidantes não-enzimáticos destaca-se a vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), a vitamina C (ácido ascórbico), a vitamina A ( $\beta$ -caroteno), o selênio, a

glutathiona e o ácido úrico (Bianchi, Antunes, 1999; Clarkson, Thompson, 2000; Finald, Lac, Filaire, 2006).

A vitamina E é uma vitamina lipossolúvel agindo na bicamada lipídica, impedindo a propagação da peroxidação lipídica. Já a vitamina C é hidrossolúvel, agindo somente no citosol sendo capaz de neutralizar diversos tipos de EROs. No interior das células, a vitamina C age indiretamente, regenerando a forma ativa da vitamina E e da GSH após a reação com as EROs (Evans, 2000).

A vitamina A está presente em várias substâncias lipídicas e na membrana celular, neutralizando principalmente  $^1O_2$  e agindo em conjunto com a vitamina E e C. O selênio é um componente essencial da GPX (Clarkson, Thompson, 2000) enquanto que a glutathiona, substrato da GPX, pode agir diretamente contra as EROs ou ajudar a aumentar a capacidade antioxidante funcional da vitamina C e E (Finald, Lac, Filaire, 2006). A concentração plasmática de ácido úrico, produto final do metabolismo de purinas está aumentada no exercício físico intenso e pode se difundir para o músculo e protegê-lo contra o ataque de diversas EROs, formar complexos estáveis de íons metálicos, proteger eritrócitos, membranas celulares e DNA (Finald, Lac, Filaire, 2006).

Cada antioxidante tem, portanto, um papel específico no organismo e, assim, é possível que um antioxidante atue como protetor em determinado sistema, mas que falhe na proteção ou mesmo que aumente as lesões em outros sistemas ou tecidos (Bianchi, Antunes, 1999; Urso, Clarkson, 2003).

Quando ocorre um desequilíbrio entre a produção de EROs e a capacidade do sistema de defesa antioxidante em neutralizá-los, ocorre dano tecidual ou produção de compostos danosos aos tecidos, situação denominada estresse oxidativo (Bianchi, Antunes, 1999; Jenkins, 2000; Urso, Clarkson, 2003; Schneider, de Oliveira, 2004).

### **3. Detecção laboratorial do estresse oxidativo**

A detecção direta das EROs em sistemas biológicos é dificultada pelas concentrações extremamente baixas em que ocorrem (da ordem de  $10^{-11}M$ ), pelas altas velocidades de reação (Ferreira, Matsubara, 1997; Jenkins, 2000) e pelos métodos invasivos que são utilizados (Souza Jr et al, 2005). Medidas indiretas são, então, realizadas com o objetivo de estimar a produção de EROs por meio de

dosagem sanguínea, tecidual ou na urina (Urso, Clarkson, 2003). A maioria das investigações em humanos tem avaliado subprodutos da peroxidação lipídica como os dienos conjugados, os F2-isoprostanos, a quimioluminescência urinária, os peróxidos lipídicos e as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) como o malonaldeído (MDA), os subprodutos da peroxidação protéica (concentração de grupos carbonila), os subprodutos do dano ao DNA (8-hidroxideoxiguanosina – 8-OHdG), assim como os níveis dos antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos, com o intuito de inferir o estresse oxidativo induzido pelo exercício (Alessio et al, 2000; Clarkson, Thompson, 2000; Rádak et al, 2000; Mastaloudis et al, 2001; Cooper et al, 2002; Margaritis et al. 2003; Souza Jr et al, 2005; Finald, Lac, Filaire, 2006).

#### **4. Detecção laboratorial dos antioxidantes**

A atividade das enzimas antioxidantes (SOD, GPX e CAT) é comumente utilizada para verificar a capacidade de defesa do organismo contra a ação dos radicais livres e mostrar a importância do estresse oxidativo após a atividade física quando ocorre aumento da concentração de certas enzimas (considerado um processo adaptativo) ou quando há diminuição da sua concentração por serem utilizadas quando há estresse oxidativo (Finald, Lac, Filaire, 2006).

As vitaminas antioxidantes, a glutatona celular reduzida (GSH) e oxidada (GSSH) também são quantificadas para determinar o *status* antioxidante e para detectar alguma carência, porém deve-se ter cautela com os resultados, pois o treinamento pode alterar a distribuição de vitaminas nos tecidos e no plasma (Ferreira, Matsubara, 1997; Jenkins, 2000; Urso, Clarkson, 2003, Finald, Lac, Filaire, 2006).

Devido à dificuldade de se estimar cada antioxidante separadamente, vários métodos foram desenvolvidos com o intuito de determinar a capacidade antioxidante total de uma amostra biológica o que geralmente consiste de adicionar um pró-oxidante na amostra a ser analisada para determinar a capacidade de absorvência da ERO adicionada (Finald, Lac, Filaire, 2006).

Todos os métodos para avaliar o estresse oxidativo e o nível de antioxidantes em humanos devem ser usados com cautela devido às limitações como a falta de acurácia, a falta de especificidade e/ou a falta de validade. Recomenda-se que mais

de uma técnica seja empregada para fornecer uma melhor estimativa do estresse oxidativo (Clarkson, Thompson, 2000).

## **5. Exercício e a produção de EROs**

O interesse acerca dos mecanismos de geração de EROs durante o exercício aumentou significativamente a partir da demonstração de sua relação com o consumo de oxigênio (Dillard et al, 1978 *apud* Cooper et al, 2002).

No repouso, a velocidade de produção das EROs está dentro da capacidade de neutralização do sistema de defesa antioxidante. Porém, durante exercício de longa duração e de alta intensidade, o consumo de oxigênio corporal e a necessidade de oxigênio nos músculos em atividade podem aumentar de 10-20 até a 100-200 vezes, respectivamente. O aumento no consumo de oxigênio pode, então, causar um aumento na produção de EROs que o sistema de defesa antioxidante não está capacitado a combater, gerando desta forma o estresse oxidativo (Mastaloudis et al, 2001).

## **6. A influência da corrida de curta e de longa duração na produção de EROs**

Nas corridas de alta intensidade com duração inferior a 2 minutos, como as provas de 100, 200, 400 e 800 metros rasos, o organismo usa principalmente os fosfatos de alta energia estocados na célula e o sistema glicolítico láctico como vias metabólicas para ressíntese de ATP. À medida que o exercício se prolonga, a produção aeróbia de ATP passa a ser a via mais importante (McArdle, Katch, Katch, 1998) como ocorre em provas de 5 km, 10 km ou maratonas, por exemplo. Como as vias de produção de energia na corrida de curta e de longa duração são diferentes, a produção de EROs também é.

Neste trabalho assumiremos a corrida de curta duração, como aquele estímulo predominantemente anaeróbio com duração inferior a dois minutos e a corrida longa como um estímulo predominantemente aeróbio superior a dois minutos.

Na corrida de longa duração ocorre uma elevação da demanda de oxigênio em relação ao estado de repouso, com aumento do consumo de O<sub>2</sub> pela mitocôndria e do fluxo de elétrons através da cadeia respiratória, gerando uma maior produção de EROs. Entretanto, na corrida de curta duração a produção de EROs ocorre por

outros mecanismos, como por exemplo, pela ativação da xantina oxidase devido ao fenômeno da isquemia e reperfusão, a explosão respiratória dos macrófagos devido a processos inflamatórios, e a oxidação de catecolaminas e de ácido láctico (Kostaropoulos et al, 2006).

Kostaropoulos et al (2006) estudaram corredores especialistas em corridas de curta e longa duração para comparar o estado *redox* sanguíneo e observaram que apenas o consumo máximo de oxigênio e a CAT eram maiores nos corredores de longa distância, sem diferenças na capacidade antioxidante total, GSH, GSSG e TBARS. Urso e Clarkson (2003) sugerem que o nível de CAT é proporcional ao volume de treino semanal e seu aumento ocorre principalmente quando a GPX não é suficiente para neutralizar as EROs formadas, situação que pode ocorrer na atividade de longa duração, mas não no exercício predominantemente anaeróbio.

Um outro estudo, comparando maratonistas e velocistas, encontrou diferenças apenas na peroxidação lipídica, que foi maior em maratonistas, concluindo que a corrida de longa duração, mas não a de curta, poderia conduzir o organismo a uma falta de capacidade do organismo em suportar o estresse oxidativo por um longo tempo (Souza Jr et al, 2005).

Mazartico et al (1997), também estudando maratonistas e velocistas, encontraram níveis de malondialdeído (MDA) de repouso mais elevados nestes dois grupos de corredores quando comparados a indivíduos sedentários. Este estudo revelou que a SOD comportou-se de maneira semelhante nos maratonistas e velocistas, com elevação de seus níveis imediatamente após exercício. Já os níveis de MDA elevaram-se imediatamente após exercício nos maratonistas e somente 24 – 48 horas depois nos velocistas. A concentração de dienos conjugados e a atividade de GPX aumentaram somente nos velocistas e a atividade de CAT aumentou 24 – 48 horas após o exercício somente nos maratonistas. A diferença na resposta dos produtos da peroxidação lipídica e das enzimas antioxidantes nos maratonistas e velocistas pode ser explicada pelos diferentes mecanismos de ativação e geração das EROs.

Machefer et al (2004) estudaram as alterações nos mecanismos de defesa antioxidante de corredores especialistas em longas distâncias que completaram uma prova com duração de sete dias, composta por seis etapas de corrida que variaram de 25 a 84 km. Setenta e duas horas após a prova, os atletas apresentaram

diminuição da capacidade de defesa antioxidante enzimática e não enzimática, com níveis significativamente menores de SOD, aumento de TBARS, retinol e carotenóides plasmáticos e aumento na atividade da GSH. A explicação sugerida pelos autores para a diminuição da atividade da SOD foi pelo efeito inibitório que o  $H_2O_2$ , substrato da SOD, exerce sobre a mesma, além de uma possível deficiência de cobre e zinco, cofatores da SOD que são perdidos no suor e na urina durante o exercício prolongado. Os autores sugerem que o retinol e os carotenóides tenham sido usados para neutralizar as EROs formadas e que o aumento da concentração da GSH após a competição pode sugerir a produção e a liberação dessa enzima por outros órgãos, como o fígado, para ajudar o músculo a combater o aumento das EROs

Entretanto, o estudo de Rádak et al (2000), com ultramaratonistas que participaram de uma corrida de quatro dias consecutivos com distâncias que variaram de 56 a 120 km por etapa, encontrou aumento no dano oxidativo ao DNA, medido pelo 8-OHdG, somente no primeiro dia de competição. A partir do segundo dia, os pesquisadores não observaram mais este aumento, o que sugere um processo adaptativo, com aumento da regulação do sistema antioxidante e maior resistência ao estresse oxidativo. Os pesquisadores sugeriram que esta adaptação pode ser muito rápida e ser estimulada pelo dano oxidativo ou por subprodutos gerados pelo dano.

Ainda em relação ao 8-OHdG, Huang et al (2000) encontraram que um estilo de vida saudável (maior ingestão de frutas, verduras e vitamina C, sem uso de tabaco e com atividade física regular) parece ter associação significativa com menor excreção urinária de 8-OHdG. Os pesquisadores demonstraram também que a atividade física regular pode estimular o sistema de defesa antioxidante e diminuir o dano oxidativo induzido pelo exercício.

## **7. Papel do treinamento na produção de EROs**

O treinamento físico é capaz de gerar adaptações diminuindo os possíveis efeitos deletérios que o exercício (Rádak et al, 2000; Margaritis., 2003; Urso, Clarkson, 2003; Schneider, de Oliveira, 2004; Kostaropoulos et al, 2006) possa causar. O aumento da tolerância às alterações oxidativas como também a melhora do sistema de reparo ao dano oxidativo é uma importante parte do processo

adaptativo (Rádak et al, 2000). Portanto, quando indivíduos não adaptados a determinados estímulos recebem treinamento adequado, o dano oxidativo induzido diminui de maneira significativa (Margaritis et al, 2003).

Por exemplo, Evelo et al (1992) realizaram um programa de treinamento em sedentários durante 40 semanas para uma meia-maratona e encontraram um aumento significativo na atividade eritrocitária da glutathione redutase. Entretanto, mesmo o treinamento de corrida com distâncias mais curtas (5 km), seis vezes por semana durante 10 semanas proporcionaram o mesmo aumento (Ohno et al, 1988 *apud* Clarkson, Thompson, 2000).

Miyazaki et al (2001) realizaram treinamento intenso de longa duração em indivíduos sedentários durante 12 semanas, com corrida de 60 minutos a 80% do consumo máximo de oxigênio cinco vezes por semana, com objetivo de investigar se o treinamento diminuía o estresse oxidativo em eritrócitos e se esta diminuição era causada pela indução de enzimas antioxidantes e/ou a diminuição da produção de antioxidantes pelos neutrófilos. O treinamento exaustivo aumentou significativamente a atividade de SOD e GPX de repouso, mas não da CAT, e nenhuma das enzimas aumentou a atividade em resposta ao exercício, tanto antes como depois do treinamento. O treinamento exaustivo também aumentou a concentração de TBARS e a habilidade dos neutrófilos em produzir EROs durante o exercício em relação ao repouso, mas a magnitude do aumento foi menor após o período de treinamento. Houve aumento do consumo máximo de oxigênio, mas diminuição da peroxidação lipídica após exercício. Os autores sugerem que o treinamento de alta intensidade em indivíduos sedentários aumenta a atividade das enzimas antioxidantes SOD e GPX de repouso e diminuiu a produção de EROs pelos neutrófilos.

A adaptação do organismo ao treinamento de corrida de longa duração parece ser específica às fibras musculares oxidativas, que é o principal local de produção de EROs durante este tipo de exercício. Entretanto, o aumento da atividade das enzimas antioxidantes parece não ser proporcional ao aumento da intensidade do exercício (Finald, Lac, Filaire, 2006) o que demonstra que, mesmo em indivíduos adaptados, treinos de sobrecarga ou exercícios extenuantes podem provocar a falta transitória ou prolongada de adaptações fisiológicas e/ou

bioquímicas, o que pode levar ao estado de *overtraining* (Rádak et al, 2000; Margaritis et al, 2003).

## **8. Produção de EROs em diferentes intensidades de treinamento**

Para otimizar o desempenho de atletas nas competições, é necessário diminuir a sobrecarga do treinamento especificamente com a redução do volume de treino antes de uma competição importante (Margaritis et al, 2003).

Margaritis et al (2003) realizaram um estudo duplo-cego em triatletas profissionais durante 10 semanas, sendo que, da quinta à oitava semana, os atletas realizaram treinamentos intensos e, nas duas últimas semanas, treinamento regenerativo com objetivo de verificar se após a sobrecarga, o treino regenerativo reforçava o potencial antioxidante e diminuía os níveis de estresse oxidativo. Após o período regenerativo, houve diminuição significativa na concentração plasmática dos antioxidantes totais, aumento discreto da  $\alpha$ -tocoferol sérica, aumento no retinol sérico e diminuição da atividade da SOD, GSSG e GSH, sem alteração significativa na peroxidação lipídica. Os pesquisadores concluíram que houve aumento na regulação da resposta antioxidante ao exercício e menor estresse oxidativo após o treinamento regenerativo.

Mastalouidis et al (2001) também estudaram corredores de longa distância que foram avaliados três dias antes, durante e um dia após uma ultramaratona (protocolo de corrida). Os mesmos atletas foram reavaliados um mês depois, com o mesmo regime de treino do mês anterior, porém sem a competição (sobrecarga) no quarto dia do experimento (protocolo sedentário). No protocolo de corrida, os níveis plasmáticos de  $\alpha$ -tocoferol, F2-isoprostano e vitamina C aumentaram significativamente após a corrida, retornando aos valores pré-corrida 1 hora ( $\alpha$ -tocoferol) e 24 horas depois (F2-isoprostano). Os níveis plasmáticos de  $\alpha$ -tocoferol e vitamina C caíram drasticamente 24 horas depois o término da competição, sugerindo o seu uso no combate às EROs formadas durante exercício. No protocolo sedentário não houve alteração da concentração de  $\alpha$ -tocoferol e F2-isoprostano plasmáticos, sugerindo que a peroxidação lipídica resulta realmente do aumento do estresse oxidativo induzido pelo exercício.

Quindry et al (2003) estudaram a relação entre a intensidade do exercício, a circulação de neutrófilos e o estresse oxidativo em resposta à estimulação aguda.

Como o exercício de alta intensidade resulta em translocação de neutrófilos do sangue para músculo, é possível que a neutrofilia resultante contribua com o estresse oxidativo. Para tanto, indivíduos saudáveis foram acompanhados durante cinco semanas, com a realização de testes para determinação do consumo máximo de oxigênio e do limiar de lactato (LL) nas duas primeiras semanas. Nas três semanas seguintes, realizaram testes submáximos de 45 min, 10% abaixo e 10% acima do LL e um último teste 10% abaixo do LL, até que o gasto energético se igualasse ao teste acima do limiar. A contagem de neutrófilos aumentou significativamente apenas no exercício acima do LL. Os pesquisadores encontraram correlação positiva entre concentração de lactato sangüíneo e a contagem de neutrófilos ( $r = 0,99$ ) e não observaram correlação entre o gasto energético total e a contagem de neutrófilos ( $r = 0,57$ ). Duas horas após exercício, uma segunda fase de elevação de neutrófilos foi observada, com aumento de superóxido apenas no exercício máximo acima do LL. Não houve alteração significativa na peroxidação lipídica e no MDA. Os pesquisadores concluíram que a intensidade do exercício parece ser mais importante que o gasto energético total na resposta oxidativa pós-exercício.

A intensidade ideal de treino para cada indivíduo, entretanto, é difícil de ser determinada, e quanto maior o nível de aptidão do atleta, mais intenso deve ser o estímulo para que ocorram adaptações. Entretanto, períodos prolongados de treinamento intenso estão associados com variações hormonais, imunológicas, hematológicas, bioquímicas, diminuição da defesa antioxidante e aumento da produção de EROs e do estresse oxidativo. Portanto, parece haver um limite de aumento do estresse oxidativo, acima do qual o estado de *overtraining* pode se instalar e conseqüentemente prejudicar a carreira do esportista (Finald, Lac, Filaire, 2006).

## **9. Considerações finais**

Alterações nos níveis de antioxidantes plasmáticos induzidas pelo exercício que reflipam no estresse oxidativo são difíceis de serem determinadas. Enquanto o estresse oxidativo pode causar diminuição primária de antioxidantes, a sua mobilização de outros tecidos pode resultar em aparente aumento. O aumento nos níveis plasmáticos de antioxidantes pode aumentar a capacidade de resposta do

organismo, mas pode possivelmente prejudicar as defesas nos locais de onde os antioxidantes foram mobilizados (Cooper et al, 2002).

Além disso, todos os métodos para avaliar a peroxidação lipídica e o estresse oxidativo em humanos devem ser usados com cautela devido à falta de acurácia, e/ou validade. Recomenda-se que mais de uma técnica seja empregada para fornecer uma melhor estimativa do estresse oxidativo (Clarkson, Thompson, 2000). É importante também conhecer os mecanismos que levam ao aumento do estresse oxidativo e saber escolher o momento certo e a substância certa para avaliar, pois muitas vezes os produtos de reações oxidativas podem não se elevar logo após exercício, atingindo níveis máximos horas ou mesmo dias após término do estímulo imposto (Cooper et al, 2002).

Os resultados conflitantes da literatura podem, portanto, ser decorrentes de diversos fatores, como diferentes níveis de treinamento dos participantes, diferentes exercícios e intensidades utilizadas nos estudos e diferentes medidas e métodos realizados para inferir o estresse oxidativo (Urso, Clarkson, 2003; Schneider, de Oliveira, 2004).

## 10. Conclusão

Pode-se sugerir que a magnitude do dano oxidativo induzido pela corrida de longa duração esteja associada com a taxa de consumo de oxigênio, produção de EROs e desbalanço entre os mecanismos pró e anti-oxidantes e que, quanto maior a intensidade do exercício, maior a produção de EROS e maiores os danos causados pelo estresse oxidativo.

A ativação da xantina oxidase, devido a processo de hipóxia e reperfusão, a explosão ou *burst* oxidativo, em decorrência de processos inflamatórios, e a oxidação de catecolaminas parecem ser os principais mecanismos de produção de EROs durante a corrida de curta duração.

Existem evidências de que o treinamento físico regular e adequado proporciona adaptações fisiológicas e bioquímicas capazes de proteger o organismo contra os efeitos deletérios do estresse oxidativo induzido pelo exercício na maioria das situações. Porém, a corrida de longa duração parece produzir maior estresse oxidativo que a de curta duração. Além disso, quando o estímulo intenso é prolongado, há risco de instalação do estado de *overtraining*.

## 11. Referências bibliográficas

Alessio, H. M.; Hagerman, A. E.; Fulkerson, B. K.; Ambrose, R. E. R.; Wiley, R. L. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.* Vol 32, n. 9, p.1576-1581, 2000.

Bianchi, M. de L. P.; Antunes, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Rev. Nutr., Campinas* vol 12, n. 2, p.123-130, 1999.

Clarkson, P.M.; Thompson, H. S. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr* vol 72(suppl), p.637S–46S, 2000.

Cooper, C. E.; Vollaard, N. B. J.; Choueiri, T.; Wilson, M. T. Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochemical Society Transactions* Vol 30, p. 280-285, 2002.

Evans, W. J. Vitamina E, vitamina C e exercício. *Am J Clin Nutr* vol 72 (suppl), p. 647S–52S, 2000.

Ferreira, A.L.A.; Matsubara, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Ass Med Brasil* vol 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

Finald, J., Lac, G., Filaire, E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med* vol 36, n. 4, p. 327-358, 2006.

Huang, H-Y., Helzlsouer, K. J., Appel, L. J. The effects of vitamin C and Vitamin E on oxidative DNA damage: results from a randomized controlled trial. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* vol 9, p. 647-652, 2000.

Junqueira, L. C., Carneiro, J. *Histologia básica*. 9ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.

Kostaropoulos, I. A.; Nikolaidis, M. G.; Jamustas, A. Z.; Ikonou, G.V.; Makrygiannis, V.; Paradopoulos, G.; Kouretas, D. Comparison of the blood redox status between long-distance and short-distance runners. *Physiol Res.* vol 55, p. 611-616, 2006.

Lehninger, A.L., Nelson, D. L., Cox, M. M. *Princípios de Bioquímica.* 2ª edição. São Paulo: Sarvier; 2000.

Machefer, G.; Groussard, C.; Ranou-Bekono, F.; Zouhal, H.; Faure, H.; Vicent, S.; Cillard, J.; Gratas-Delamarche, A. Extreme running competition decrease blood antioxidant defense capacity. *Journal of the American College of Nutrition* vol 23, n. 4, p. 358-364, 2004.

Margaritis, I.; Palazzetti, S.; Rousseau, A.S.; Richard, M.J.; Favier, A. Antioxidant supplementation and tapering exercise improve exercise-induced antioxidant response. *Journal of the American College of Nutrition* vol 22, n. 2, p. 147-156, 2003.

Mastaloudis, A.; Leonard, S. W.; Traber, M. G. Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radical Biology & Medicine* vol 31, n. 7, p. 911-922, 2001.

Mathews, Van Hold & Ahern. *Biochemistry* [on line]. Companion Web Site. 3<sup>th</sup> ed. Available on <URL: <http://www.aw-bc.com/mathews/> > [2007 ago 05]

McArdle, W.D., Katch, F. I. & Katch, V.I. *Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano.* 4ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998.

Miyazaki, H.; Oh-ishi, S.; Ookawara, T.; Kizaki, T.; Toshinai, K.; Há, S.; Haga, S.; Ji, L.L.; Ohno, H. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *Eur J Apl Physiol* vol 84, p. 1-6, 2001.

Powers, S. K.; Howley, E. T. *Fisiologia do exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho.* Primeira edição. São Paulo: Editora Manole; 2000.

Quindry, J. C.; Stone, W. L.; King, J.; Broeder, C. E. The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress. *Med. Sci. Sports Exerc.* vol 35, n. 7, p.1139-1145, 2003.

Radák, Z.; Pucsuk, J; Boros, S; Jofai, L; Taylor, A.W. Changes in urine 8-hydroxideoxiguanosina level of super-marathon runners during a four-day race period. *Life science*, vol 66, n. 18, p. 1763-1767, 2000.

Schneider, C. D.; de Oliveira, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. *Rev Bras Med Esporte* vol 10, n. 4, p. 308-313, 2004.

Souza Jr, T.P.; de Oliveira, P.R.; Pereira, B. Exercício físico e estresse oxidativo: efeitos do exercício físico intenso sobre a quimioluminescência urinária e malonaldeído plasmático. *Rev Bras Med Esporte* vol 11, n. 1, p. 91-96, 2005.

Urso, M. L; Clarkson, P. M. Oxidative stress, exercise and antioxidant supplementation. *Toxicology* vol 189, p. 41-54, 2003.

© 2007 – Centro de Estudos de Fisiologia do Exercício

Este artigo somente poderá ser reproduzido para fins educacionais sem fins lucrativos