

Camilo Oliveira Geraldi

**O EFEITO CRÔNICO DO TREINAMENTO AERÓBIO E DO EXERCÍCIO AERÓBIO
MÁXIMO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO E A CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM
HOMENS TREINADOS E SEDENTÁRIOS**

Belo Horizonte

Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG

2019

Camilo Oliveira Geraldi

**O EFEITO CRÔNICO DO TREINAMENTO AERÓBIO E DO EXERCÍCIO AERÓBIO
MÁXIMO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO E A CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM
HOMENS TREINADOS E SEDENTÁRIOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências do Esporte, da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências do Esporte.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Sales Prado

Co-Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Gonçalves

Belo Horizonte

Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG

2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional
Programa de Pós-Graduação em Ciências do Esporte

A Dissertação intitulada "**O estresse oxidativo e a capacidade antioxidante em homens treinados e sedentários após o exercício aeróbio máximo**", de autoria do mestrando **Camilo Oliveira Geraldi**, defendida em 27 de fevereiro de 2019, na Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais, foi submetida à banca examinadora composta pelos professores:

Prof. Dr. Luciano Sales Prado (Orientador)
Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional
Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Dr. Samuel Penna Wanner
Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional
Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Dr. Thiago Teixeira Mendes
Universidade Federal do Maranhão

Belo Horizonte, 27 de fevereiro de 2019.

Dedico esse trabalho à todos os profissionais da saúde, especialmente aos da educação física, pessoas fundamentais para a busca da longevidade e o bem estar humano.

AGRADECIMENTOS

A presente dissertação de mestrado não seria concluída sem o precioso apoio de várias pessoas.

Em primeiro lugar agradeço à minha querida e carinhosa mãe, fonte da minha disciplina e determinação, à minha esposa e aos meus filhos, que de formas diferentes multiplicaram a força e o tempo necessários para realizar este estudo. Ao meu pai querido, que através de uma breve experiência ao meu lado, transmitiu muito sobre a alegria e energia de viver. À minha sogrinha, meu sogro, cunhados e concunhado pelo carinho com meus filhos durante os momentos em que estive imerso estudando.

Ao amigo Felipe Shang, que participou com opiniões e direcionamentos valiosos desde o início deste mestrado, durante a alteração do tema de pesquisa, até os momentos finais.

Ao Gabriel Quinan e Gabriela Cangussu, amigos fundamentais durante minha preparação para ingressar no programa de mestrado, pelo auxílio fundamental nesse retorno “aos trilhos” acadêmicos.

Ao professor Reginaldo Gonçalves, meu coorientador, por sua calma e precisão durante as orientações e principalmente nos momentos das coletas.

Agradeço aos amigos e colegas Eduardo Penna, Rúbio Bruzzi, André Bob e todos os colegas do LAFISE, pelos conselhos, cafés, bate-papos, revisões, cervejas, entre outras boas experiências que ilustraram um ambiente unido, positivo e muito produtivo.

Ao Dr. Haroldo Aleixo, e ao professor Marcelo Papotti da USP/ Ribeirão Preto, que proporcionaram ambientes perfeitos para as coletas e participaram ativamente dos momentos experimentais.

Aos funcionários da EEFFTO/ UFMG, que foram sempre prestativos e pacientes durante esse período.

Aos profissionais responsáveis pela coleta das amostras sanguíneas, Fernando Pedro, Gilson, Lorena e Mariana.

À Kátia Michelle Freitas, Edenil Aguilar, Wesley Braga e Luciano Capettini pelo tempo e conhecimento doado durante as análises das mais importantes variáveis deste estudo.

À Daisy e ao Albená, que indicaram profissionais excepcionais e proporcionaram ambientes ricos para o desenvolvimento deste trabalho.

Por último, quero agradecer ao meu orientador, professor Luciano Sales Prado, por todo o incentivo, desde o dia em que nos encontramos por uma coincidência dos diferentes trabalhos, quando recebi o convite inusitado para voltar aos estudos. Muito obrigado pelas palavras de motivação e orientação, sempre nos momentos decisivos.

Os estudos sobre treinamento esportivo evoluem rapidamente. Ao estudar e aplicar os conceitos do treinamento durante o meu trabalho como profissional de educação física tenho inúmeras questões, algumas são parcialmente respondidas e outras continuam sem resposta. Quando a dúvida é sobre os efeitos do treinamento, se são benéficos ou não, do ponto de vista da saúde, ganho uma motivação extra para investigar o assunto. Com esse trabalho tive a intenção de avançar no entendimento sobre o treinamento e a relação entre o condicionamento físico e a saúde, podendo contribuir com o meio profissional tanto para a aplicação prática quanto para a produção de novos trabalhos.

RESUMO

O estresse oxidativo ocorre quando do desequilíbrio entre a oxidação oriunda do metabolismo energético e sua compensação através do sistema de defesa antioxidante, em favor da expressão aumentada de espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN). A relação entre a formação de ERO e ERN, e a capacidade antioxidante é denominada balanço redox. O estresse oxidativo crônico pode provocar dano celular por oxidação e inflamação, e está associado ao desenvolvimento de inúmeras doenças. O estresse oxidativo agudo está associado à fadiga durante o exercício. Por outro lado, as ERO podem atuar favorecendo adaptações ao exercício físico, ou o combate a um processo inflamatório. Este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos do nível de condicionamento aeróbio sobre indicadores de estresse oxidativo e da capacidade antioxidante, em repouso, e após um exercício progressivo até a exaustão (teste de $VO_{2máx}$). Participaram deste estudo indivíduos altamente treinados ($n=14$, $VO_{2máx} = 62,5$ ml/ kg/ min $\pm 6,07$) e sedentários ($n=14$, $VO_{2máx} = 33,3$ ml/ kg/ min $\pm 3,69$), todos do sexo masculino, com idades entre 18 a 40 anos. Antes e após o exercício, foram medidos os níveis séricos de marcadores da capacidade antioxidante (superóxido dismutase (SOD), glutathiona reduzida (GSH), glutathiona oxidada (GSSG) e razão de glutathiona (GSH/ GSSG)) e de estresse oxidativo (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), óxido nítrico (NO)) para estimar o balanço redox e a ação cumulativa de antioxidantes que cooperam na remoção de espécies reativas de oxigênio em tecidos e fluidos corporais. Independentemente do momento, as concentrações de TBARS foram maiores e a atividade antioxidante foi menor (GSH/ GSSG maior) para o grupo sedentário. Após o exercício progressivo até a exaustão, para os sedentários, houve aumento das concentrações de TBARS, NO, GSH/ GSSG e SOD. Para os treinados, houve aumento das concentrações de TBARS e SOD, e redução de NO. Os resultados indicam que adultos treinados aerobicamente apresentam estresse oxidativo reduzido e capacidade antioxidante aumentada. Uma sessão de exercício progressivo até a exaustão proporciona aumento do estresse oxidativo independentemente do estado de condicionamento aeróbio.

Palavras-chave: Exercício. Fadiga. Estresse oxidativo. Capacidade antioxidante. Condicionamento aeróbio.

ABSTRACT

Oxidative stress is a condition that occurs when the imbalance between oxidation from energy metabolism and its compensation through the antioxidant defense system, in favor of the increased expression of reactive oxygen species (ROS) and nitrogen (RN) species. The relationship between ROS formation and antioxidant capacity is called the redox balance. Chronic oxidative stress can cause cellular damage through oxidation and inflammation, and is associated with the development of numerous diseases. Acute oxidative stress is associated with fatigue during exercise. On the other hand, studies have demonstrated that ROS can act favoring adaptations to physical exercise, or even favoring the fight against an inflammatory process. This study aims to evaluate the effects of the level of aerobic conditioning on indicators of oxidative stress and antioxidant capacity indicators, in rest situation, and after a progressive exercise to exhaustion (VO_{2max} test). Participants in this study were highly trained subjects ($n = 14$, $VO_{2max} = 62.5$ ml/ kg/ min $\pm$ 6.07) and sedentary subjects ($n = 14$, $VO_{2max} = 33.3$ ml/ kg / min $\pm$ 3.69), all of them male, between the ages of 18 and 40 years. Before and after exercise, serum levels of antioxidant capacity (superoxide dismutase (SOD), reduced glutathione (GSH), oxidized glutathione (GSSG) and glutathione ratio (GSH/ GSSG)) and oxidative stress (thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), nitric oxide (NO)) to estimate the redox balance and the cumulative action of antioxidants which cooperate in the removal of reactive oxygen species in tissues and body fluids. Independently of the moment, TBARS concentrations were higher and the antioxidant activity was lower (GSH / GSSG higher) for the sedentary group. After the progressive exercise until exhaustion, for the sedentary, there was an increase in TBARS, NO, GSH/ GSSG and SOD concentrations. For the trained group, there was an increase in TBARS and SOD concentrations, and NO reduction. The results indicate that aerobically trained adults have reduced oxidative stress and increased antioxidant capacity. A session of progressive exercise to exhaustion provides increased oxidative stress independently of the state of aerobic conditioning.

Keywords: Exercise. Fatigue. Oxidative stress. Antioxidante capacity. Aerobic conditioning.

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1.....	14
Figura 2.....	15
Figura 3.....	20
Figura 4.....	28
Gráfico 1.....	35
Gráfico 2.....	36
Gráfico 3.....	37
Gráfico 4.....	38
Gráfico 5.....	39
Gráfico 6.....	40
Gráfico 7.....	41
Gráfico 8.....	42
Gráfico 9.....	43
Gráfico 10.....	43
Gráfico 11.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.....	34
Tabela 2.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACSM: American College of Sports Medicine
CTE: cadeia transportadora de elétrons
CAT: catalase
ERN: espécies reativas de nitrogênio
ERO: espécies reativas de oxigênio
FRAP: capacidade de redução férrica do plasma
GPX: glutational peroxidase
GSH: glutational reduzida
GSH/ GSSG: razão da glutational
GSSG: dissulfeto de glutational ou glutational oxidada
H₂O: água
H₂O₂: peróxido de hidrogênio
HO₂•: Radical perhidroxil
IPAQ: questionário internacional de atividade física
MDA: malondialdeído
NOS: óxido nítrico sintase
NO₂•: dióxido de nitrogênio
NO•: ou NO óxido nítrico
¹O₂: oxigênio singlet
O₂: oxigênio
O₂•: radical ânion superóxido
OH•: radical hidroxila
ONOO⁻: peroxinitrito
PA: pressão arterial sistólica
PSE: percepção subjetiva de esforço
R: razão de troca respiratória
RO•: radical alcóxil
ROO•: radical peróxil
RO•: carbonila excitada
ROOH: hidroperóxido orgânico
SD: indivíduos sedentários
SOD: superóxido dismutase

TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido

TR: indivíduos treinados

VO_{2máx}: consumo máximo de oxigênio

VO_{2pico}: valor do pico de consumo de O₂

XO: xantina oxidase XO

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Revisão de literatura	16
2 OBJETIVO	22
3 HIPÓTESES	23
4 MÉTODOS	24
4.1 Amostra	24
4.2 Desenho experimental	25
4.3 Momentos experimentais	27
4.4 Alimentação	28
4.5 Procedimento para punção venosa	29
4.6 Variáveis analisadas	29
4.7 Análise estatística	33
5 RESULTADOS	34
5.1 Variáveis de desempenho	35
5.2 Variáveis sanguíneas	39
5.2.1 TBARS (Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) ou dosagem de MDA	39
5.2.2 Óxido nítrico (NO)	40
5.2.3 Superóxido Dismutase (SOD)	41
5.2.4 Glutathiona reduzida (GSH)	42
5.2.5 Glutathiona oxidada (GSSG)	43
5.2.6 Razão de Glutathiona (GSH/ GSSG)	44
6 DISCUSSÃO	46
6.1 No que diz respeito ao estado de treinamento dos voluntários:	47
6.2 Sobre o efeito do exercício progressivo até a exaustão:	48
6.3 Limitações do estudo	50
7 CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	52
APÊNDICE 1	56
APÊNDICE 2	58
APÊNDICE 3	60

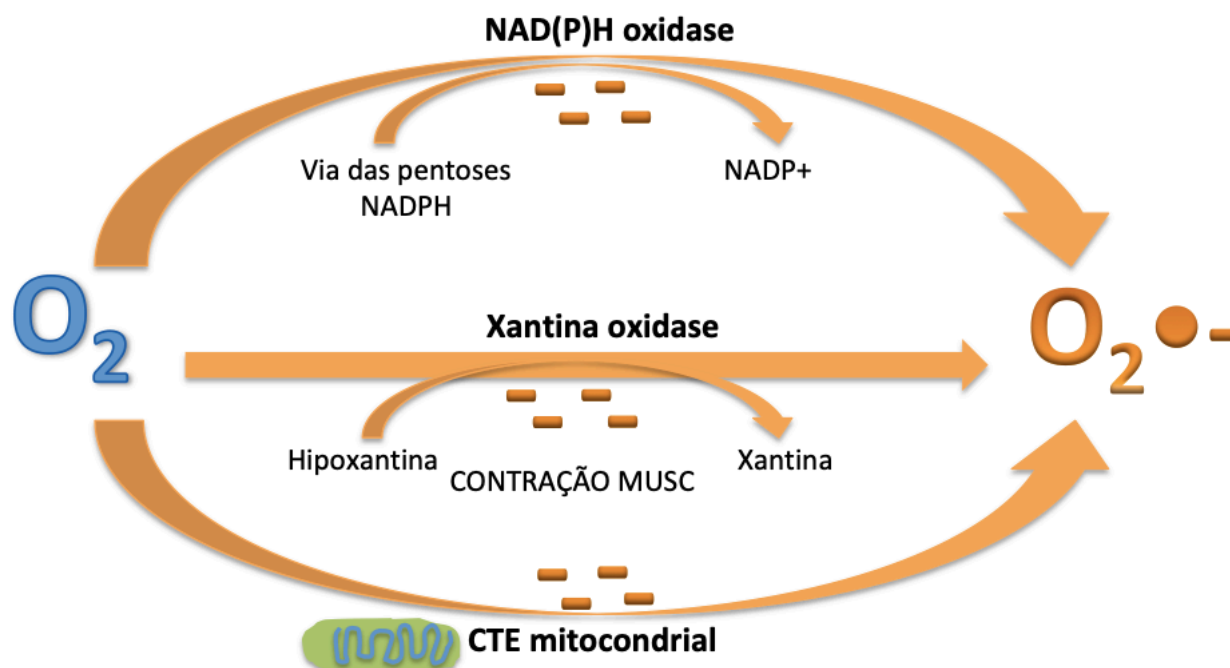
1 INTRODUÇÃO

O estresse oxidativo é uma condição que ocorre quando do desequilíbrio entre a oxidação oriunda do metabolismo e sua compensação através do sistema de defesa antioxidante, em favor da expressão aumentada de espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN) (KODJA; HARRISON, 1999).

A formação das ERO ocorre com a redução incompleta do oxigênio (O_2) que se torna instável por permanecer com um elétron não pareado, um radical, formando o radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) que é relativamente estável e pouco reativo. No entanto, este pode ser convertido em outras moléculas mais instáveis e reativas, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila ($\bullet OH$). A redução do O_2 é mediada por enzimas tais como NADPH oxidase e xantina oxidase (XO) no citosol ou de maneira não enzimática através da cadeia transportadora de elétrons (CTE) mitocondrial (POWERS; JACKSON, 2008). A NADPH oxidase participa da geração do $O_2^{\bullet-}$ mediando a transferência de elétrons do NADPH intracelular através da membrana, acoplando-os ao oxigênio molecular (LAWLER; POWERS; CRISWELL, 1993). Durante o mecanismo de isquemia/reperfusão que ocorre de forma recorrente durante a contração muscular, acontece a depleção de ATP e consequente produção de hipoxantina. A oxidação de hipoxantina à xantina ocorre mediada pela XO e libera elétrons que se ligam ao O_2 formando o superóxido (MCCORD, 1985). Na mitocôndria, a CTE libera elétrons que se unem ao O_2 para a formação de $O_2^{\bullet-}$ (HALLIWELL; CROSS, 1994). Os processos de formação das ERO estão demonstrados na figura 1.

As ERO são representadas pelas seguintes moléculas: $O_2^{\bullet-}$ Ânion superóxido ou Radical superóxido, $HO_2^{\bullet}$ Radical perhidroxil, $OH^{\bullet}$ Radical hidroxila, $RO^{\bullet}$ Radical alcóxil, $ROO^{\bullet}$ Radical peróxil, $RO^{\bullet}$ Carbonila excitada, H_2O_2 Peróxido de hidrogênio, $ROOH$ Hidroperóxido orgânico (ex.: lipoperóxido), $^1O_2$ Oxigênio singlet (SIES; CADENAS, 1985).

Figura 1 - Formação de ERO

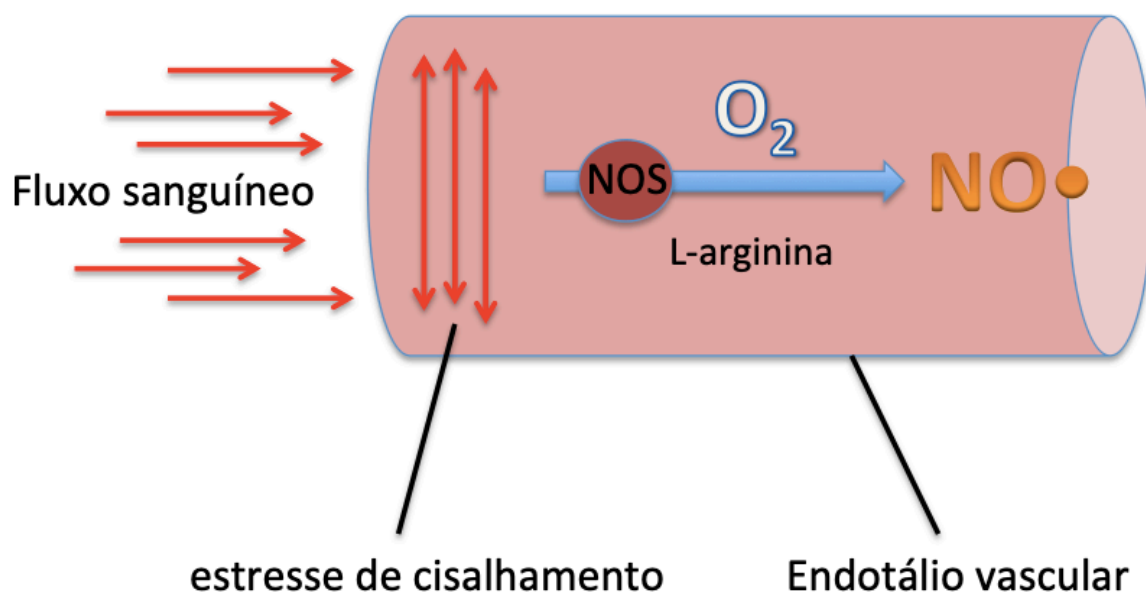


Formação de ERO: redução incompleta do O_2 que se torna instável por permanecer com um elétron não pareado, formando o $O_2^{\bullet-}$.

Legenda: O_2 : Oxigênio; $O_2^{\bullet-}$: Ânion superóxido; CONTRAÇÃO MUSC: contração muscular; CTE mitocondrial: cadeia transportadora de elétrons mitocondrial.

As ERN são representadas pelo $NO^{\bullet}$ Óxido nítrico e suas combinações como $NO_2^{\bullet}$ Dióxido de nitrogênio, $ONOO^-$ Peroxinitrito (HALLIWELL, 1994;2012). A partir do estresse de cisalhamento do endotélio vascular, causado pela circulação do sangue, o $NO^{\bullet}$ é gerado através da ação da enzima óxido nítrico sintase (NOS), que catalisa a reação do aminoácido L-arginina com o O_2 (PALMER *et al.*,1988). Os processos de formação das ERN estão demonstrados na figura 2.

Figura 2 - Formação de ERN



Óxido nítrico sintase (NOS) catalisa a reação do aminoácido L-arginina com o O_2 , formando o NO.

Legenda: NOS: óxido nítrico sintase; O_2 : oxigênio; NO•: óxido nítrico

Algumas dessas moléculas são chamadas de radicais livres por possuírem um elétron não pareado em sua última camada: $O_2^{\bullet-}$, $HO_2^{\bullet}$, $OH^{\bullet}$, $RO^{\bullet}$, $ROO^{\bullet}$, $RO_2^{\bullet}$, $NO^{\bullet}$ e $NO_2^{\bullet}$ (HALLIWELL, 1994; 2012).

O estresse oxidativo pode acarretar dano celular pela oxidação e inflamação, através da destruição radical de moléculas importantes como proteínas, lipídios, ou DNA (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 1990). O dano celular causado pela oxidação de moléculas da bicamada lipídica, a peroxidação lipídica, resulta na formação de malondialdeído (MDA). A concentração sérica de MDA é considerada um indicador adequado para se determinar o grau de dano celular por estresse oxidativo (WALLIN *et al.*, 1993).

O papel do estresse oxidativo está relacionado ao desenvolvimento de inúmeras doenças em seres humanos e crônicas como arteriosclerose, doenças oftalmológicas, neurodegenerativas, e alguns tipos de câncer. Por essa razão, acreditava-se que uma produção aumentada de ERO seria uma consequência negativa do exercício (KODJA; HARRISON, 1999; DALLE-DONNE *et al.*, 2006; HALLIWELL; CROSS, 1994, PINTO *et al.*, 2012, POWERS; JACKSON, 2008, POWERS; TALBERT; ADHIHETTY, 2011,

TSUTSUI *et al.*, 2011). Por outro lado, alguns estudos demonstraram que as ERO podem atuar favorecendo a adaptação crônica aos estímulos do exercício físico (RISTOW; ZARSE 2010, POWERS; RADAK, 2016, POWERS *et al.*, 2011), ou mesmo aprimorando a tolerância a uma produção aumentada de ERO e a capacidade de combater um processo inflamatório (POWERS; RADAK, 2016, NEUBAUER; KÖNIG; WAGNER, 2008, NUNN *et al.*, 2010).

1.1 Revisão de literatura

A produção de ERO causada pelo exercício vem sendo estudada desde a década de 70, e vários estudos foram conduzidos no intuito de monitorar as consequências do aumento da formação de ERO sobre o nível de condicionamento e a saúde de atletas (DILLARD *et al.*, 1978; LI; GOMEZ-CABRERA; VINA, 2006; FISHER-WELLMAN; BLOOMER, 2009; PINTO *et al.*, 2012).

Sabe-se que tanto o exercício com predominância do fornecimento de energia pelas vias metabólicas aeróbias, quanto anaeróbias, proporcionam aumento da produção de ERO e ERN, que pode resultar em estresse oxidativo (DUTHIE *et al.* 1990; FISHER-WELLMAN; BLOOMER, 2009). O mecanismo de resposta do organismo é o sistema antioxidante através de suas principais enzimas: superóxido dismutase (SOD), glutational peroxidase (GPX) e catalase (CAT). Suas funções básicas são descritas a seguir:

Superóxido dismutase

É a primeira defesa contra a ação do ânion superóxido. A SOD catalisa a dismutação do superóxido em oxigênio (O_2) em uma molécula menos instável, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (CULOTTA; YANG; O'HALLORAN, 2006; SUZUKI, *et al.*, 2000).

Glutational peroxidase

É uma enzima que catalisa a redução do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água (H_2O) utilizando um elétron da glutational reduzida (GSH), que se torna glutational oxidada, o dissulfeto de glutational (GSSG). A ação contínua da GSH depende da manutenção dos níveis de GSH celular através da ação da enzima glutational redutase, responsável pela

redução da GSSG em GSH, com o processo de oxidação do NADPH proveniente do ciclo das pentoses no citosol (LAWLER; DEMAREE, 2001; LAWLER; POWERS; CRISWELL, 1993; EDUARD; MEIJER, 1991; MEISTER; ANDERSON, 1983). A razão entre as concentrações de GSH e GSSG (GSH/ GSG) vem sendo utilizada por alguns autores para analisar o balanço redox (SEIFI-SKISHAHR, *et al.*, 2016; PITTALUGA *et al.*, 2015)

Catalase (CAT)

É uma hemoproteína que catalisa a decomposição de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em oxigênio (O_2) e água (H_2O) (KIRKMAN; GAETANI, 2007).

A relação entre a produção de ERO e a ação do sistema antioxidante, oxidação e a redução respectivamente, é chamada de “balanço redox” (SIES, 2015). Existem estudos que analisaram o balanço redox em exercício crônico, agudo máximo e submáximo, com indivíduos fisicamente ativos e destreinados.

Para avaliar o balanço redox, Duthie *et al.* (1990) identificaram em seu estudo que indivíduos treinados avaliados após uma meia maratona não apresentaram estresse oxidativo (a partir da análise dos níveis séricos de MDA, determinados por meio da detecção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)). Por outro lado, foi identificado ainda que os níveis de antioxidantes foram significativamente mais altos após a prova em comparação aos níveis pré-evento.

Em 2000, uma pesquisa abordou os efeitos do exercício crônico aeróbio e anaeróbio sobre o estresse oxidativo (níveis séricos de TBARS), e a atividade de enzimas antioxidantes (atividade da GPX) (SELAMOGLU *et al.*, 2000). Os grupos treinados em modalidades predominantemente aeróbias (corredores de longa distância) e anaeróbias (lutadores de luta livre) apresentaram estresse oxidativo reduzido em comparação ao grupo destreinado. A atividade antioxidante foi maior e o nível do indicador de estresse oxidativo foi menor no grupo treinado aeróbio em relação aos treinado anaeróbio e sedentário, sem diferença significativa entre o treinado anaeróbio e o sedentário.

Indivíduos diagnosticados com a síndrome do excesso de treinamento (overtraining), e um grupo controle (sem sintomas da síndrome) foram submetidos a um treinamento aeróbico padronizado, com análises de indicadores de estresse oxidativo e capacidade

antioxidante em diferentes momentos: antes do período de treinamento, em repouso; após o período de treinamento, antes e depois do exercício progressivo máximo. Para realizar o exercício progressivo máximo foi utilizado um teste de consumo máximo de oxigênio ($VO_{2\text{máx}}$) em ciclo ergômetro. Na linha de base, em repouso, os indicadores do estresse oxidativo estavam aumentados para os indivíduos com overtraining. Após o teste máximo, as respostas do estresse oxidativo e da capacidade antioxidante foram atenuadas para os indivíduos em estado de overtraining, e isso pode estar relacionado à incapacidade de realizar exercícios de forma efetiva e à adaptação prejudicada ao exercício. Os resultados sugeriram que o aumento do estresse oxidativo tem um papel importante na fisiopatologia da síndrome do excesso de treinamento (TANSKANEN *et al.*, 2009).

FALONE *et al.* (2010) estudaram o balanço redox pré- e pós-exercício agudo progressivo até a exaustão, de indivíduos fisicamente ativos ($VO_{2\text{máx}}$ de 48,5 ml/kg/min) em comparação a destreinados ($VO_{2\text{máx}}$ de 33,3 ml/kg/min), utilizando uma esteira ergométrica. A capacidade antioxidante total foi analisada, como também o estresse oxidativo, através dos níveis de TBARS. Houve aumento da resposta antioxidante e estresse oxidativo para os indivíduos fisicamente ativos.

Atletas de diferentes modalidades (remo, ciclismo e taekwondo) e com demandas distintas (predominância metabólica aeróbia/anaeróbia, aeróbia e anaeróbia), participaram de uma pesquisa que comparou os níveis séricos de TBARS, $O_2^{\bullet-}$ e $NO_2^{\bullet}$ entre os grupos, em repouso. Os resultados demonstraram que diferentes rotinas e demandas de treinamento podem proporcionar níveis basais distintos de ERO, ERN e de dano celular por estresse oxidativo. Entretanto, o efeito do exercício máximo progressivo, através de testes específicos para cada modalidade, não foi diferente entre os atletas das 3 modalidades (CUBRILO *et al.*, 2011).

Recentemente um estudo analisou o balanço redox de ciclistas altamente treinados ($VO_{2\text{máx}}$ de $65,55 \pm 10,51$ ml/kg/min) em comparação a indivíduos sedentários ($VO_{2\text{máx}}$ $39,59 \pm 3,73$ ml/kg/min), submetidos ao exercício agudo submáximo até a exaustão. Os resultados mostraram que não houve diferença no nível de estresse oxidativo entre os grupos ciclista e sedentário imediatamente após exercício até a exaustão. O grupo ciclista apresentou aumento significativo de óxido nítrico em comparação ao grupo sedentário uma hora após o término do exercício. Entretanto, a capacidade antioxidante total não

apresentou diferença significativa entre os grupos em qualquer momento do exercício, nem antes ou 1 hora após a realização deste para os dois grupos (BRITO, 2016).

Ainda sobre o exercício agudo submáximo, SEIFI-SKISHAHR *et al.* (2016), analisaram o balanço redox (razão GSH/ GSSG) e o estresse oxidativo em resposta ao exercício aeróbico agudo. Foram utilizados de 3 grupos de indivíduos: Bem treinados (BT), moderadamente treinados (MT) e destreinados (DT). O exercício foi realizado em esteira ergométrica, com a duração total de 35 minutos, em intensidade submáxima. Os níveis de GSH para os MT foram maiores do que para os BT e DT em todos os momentos. Não houve diferença na concentração plasmática de GSH após o exercício para nenhum grupo. A atividade antioxidante, razão GSH/ GSSG plasmática, mostrou uma redução significativa imediatamente após o exercício para todos os grupos, sem alterações significativas após 10 minutos, e um aumento significativo após 30 minutos.

Em 2017, outro estudo analisou o estresse oxidativo e a atividade antioxidante em resposta ao exercício agudo progressivo máximo. Remadores profissionais e estudantes sedentários foram submetidos a uma sessão de exercício exaustivo utilizando um remoergômetro. O protocolo de exercício consistiu em: 5 séries 4min em intensidade submáxima progressiva, com intervalos de 1min sem atividade entre as séries; em seguida 5 minutos de intervalo sem atividade e 1 série em intensidade máxima até a exaustão sem limite de tempo. Foi observado que, antes do exercício, o estresse oxidativo (TBARS) ou a atividade antioxidante (FRAP, capacidade de redução férrica do plasma) não diferiram entre os grupos. Após o exercício agudo, a atividade antioxidante foi significativamente aumentada para o grupo sedentário, sem aumento para o grupo remadores, enquanto não foi observada nenhuma alteração na TBARS após o exercício agudo em ambos os grupos (STUPIN *et al.*, 2017).

Há achados diferentes em relação aos níveis de estresse oxidativo e capacidade antioxidante como consequência do exercício e do nível de condicionamento físico dos indivíduos (ver figura 3). Alguns fatores merecem uma avaliação crítica e podem ter influenciado os resultados, como: os protocolos experimentais escolhidos; intensidade, duração e tipo de exercício; alimentação padronizada; nível de condicionamento físico dos indivíduos; população (DUTHIE *et al.*, 1990; SEIFI-SKISHAHR *et al.*, 2016; SELAMOGLU *et al.*, 2000; FALONE *et al.*, 2010; TANSKANEN *et al.*, 2010; BRITO, 2016; STUPIN *et al.*, 2017). A alimentação padronizada prévia ao exercício do protocolo

experimental deve ser adotada, pois o jejum pode comprometer a realização do esforço máximo e interferir nos resultados de espirometria e das variáveis sanguíneas (MAUGHAN; FALLAH; COYLE, 2010). Deve-se priorizar o consumo de sucos e alimentos que não contenham antioxidantes para evitar uma interferência na resposta antioxidante dos indivíduos (MADRIGAL-SANTILLÁN *et al.*, 2013; AMMAR *et al.*, 2017). Caso existam diferenças entre os grupos para as variáveis sanguíneas, os voluntários escolhidos devem apresentar a maior diferença possível do nível de condicionamento físico, pois o estresse oxidativo está associado diretamente ao consumo de oxigênio (LAWLER; POWERS; CRISWELL, 1993; KODJA; HARRISON, 1999).

Figura 3: Resumo dos estudos

	DUTHIE <i>et al.</i> (1990)	SELAMOGLU <i>et al.</i> (2000)	TANSKANEN <i>et al.</i> (2009)	FALONE <i>et al.</i> (2010)	CUBRILO <i>et al.</i> (2011)	BRITO (2016)	SEIFI-SKISHAHR <i>et al.</i> (2016)	STUPIN <i>et al.</i> (2017)
POPULAÇÃO	Atletas de corrida	Atletas de corrida, luta livre e sedentários	Atletas overtraining e Atletas controle	Moderadamente treinados e sedentários	Atletas de ciclismo, taekwondo, remo	Atletas de ciclismo e sedentários	Jogadores de futebol, praticantes e sedentários	Atletas de remo e sedentários
CONDICIONAMENTO FÍSICO								
TIPO DE EXERCÍCIO	21km	Sem exercício	VO ₂ máximo	VO ₂ máximo	VO ₂ máximo	Submáximo até a exaustão	VO ₂ máximo	5 x 4 submáximo + 1 máximo,
EQUIPAMENTO	Meia maratona		Cicloergômetro	Esteira ergométrica	Cicloergômetro, esteira e remo ergômetro	Cicloergômetro	Esteira ergométrica	Remoergômetro
ESTRESSE OXIDATIVO, NÍVEL DE TREINAMENTO		TR AE > TR AN > SD	TR OV > TR	MTR > SD	AE > AN > AEN	TR = SD	(TR = SD) > MT	TR = SD
ESTRESSE OXIDATIVO, EXERCÍCIO	Pré = pós		TR ↑ pós TR OV sem alterações	Pré = pós	Pré = pós	TR ↑ após 1 hora SD sem alterações	Todos ↑ pós, diferenças mantidas. ↑ SD 30 min após SD > TR > MT	Pré = pós
CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, NÍVEL DE TREINAMENTO		COR > (LL = SD)	TR OV = TR	MTR > SD		TR = SD		TR = SD
CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, EXERCÍCIO	↑ pós		TR ↑ pós TR OV sem alterações	SD ↓ Pós MT sem alterações		TR e SD sem alterações		SD ↑ pós TR sem alterações

Estudos que analisaram o balanço redox em exercício crônico, agudo máximo e submáximo, com indivíduos fisicamente ativos e destreinados.

Legenda: Pré: análises pré-exercício; pós: análises pós exercício; TR: indivíduos treinados; AE: aerobicamente; AN: anaerobicamente; AEN: aerobicamente e anaerobicamente; OV: overtraining; MT: indivíduos moderadamente treinados; MTR: indivíduos moderadamente treinados; SD: indivíduos sedentários; ↑: aumentou; ↓: reduziu.

Apesar de um corpo significativo de literatura acerca dos efeitos do exercício e do treinamento sobre o estresse oxidativo e a capacidade antioxidante em seres humanos, até o presente momento não existe clareza acerca do balanço redox de indivíduos altamente treinados em comparação a indivíduos sedentários. Este estudo foi realizado no intuito de esclarecer a influência do nível condicionamento físico sobre o estresse oxidativo e a capacidade antioxidante nesses indivíduos.

2 OBJETIVO

O objetivo deste estudo é comparar as respostas de estresse oxidativo e capacidade antioxidante de seres humanos entre indivíduos altamente treinados aerobicamente e indivíduos sedentários, submetidos a uma sessão de exercício progressivo até a exaustão, a fim de analisar o efeito do nível de condicionamento físico aeróbio sobre o balanço redox.

O foco principal é o efeito de um teste ergométrico progressivo até a exaustão sobre o perfil de marcadores de dano oxidativo. Foram medidos os níveis séricos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), variável amplamente utilizada para avaliar o dano celular por peroxidação lipídica, e a concentração NO através dos níveis séricos de nitrito para avaliar a formação de ERN (YAGI, 1998; PALMER *et al.*, 1988). A capacidade antioxidante sérica também foi avaliada através dos níveis séricos da atividade de SOD e GPX para estimar a ação cumulativa de antioxidantes que cooperam na remoção de espécies reativas de oxigênio em tecidos e fluidos corporais (SUZUKI, *et al.*, 2000; MEISTER; ANDERSON, 1983; KIRKMAN; GAETANI, 2007).

3 HIPÓTESES

H0: O maior condicionamento aeróbio dos indivíduos treinados não resultará em diferenças na capacidade antioxidante e no nível de estresse oxidativo em comparação aos indivíduos sedentários. Após uma sessão de exercício progressivo até a exaustão em um cicloergômetro, não há diferenças na atividade antioxidante no nível de estresse oxidativo para os dois grupos.

H1: Como consequência do estado de condicionamento físico, a capacidade antioxidante em repouso é maior para indivíduos treinados aerobicamente em comparação a indivíduos sedentários, e o nível de estresse oxidativo é igual entre os grupos, em repouso. Após uma sessão de exercício progressivo até a exaustão em um cicloergômetro, a atividade antioxidante é aumentada para os dois grupos, com maior aumento para os indivíduos treinados aerobicamente, e o nível de estresse oxidativo é aumentado para os dois grupos, sem diferença entre ambos.

4 MÉTODOS

Este estudo foi submetido e aprovado pelo comitê de ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais, parecer consubstanciado número 1.505.676, visando atender à resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Brasil. Os participantes receberam e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) antes de serem incluídos no estudo. A identidade dos voluntários foi preservada. Foi dada a instrução aos voluntários informando que eles poderiam abandonar o experimento a qualquer momento sem a necessidade de justificarem-se. Os dados coletados dos voluntários foram utilizados apenas para fins de pesquisa.

4.1 Amostra

Segundo cálculo do tamanho amostral (software GPower versão 3.1.9.2) para um nível de significância de 5%, a amostra deveria ter um n de 10 indivíduos em cada grupo, para que a análise obtivesse um poder de 90%. Para um poder de 95% e nível de significância 5% ($p=0,05$) a amostra deveria conter 13 indivíduos (RICE-EVANS; MILLER, 1994).

Foram recrutados dois grupos de indivíduos para participar deste estudo, grupo treinado (TR) com nível de performance 4 e grupo sedentário (SD) com nível de performance 1, todos do sexo masculino (PAUW *et al.*, 2013). O grupo treinado foi formado por 12 atletas que estavam entre os 20 melhores ciclistas no ranking brasileiro profissional de 2017, 1 atleta de triatlo integrante atual da seleção brasileira, e 1 atleta de triatlo de longa distância. Já o grupo sedentário, foi composto por 14 indivíduos não treinados em ciclismo, com gasto energético semanal em atividades físicas inferior a 1000 kcal por semana, o que está abaixo do recomendado pelo American College of Sports Medicine (ACSM) para ser considerado fisicamente ativo (GARBER *et al.*, 2011). A média de idade foi de $28,3 \pm 7,9$ anos para grupo treinado e $32,7 \pm 4,6$ anos para o sedentário. O tempo médio da prática de exercício semanal era de $22,4 \pm 4,9$ horas para o grupo TR, e $0,9 \pm 0,4$ horas para o SD. Foi aplicado o questionário IPAQ versão curta para determinar o tempo da prática de exercício e o consumo energético semanais dos indivíduos, com um recordatório dos últimos 12 meses. A versão curta do questionário internacional de atividade física (IPAQ) foi desenvolvida em conjunto por pesquisadores da Organização Mundial da Saúde (OMS), do Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (CDC, EUA) e do Instituto Karolinska (Suécia). Ela é composta por sete questões

abertas e suas informações permitem estimar o tempo despendido, por semana, em diferentes dimensões de atividade física (caminhadas e esforços físicos de intensidades moderada e vigorosa) e de inatividade física (posição sentada).

Os seguintes critérios de inclusão foram utilizados: estar de acordo e ter assinado o termo de consentimento livre e esclarecimento sobre a participação na pesquisa; estar aparentemente saudável, livre de qualquer tipo de doença e sem uso de medicamentos; não utilizar nenhum suplemento alimentar, vitamínico ou antioxidantes durante período de 24 horas antes de iniciarem o protocolo de exercício até o encerramento da última coleta de amostra sanguínea; ser adulto (18 a 40 anos); ser do sexo masculino.

Os participantes foram instruídos a não praticarem atividade física e manterem suas rotinas alimentares, sem o consumo de bebida alcoólica, ou suplementos/alimentos contendo cafeína 24 horas antes do experimento, e a manterem-se sem alimentação por 3 horas antes do experimento. Todos os voluntários compareceram para a realização do protocolo experimental.

4.2 Desenho experimental

Os procedimentos do experimento foram baseados no teste progressivo máximo em cicloergômetro adaptado de Balke e Ware (BALKE; WARE, 1959), com espirometria direta, para determinar o consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$), com uma coleta de amostra sanguínea pré-teste e outra logo após o teste. A adaptação consistiu em aumentar a carga a cada 600m percorridos, com as rotações por minuto de livre escolha, ao contrário do teste original, no qual a carga é fixa e o rpm é aumentado a cada 2 minutos. A adaptação para cadência livre foi necessária para evitar que o voluntário interrompa o teste por falta de qualidade técnica ao pedalar em cadências elevadas. Para as situações durante as quais houve variação da cadência, o cicloergômetro ajustou a carga de maneira automática, imediatamente, evitando que o esforço fosse alterado.

As variáveis ergoespirométricas foram registradas durante todo o experimento. O ergoespirômetro (analisador de gases portátil modelo “Quark” da marca COSMED (Itália)) foi calibrado antes de cada teste e todos os voluntários foram avaliados utilizando o mesmo sistema.

Todo o procedimento com o sangue e a medida da pressão arterial (PA) foi realizado por profissional de enfermagem especialista em técnica de punção venosa. A pressão arterial foi medida utilizando um esfigmomanômetro aneróide “DS44-BR” Welch Allyn Durashock (EUA). Os dados da pressão arterial foram coletados e analisados como critério de segurança à saúde dos voluntários. Esse acompanhamento foi realizado por um médico cardiologista durante todo o experimento.

Ao final de cada estágio a escala de percepção subjetiva de esforço (PSE) foi apresentada ao voluntário para que ele apontasse o nível correspondente a sua percepção (BORG, 1982).

O teste era encerrado quando o avaliado apresentasse uma das seguintes condições: (a) quando o voluntário solicitasse a interrupção do teste por qualquer motivo; (b) se fossem observados quaisquer sintomas que indicassem perfusão precária como tontura, confusão, ataxia, palidez, cianose, náuseas; (c) pela falha de qualquer equipamento utilizado no experimento.

Para a familiarização dos indivíduos sedentários com o protocolo de teste, foi utilizada atividade preparatória iniciada 15 minutos antes do teste, que consistiu em pedalar por 10 minutos no cicloergômetro, com a potência correspondente a 2% (GRIPP *et al.*, 2009) da massa corporal (aproximadamente 25 W) e a cadência escolhida livremente, utilizando a máscara do analisador de gases. Uma mesma bicicleta modelo Stumpjumper, da marca Specialized (EUA), 27 marchas, câmbio Shimano XTR (Japão), rodas aro 26 com pneu liso e calibragem padronizada em 90 libras, foi utilizada para familiarização e testes com os indivíduos sedentários, adaptada ao rolo de treinamento.

Os participantes foram considerados familiarizados com o cicloergômetro e com a utilização da máscara do analisador de gases, por utilizarem estes equipamentos constantemente durante a rotina de treinamento. Suas próprias bicicletas foram utilizadas para o teste, adaptadas ao rolo de treinamento (ou cicloergômetro) modelo “Computrainer Racer Mate” da marca Computrainer Inc. (EUA). A marca e modelo de cada bicicleta utilizada pelos indivíduos treinados foi registrada e a calibragem dos pneus foi padronizada em 90 libras. Dois voluntários preferiram utilizar a mesma bicicleta que foi utilizada pelos indivíduos sedentários; nove voluntários utilizavam bicicletas modelo Tarmac, da marca Specialized (EUA), 22 marchas, câmbio Shimano Ultegra (Japão),

rodas aro 27, pneus lisos. Outros três voluntários utilizaram as seguintes bicicletas: modelo caad8, da marca Cannondale (EUA), 22 marchas, câmbio Shimano 105 (Japão), pneus lisos; modelo Scalle, da marca Scott (Suíça), 22 marchas, câmbio Sram GX12 (EUA), pneus lisos; modelo Super six evo, da marca Cannondale (EUA), 22 marchas, câmbio Sram red (EUA).

4.3 Momentos experimentais

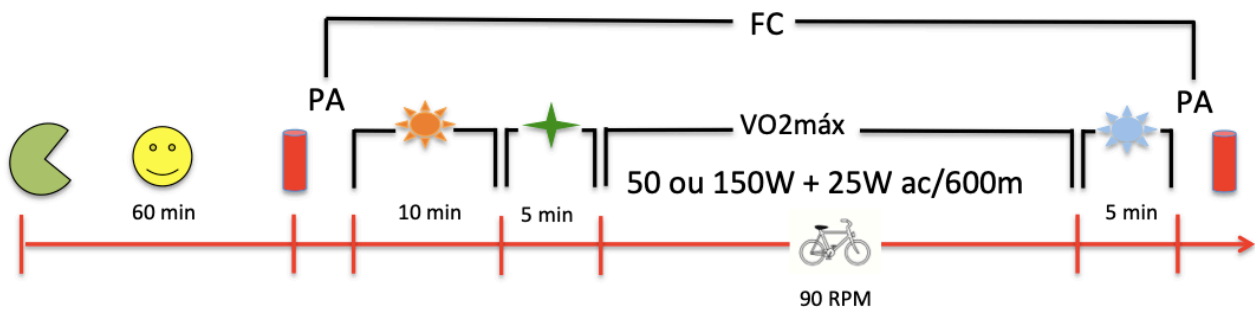
Foram utilizados dois laboratórios para os testes. Em junho de 2017, 9 indivíduos foram testados no Laboratório de Fisiologia do Exercício e Metabolismo (LAFEM, USP). Em setembro de 2018, 19 indivíduos foram testados no Laboratório de Fisiologia do Exercício (LAFISE, UFMG). Os ambientes experimentais foram utilizados com a temperatura e umidade relativa do ar padronizados em $22 \pm 0,5$ graus Celsius e $60\% \pm 2,0$ respectivamente.

No dia do experimento, ao chegar ao laboratório estando em jejum durante as últimas 3 horas, os indivíduos receberam o TCLE para leitura e assinatura. Em seguida receberam uma refeição pré-teste padronizada composta em maioria por carboidrato, com uma pequena quantidade de gordura e proteína (ver “Alimentação”). Os voluntários permaneceram em repouso por 60 minutos, quando a estatura e massa corporal individual foram registradas. Ao final deste período foram submetidos à coleta sanguínea por punção venosa e à mensuração e da pressão arterial (ver “Apêndice 3”). Em seguida, iniciaram a atividade preparatória.

Após os 10 minutos da atividade preparatória foi iniciado o teste a 50 W (sedentários) e 150 W (treinados), com cadência constante de livre escolha, progressão de 25 W a cada 600 metros percorridos (aproximadamente 2 minutos) e registro da frequência cardíaca a cada 1 minuto. Em todo sinal de redução da cadência foi dado o comando verbal padronizado “Vamos! Mantenha a cadência!”. Quando o voluntário alterava a cadência o cicloergômetro computadorizado ajustava a potência inversamente, de maneira automática, para garantir que o esforço fosse mantido até a exaustão. O teste era finalizado quando o indivíduo interrompia o exercício, e o processo de volta à calma acontecia em sequência, pedalando por 5 minutos sem carga. A pressão arterial foi registrada imediatamente ao final do teste (ver “Apêndice 3”) e uma amostra de sangue foi coletada imediatamente ao final do período de volta à calma. A frequência cardíaca

continuou sendo registrada a cada minuto após o final do teste, durante o período de volta à calma e após 5 minutos de repouso, que foram contados após a conclusão do processo de volta à calma, quando a pressão arterial foi registrada pela última vez. A descrição cronológica do momento experimental está representado pela figura 4.

Figura 4 - Descrição cronológica do momento experimental



Legenda:		Medidas de peso e estatura
		Refeição padronizada
		Coleta de sangue (4ml)
		Atividade preparatória: 10 minutos pedalando com o peso de 2% da massa corporal
		Processo de volta à calma: 5 minutos pedalando sem carga
		Pausa, ajustes do ergoespirômetro
		Exercício progressivo máximo
	FC	Medida da frequência cardíaca
	PA	Medida da pressão arterial

4.4 Alimentação

Os voluntários receberam orientação nutricional através de um nutricionista para padronização da alimentação 24 horas antes do teste, buscando eliminar consequentes efeitos sobre os resultados. Foi solicitado aos voluntários que não fizessem o consumo de bebidas alcoólicas, drogas, substâncias estimulantes e ou enriquecidas com vitaminas/minerais e que permanecessem em jejum durante as últimas 3 horas antes do teste. A refeição pré-teste foi composta por alimentos como pão, água, melado de milho e creme de avelã, e a quantidade de alimento foi de livre escolha, porém os indivíduos foram

lembrados para não ingerirem nada em excesso, de modo que se sentissem comprometidos em realizar o teste de esforço máximo.

4.5 Procedimento para punção venosa

Amostras de sangue de 4 ml foram coletadas por punção venosa na veia antecubital medial em dois momentos, imediatamente antes da atividade preparatória de 10 minutos, e imediatamente após o período de volta à calma de 5 minutos.

As amostras de sangue obtidas em cada momento dos dois grupos experimentais foram coletadas utilizando agulhas descartáveis em tubos vacuum contendo heparina e imediatamente centrifugadas em temperatura ambiente, a 3.000 rotações por minuto por 10 minutos. O plasma sobrenadante foi coletado e as amostras foram armazenadas em -80°C até o momento do ensaio.

O processo de obtenção e manipulação das amostras ocorreu dentro dos padrões de biossegurança. Todos os materiais relacionados à coleta sanguínea eram descartáveis e o lixo correspondente foi devidamente tratado e armazenado para o correto descarte.

4.6 Variáveis analisadas

Intensidade e cadência

Para o controle computadorizado de intensidade e mensuração da cadência foi utilizado o cicloergômetro “Computrainer Racer Mate” Computrainer Inc. (EUA), adaptado à bicicleta de cada ciclista profissional e à bicicleta utilizada pelos indivíduos sedentários. O cicloergômetro foi calibrado a cada teste, antes da atividade preparatória. A potência máxima ($W_{\text{máx}}$) foi determinada pela potência atingida pelo voluntário ao completar o último estágio ou, quando este não foi completo, utilizou-se o cálculo seguindo a equação $W_{\text{máx}} = W1 + (W2 * t/120)$, onde $W1$ é a potência correspondente ao último estágio completo, $W2$ é a potencia correspondente ao incremento de carga de cada estágio, e t é o tempo em segundos da duração do estágio incompleto. Quando o último estágio não foi concluído pelo voluntário, a potência final foi determinada no momento em que o indivíduo não conseguiu sustentar a cadência com a potência proposta por um período superior a 10 segundos, ou quando o indivíduo interrompeu o teste devido à exaustão, indicando ser

este o esforço máximo suportado (KUIPERS *et al.*, 1985). O cicloergômetro utilizado possui ajuste automático da potência para as situações de redução ou aumento da cadência durante o teste, com o objetivo de manter o nível de esforço proposto para cada estágio.

Consumo máximo de O₂ (VO_{2máx})/ razão de trocas respiratória (R)

As análises das variáveis espirométricas VO_{2máx} e R foram realizadas através de um sistema de espirometria direta de circuito aberto, utilizando o aparelho analisador de gases portátil “Quark” COSMED (Itália). O aparelho foi calibrado antes de cada teste para evitar erros de medida. O tamanho da máscara foi escolhido para cada participante evitando o vazamento de ar. O protocolo utilizado para a medida das variáveis de troca gasosa foi o modo respiração-a-respiração. As medidas do volume expirado aconteceram a cada 3 segundos e a média dos valores a cada intervalo de 15 segundos foi utilizada para evitar o ruído de intervalos curtos.

Para o cálculo dos resultados de espirometria (consumo de oxigênio) os valores finais não estabilizaram formando platôs, com isso não foi possível estabelecer os valores específicos de VO_{2máx}. Portanto, para esse estudo o VO_{2máx} considerado foi o valor do pico de consumo de O₂ (VO_{2pico}). O VO_{2pico} foi calculado através da média dos valores dos 30 segundos restantes do último estágio completo ou do estágio final, quando incompleto, que tenha duração não inferior a 30 segundos (ATS *et al.*, 2003). Os valores de VO_{2máx} neste texto serão expressos em ml de O₂/ kg de massa corporal/ minuto (ml/ kg/ min).

O R significa a relação da troca gasosa entre a produção de dióxido de carbono (VCO₂) e o volume de oxigênio consumido (VO₂) e é dado pela seguinte razão: $R = VCO_2/VO_2$. Seu valor é determinado pelo substrato energético predominantemente utilizado nos processos metabólicos. Um R de 1,0 indica metabolismo predominantemente de carboidratos, enquanto que um R de menos de 1,0 indica uma mistura de carboidratos com gordura (R, cerca de 0,7) ou proteína (R, cerca de 0,8). Um R maior do que 1.0 pode ser causado pelo CO₂ derivado da acidose láctica ou por hiperventilação (ATS *et al.*, 2003).

Massa corporal e estatura

A massa corporal e a estatura dos voluntários foram medidas utilizando uma balança com antropômetro “Welmy W300 A” (Brasil). No momento da medição, os indivíduos estavam vestidos somente com a bermuda de ciclismo.

Variáveis sanguíneas e métodos de ensaio

Após os procedimentos de coleta e centrifugação do sangue, o plasma foi coletado para mensuração de fatores antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos e MDA, como medida da peroxidação lipídica. Cada sobrenadante foi dividido em três alíquotas e analisadas em duplicata.

Marcadores do sistema antioxidante

Superóxido Dismutase (SOD)

A dosagem da atividade da superóxido dismutase (SOD) é baseada na sua habilidade em catalisar a dismutação de radicais superóxidos (O_2^-), à H_2O_2 e O_2 , diminuindo a razão de auto-oxidação do pirogallol (adaptado de DIETERICH *et al.*, 2000).

Foi plaqueado 30 μ L de soro em placa de 96 poços e acrescido de 99 μ L de tampão fosfato, 6 μ L de MTT (brometo de dimetiltiazol-difeniltetrazolium) e 15 μ L de pirogallol. Para o branco, o pirogallol foi substituído por tampão fosfato e para o padrão, a amostra foi substituída por tampão fosfato. Após cinco minutos de incubação a 37°C, a reação foi parada com 150 μ L de DMSO (dimetil sulfóxido) e a absorbância foi lida a 570 nm. Para o cálculo do resultado foi considerado que 1 unidade (U) de SOD é capaz de evitar a autooxidação de 50% de pirogallol do padrão. O resultado foi expresso em Unidades por mg de proteína (U/mg proteínas).

Glutathiona reduzida (GSH), oxidada (GSSG) e razão de Glutathiona (GSH/ GSSG)

O nível de GSH no plasma foi determinado por fluorescência utilizando o o-ftalaldeído (OPT) (HISSIN & HILF, 1976; SINGH *et al.*, 2017). As amostras foram tratadas com solução de ácido fosfórico (10%) e centrifugadas a 10000 rpm a 4°C. A solução de OPT (1

mg/ mL metanol) foi adicionada ao sobrenadante coletado, previamente diluído ao tampão fosfato (0,1 M, 0,1 M EDTA e pH 8,0). Após 15 min de incubação a temperatura ambiente com a sonda, a fluorescência foi medida em Fluorímetro (Synergy 2, Biotek®) 350 nm de excitação e 420 nm de emissão. A concentração de GSH foi estimada a partir da curva de calibração utilizando GSH (Sigma-Aldrich, Wien, Austria) como padrão, e expressa como μM . Para o ensaio de GSSG (glutathiona oxidada), 50 μL do sobrenadante do precipitado foram incubados em temperatura ambiente com 0.5 μL de 0.4 M NEM (N-ethylmaleimide, dissolvida em 100% etanol) por 30 min a fim de interagir com GSH presente no sobrenadante. Em seguida, foi adicionada em 10 μL da mistura a quantidade de 10 μL OPT e 180 μL 0.1 N NaOH (pH-12). A fluorescência foi medida em fluorímetro (Synergy 2, Biotek®) 350 nm de excitação e 420 nm de emissão em leitor de microplaca. A concentração de GSSG foi estimada a partir da curva de calibração utilizando GSSG (Sigma-Aldrich, Wien, Austria) como padrão e expressa como μM .

A relação redox (redução/ oxidação) que indica a atividade antioxidante é expressa em GSH/ GSSG e foi calculada através dos resultados de GSH divididos pelos de GSSG (JONES, 2006; PÓCSI; PRADE; PENNINCKX, 2004).

Indicadores de estresse oxidativo

Dosagem de MDA ou TBARS (Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico)

O procedimento de análise de TBARS ocorre através da reação do ácido tiobarbitúrico com o MDA, formando um aduto na proporção de 2:1, sendo este detectado espectrofotometricamente a 535 nm (WALLIN *et al.*, 1993).

A determinação de TBARS foi realizada segundo o método descrito por BUEGE e AUST (1978). Para tal, 250 μL do soro foram adicionados a 500 μL da solução de ácido tricloroacético 15% (p/v), ácido tiobarbitúrico 0.38% (p/v) e HCl a 0.25 N. A mistura foi aquecida em banho seco por um período de 15 minutos a 100°C. Imediatamente após o banho seco, a amostra foi colocada em gelo por 10 minutos. Para interromper a reação adicionou-se 750 μL de butanol em cada amostra, e a mistura foi centrifugada a 3.000rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado e transferido para a placa ELISA (em placa de 96 poços – 200 μL / poço). A absorbância do sobrenadante foi lida a 535 nm em

espectrofotômetro (Shimadzu®, Japão). Os resultados foram expressos como concentração de MDA ($\mu\text{M}/\text{mg}$ proteína) e normalizados por dosagem de proteínas pela técnica de LOWRY *et al.* (1951), segundo a qual a concentração de proteínas nas amostras é calculada através de uma curva padrão, feita com albumina.

Óxido nítrico (NO)

As concentrações de óxido nítrico (nitrito/ nitrato) no plasma das amostras foram determinadas usando um ensaio baseado na conversão enzimática de nitrato para nitrito pela enzima nitrato redutase, seguido por detecção colorimétrica de nitrito como um produto corante azo da reação de Griess (R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA). No dia do ensaio, todas as amostras de plasma foram descongeladas em temperatura ambiente, “vortexzadas”, e foram centrifugadas a 16,000 g por 20 minutos a 4°C, para remover partículas. Após isto, 100 microlitros de cada sobrenadante foram misturados com 100 μl do reagente Griess por 10 minutos a 37 °C. A absorbância foi obtida e gravada, a partir de uma placa 96-well, utilizando o leitor de Elisa (SOFTmax Pro - versão 2.2.1) em 540 nM com correção de comprimento de onda em 690 nM. Os níveis de nitrito total foram determinados usando uma curva padrão. A produção de NO foi expressa em $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de proteína (TSIKAS, D, 2007).

4.7 Análise estatística

A análise descritiva dos dados coletados foi realizada utilizando o programa Microsoft Office Excel 2016, incluindo a obtenção das médias e desvios-padrão (média $\pm$ DP).

Foi verificada a normalidade dos dados através do teste de Kolmogorov-Smirnov utilizando o programa SPSS Statistics, versão 20 (SPSS Inc., Chicago – US). Para comparar as variáveis que caracterizam os dois grupos experimentais foi utilizado o teste *t* de Student não pareado para comparação inter-grupo experimental. Para comparar uma possível diferença inter-grupo e ao longo do tempo (pré- e pós-exercício) nas variáveis sanguíneas, foi aplicada uma análise de variância ANOVA two-way e para medidas repetidas. Quando necessário foi utilizado o teste *post-hoc* para múltipla comparação de Tukey HSD. O valor de significância adotado foi o de $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

Os dados da amostra e do teste de $VO_{2\text{máx}}$ estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Dados da amostra e do teste de $VO_{2\text{máx}}$.

	SD	TR	p
ESTATURA (cm)	173,9 ± 6,4	177,7 ± 8,0	0,176
MASSA CORPORAL (kg)	81,0 ± 7,7	70,8 ± 8,2	0,002
EXERCÍCIO SEMANAL (horas)	0,9 ± 0,4	22,4 ± 4,9	<0,001
IDADE	32,7 ± 4,6	28,3 ± 7,9	0,087
$VO_{2\text{máx}}$ (ml / kg / min)	33,37 ± 3,69	62,56 ± 6,07	<0,001
R máximo (VO_2 / CO_2)	1,15 ± 0,070	1,24 ± 0,04	0,001
PSE	19,71 ± 0,61	19,7 ± 0,4	0,070
POTÊNCIA MÁX. (watts)	202,35 ± 28,02	394,64 ± 41,80	<0,001
TEMPO DO EXERCÍCIO (min)	12,16 ± 1,80	20,83 ± 3,85	<0,001

Comparação estatística entre os dois grupos através do Teste t de Student não pareado para comparação inter-grupo experimental. O valor de significância adotado foi o de $p < 0,05$.

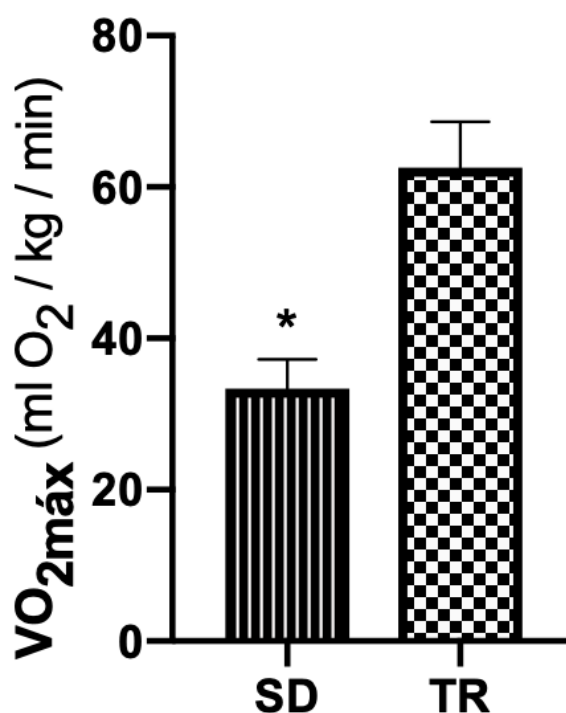
Legenda: EXERCÍCIO SEMANAL: Tempo médio de exercício físico praticado semanalmente por cada voluntário; $VO_{2\text{máx}}$: Volume máximo de oxigênio consumido por minuto expressado em mililitros de O_2 /quilograma de peso corporal/ minuto de exercício (ml/ kg/ min); R: Razão de trocas respiratórias expressado pela razão entre os volumes de O_2 e de CO_2 expirados (VO_2 / CO_2); PSE: Percepção subjetiva de esforço; POTÊNCIA MÁX: Potência máxima atingida ao final do exercício experimental expressada em watts; TEMPO DO EXERCÍCIO: Tempo total do exercício no protocolo experimental expressado em minutos (min).

5.1 Variáveis de desempenho

Consumo máximo de oxigênio ($VO_{2\text{máx}}$)

Os valores de $VO_{2\text{máx}}$ foram diferentes entre os grupos (TR $62,56 \pm 6,07$ ml/ kg/ min > SD $33,37 \pm 3,69$ ml/ kg/ min, $p < 0,001$), gráfico 1.

Gráfico 1: Consumo máximo de oxigênio ($VO_{2\text{máx}}$)

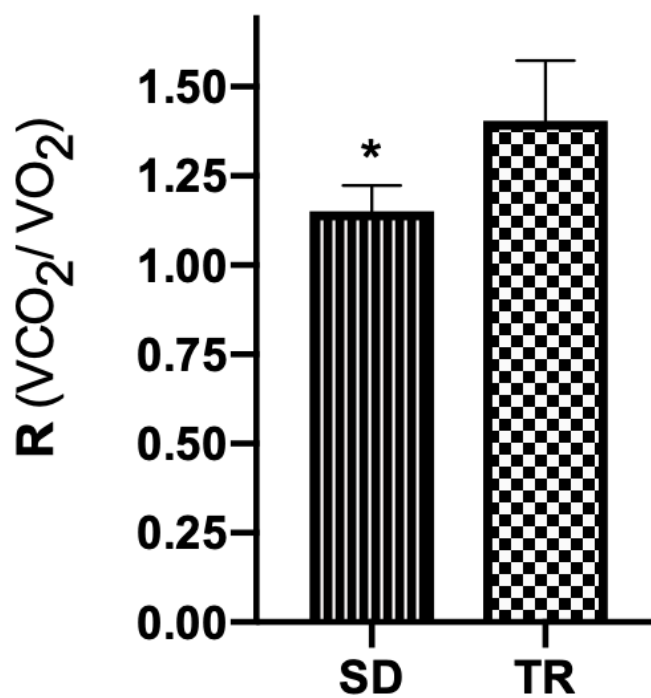


Legenda: * representa SD diferente de TR, $p < 0,001$.

Razão de trocas respiratórias (R)

Os dois grupos atingiram valores acima de 1,15 para o R ao final do protocolo de exercício, (TR $1,24 \pm 0,04$ e SD $1,15 \pm 0,07$, $p = 0,001$), gráfico 2.

Gráfico 2 - Razão de trocas respiratórias (R)

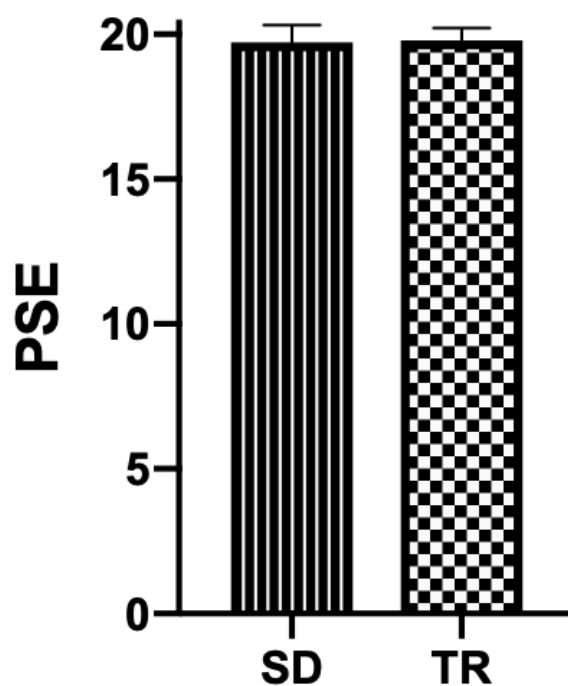


Legenda: * representa SD diferente de TR, $p=0,001$.

Percepção subjetiva do esforço (PSE)

Não houve diferença significativa para a PSE entre os grupos ao final do exercício (TR $19,7 \pm 0,4$ = SD $19,7 \pm 0,6$, $p=0,070$), gráfico 3.

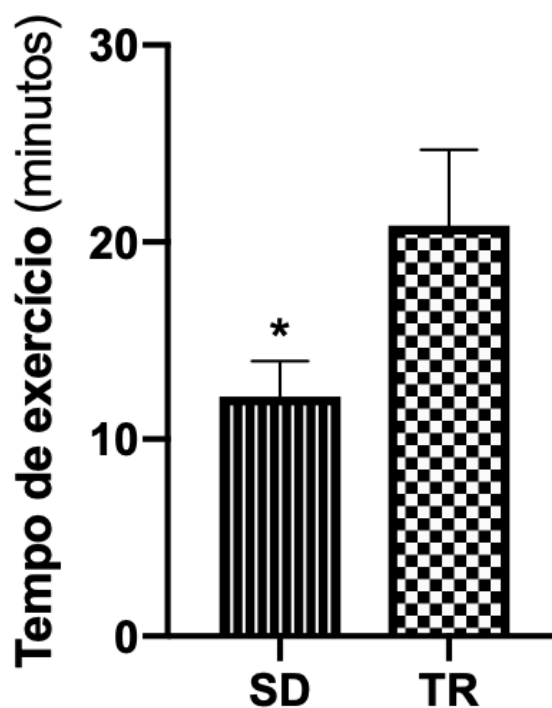
Gráfico 3 - Percepção subjetiva de esforço (PSE)



Tempo total de exercício

O tempo total de exercício no protocolo experimental foi significativamente maior para o grupo TR (TR $20,83 \pm 3,85$ minutos e SD $12,16 \pm 1,80$ minutos, $p < 0,001$), gráfico 4.

Gráfico 4 - Tempo total de exercício no protocolo experimental expressado em minutos

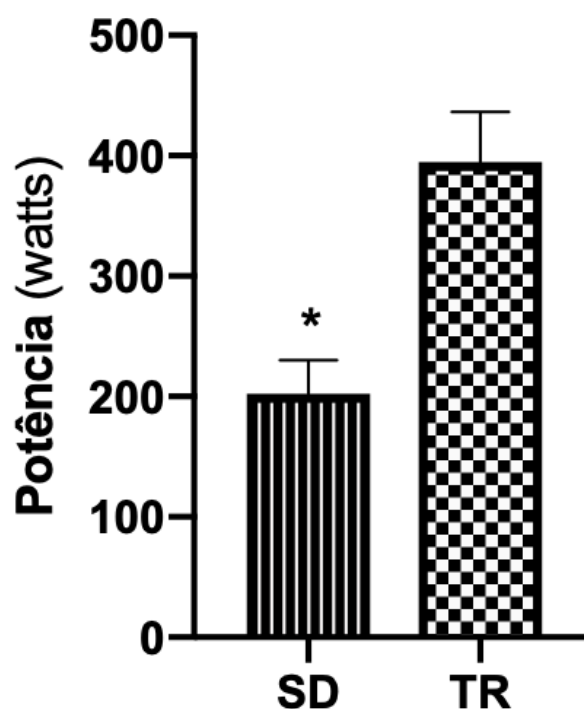


Legenda: * representa SD diferente de TR, $p < 0,001$.

Potência máxima atingida

A potência máxima atingida ao final do protocolo experimental foi significativamente maior para o grupo TR (TR $394,64 \pm 41,8$ W e SD $202,35 \pm 28,02$ W, $p < 0,001$), gráfico 5. Através dos valores de potência máxima atingida, podemos classificar os indivíduos deste estudo pelo nível de performance. Os voluntários do grupo TR foram classificados como nível 4 e os SD como nível 1 de performance (PAUW *et al.*, 2013).

Gráfico 5 - Potência máxima atingida ao final do exercício experimental expressada em watts



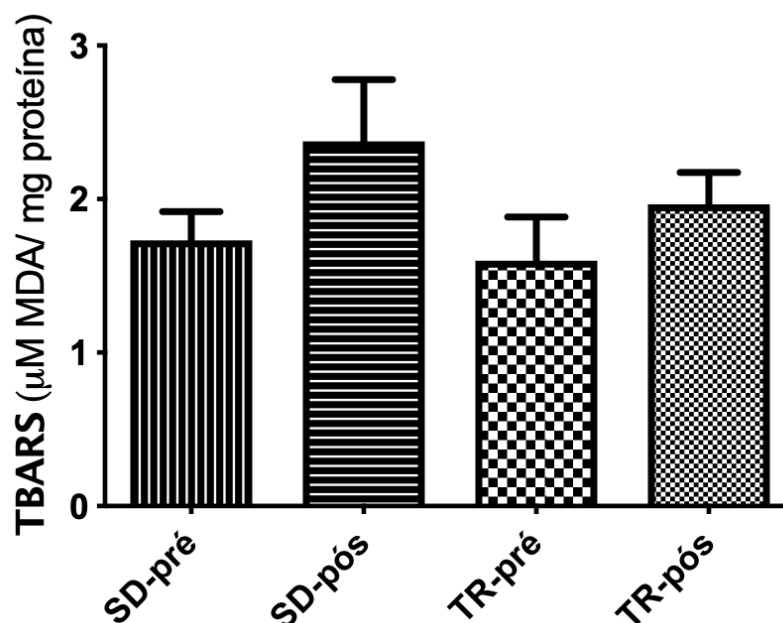
Legenda: * representa SD diferente de TR, $p < 0,001$

5.2 Variáveis sanguíneas

5.2.1 TBARS (Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) ou dosagem de MDA

Não houve interação entre os momentos e os grupos ($p=0.265$). Houve dano aumentado após exercício independentemente do grupo (pré $1.657 \pm 0,244$ x pós $2.154 \pm 0,363$, $p < 0.001$). O grupo SD apresentou maior dano celular comparado ao TR independentemente do momento (SD $2.000 \pm 0,443$ x TR $1.811 \pm 0,323$, $p=0.021$). Não houve diferença significativa entre SD-pré e SD-pós (SD-pré $1.707 \pm 0,201$ x SD-pós $2.293 \pm 0,426$, $p=0.265$), e entre TR-pré e TR-pós (TR-pré $1.607 \pm 0,278$ x TR-pós $2.014 \pm 0,224$) e, $p=0.265$). O gráfico 6 mostra os resultados para TBARS.

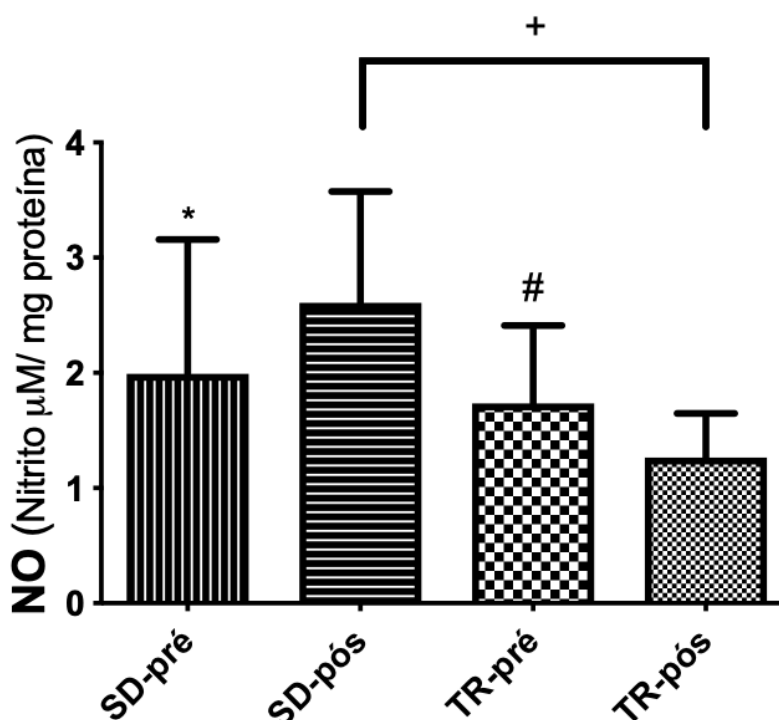
Gráfico 6 - Resultados das medidas de TBARS (concentrações de MDA)



5.2.2 Óxido nítrico (NO)

Houve interação entre os momentos e os grupos ($p < 0.001$). Os níveis séricos de NO foram maiores para o grupo SD comparado ao TR independentemente do momento (SD $2.300 \pm 1,097$ x TR $1.500 \pm 0,590$, $p = 0.010$). Houve aumento significativo dos níveis de NO provocado pelo exercício para o grupo SD (SD-pré $1.993 \pm 1,165$ x SD-pós $2.607 \pm 0,969$, $p = 0.006$) e redução para o TR (TR-pré $1.736 \pm 0,675$ x TR-pós $1.264 \pm 0,385$, $p = 0.029$). No momento pós-exercício, a concentração de NO para o grupo SD foi maior em comparação ao TR (SD-pós 2.607 x TR-pós 1.264 , $p < 0.001$), e no momento pré-exercício não houve diferença entre o grupo SD e o TR (SD-pré 1.993 x TR-pré 1.736 , $p = 0,430$). Não houve diferença significativa comparando os momentos independentemente dos grupos (pré $1.864 \pm 0,944$ x pós $1.936 \pm 0,995$, $p = 0.624$). O gráfico 7 mostra os resultados para NO.

Gráfico 7 - Resultados das medidas de NO (concentrações de nitrito)

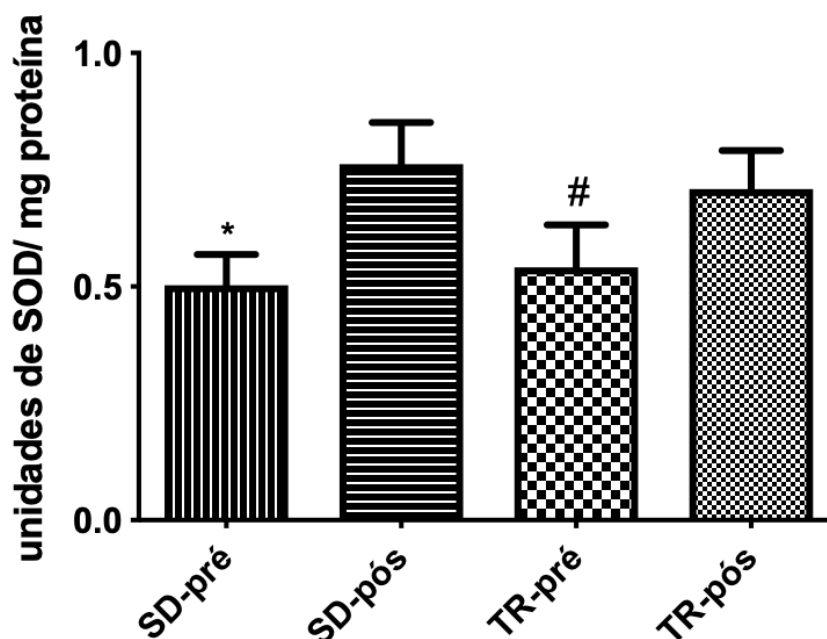


Legenda: + representa SD-pós maior em comparação a TR-pós. * representa SD-pré menor em comparação a SD-pós. # representa TR-pré maior em comparação a TR-pós.

5.2.3 Superóxido Dismutase (SOD)

Houve interação entre os momentos e os grupos ($p=0.008$). As concentrações de SOD no momento pós-exercício foram maiores em comparação ao pré-exercício, independentemente dos grupos (pré $0.522 \pm 0,080$ x pós $0.735 \pm 0,088$, $p<0.001$). Houve aumento das concentrações de SOD provocado pelo exercício para o grupo SD (SD-pré $0.503 \pm 0,066$ x SD-pós $0.762 \pm 0,088$, $p<0,001$) e para o TR (TR-pré $0.541 \pm 0,090$ x TR-pós $0.709 \pm 0,082$, $p<0,001$). Não houve diferença significativa para os níveis de SOD comparando o grupo SD com o TR, independentemente dos momentos (SD $0.633 \pm 0,152$ x TR $0.625 \pm 0,120$, $p=0.782$)., o gráfico 8 mostra os resultados para SOD.

Gráfico 8 - Resultados das medidas de SOD (unidades de SOD)

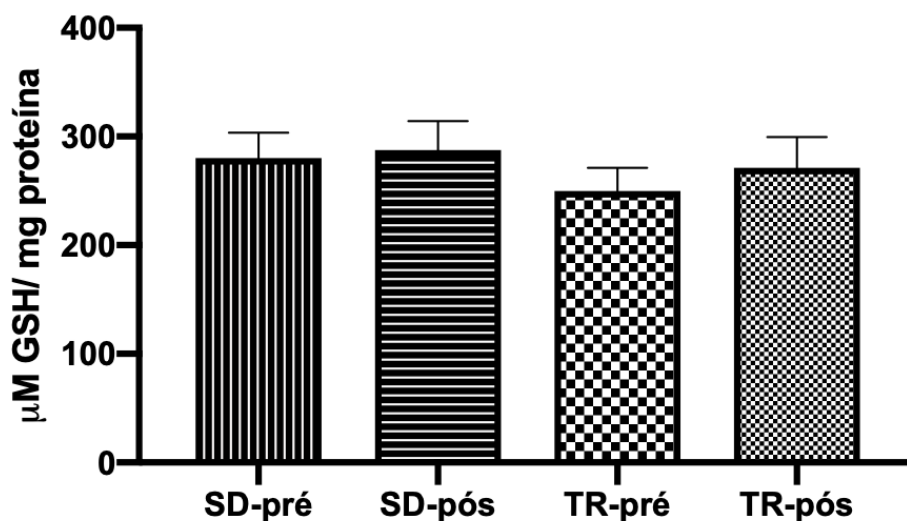


Legenda: * representa SD-pré menor em comparação a SD-pós. # representa TR-pré menor em comparação a TR-pós.

5.2.4 Glutathiona reduzida (GSH)

Não houve interação entre os momentos e os grupos ($p=0.308$). Os níveis de GSH foram maiores para o grupo SD em comparação ao TR independentemente do momento (SD 283.861 ± 24.736 x TR 260.421 ± 26.986 , $p=0.001$). A concentração de GSH aumentou significativamente após o exercício independentemente do grupo (pré 264.928 ± 26.875 x pós 279.353 ± 28.178 , $p=0.039$). O gráfico 9 mostra os resultados para GSH.

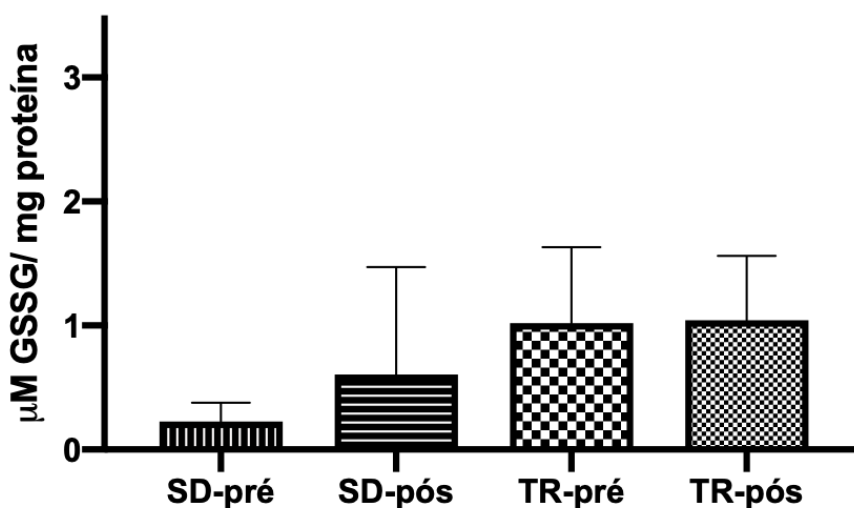
Gráfico 9 - Resultados das medidas de GSH



5.2.5 Glutathiona oxidada (GSSG)

Não houve interação entre os momentos e os grupos ($p=0.327$). O grupo SD apresentou menores níveis de GSSG em comparação ao TR independentemente do momento (SD 0.415 ± 0.637 x TR 1.032 ± 0.554 , $p=0.001$). Não houve diferença significativa na concentração de GSSG comparando o momento pré- com o pós-exercício independentemente do grupo (pré 0.623 ± 0.596 x pós 0.824 ± 0.732 , $p=0.268$). O gráfico 10 mostra os resultados para GSSG.

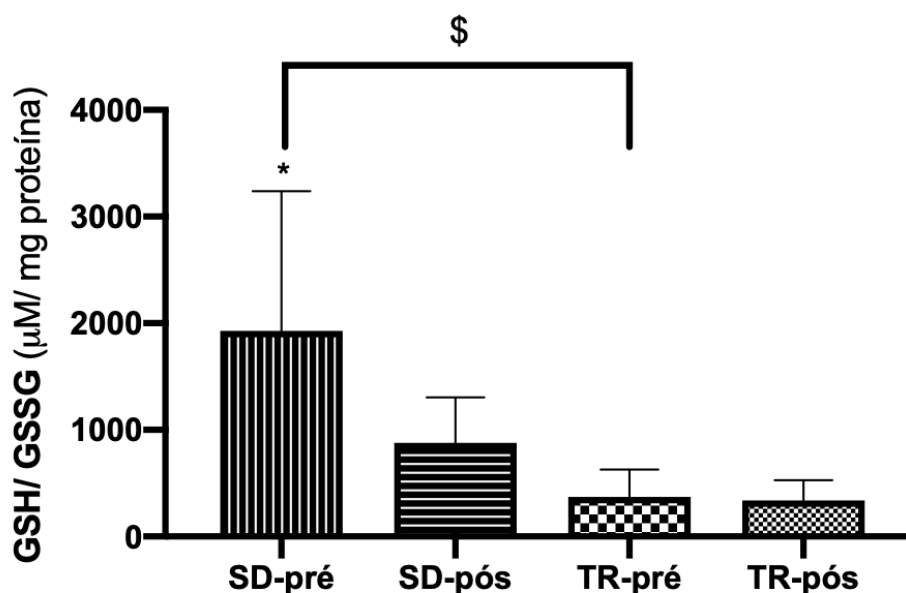
Gráfico 10 - Resultados das medidas de GSSG



5.2.6 Razão de Glutathiona (GSH/ GSSG)

Houve interação entre os momentos e os grupos ($p=0.022$). O grupo SD apresentou maior razão de glutathiona em comparação ao TR, independentemente do momento (SD 1402.041 ± 0.637 x TR 354.935 ± 0.554 , $p<0.001$). A GSH/ GSSG reduziu após o exercício para o grupo SD (SD-pré $1927.413 \pm 1311,680$ x SD-pós 876.668 ± 428.187 , $p=0.001$). Não houve diferença significativa entre o momento pré- e o pós-exercício para o grupo TR (TR-pré 373.039 ± 255.915 x TR-pós $336.832 \pm 192,104$, $p=0.905$). No momento pré-exercício, o grupo SD apresentou maiores valores em comparação ao TR (SD-pré $1927.413 \pm 1311,680$ x TR-pré 373.039 ± 255.915 , $p<0,001$). No momento pós-exercício, não houve diferença significativa de GSH/ GSSG entre o grupo SD e o TR (SD-pós 876.668 ± 428.187 x TR-pós $336.832 \pm 192,104$, $p=0,082$). Houve diferença significativa na GSH/ GSSG comparando o momento pré- com o pós-exercício independentemente do grupo (pré 1150.226 ± 0.596 x pós 606.750 ± 0.732 , $p=0.015$). O gráfico 11 mostra os resultados para GSH/ GSSG.

Gráfico 11 - Resultados das medidas da razão GSH/ GSSG



Legenda: * representa SD-pré maior em comparação a SD-pós.

Os dados das variáveis sanguíneas estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2 - Dados das análises sanguíneas

	SD PRÉ	SD PÓS	TR PRÉ	TR PÓS
TBARS (μM MDA/ mg proteína)	1,70 $\pm$ 0,20	2,29 $\pm$ 0,42	1,60 $\pm$ 0,27	2,01 $\pm$ 0,22
NO (Nitrito μM/ mg proteína)	1,99 $\pm$ 1,16	2,60 $\pm$ 0,96	1,73 $\pm$ 0,67	1,26 $\pm$ 0,38
SOD (unid. de SOD/ mg proteína)	0,50 $\pm$ 0,06	0,76 $\pm$ 0,08	0,54 $\pm$ 0,09	0,70 $\pm$ 0,08
GSH (μM/ mg proteína)	280.158 $\pm$ 23.217	287.563 $\pm$ 26.5	249.698 $\pm$ 21.445	271.143 $\pm$ 28.428
GSSG (μM/ mg proteína)	0.225 $\pm$ 0.152	0.605 $\pm$ 0.866	1.020 $\pm$ 0.612	1.044 $\pm$ 0.519
Razão GSH/ GSSG	1927.413 $\pm$ 1311.68	876.668 $\pm$ 428.187	373.039 $\pm$ 255.915	336.832 $\pm$ 192.105

Para comparar uma possível diferença inter-grupo e ao longo do tempo (pré- e pós-exercício) nas variáveis sanguíneas, foi aplicada uma análise de variância ANOVA two-way e para medidas repetidas. Quando necessário foi utilizado o teste post hoc para múltipla comparação de Tukey HSD. O valor de significância adotado foi o de $p < 0,05$.

Legenda: TBARS: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, expressada em micromol de malondialdeído (MDA)/ mg de proteína do plasma (μ M MDA/ mg proteína); NO: Óxido nítrico, expressada em micromol de nitrito/ mg de proteína do plasma (Nitrito μ M/ mg proteína); SOD: Superóxido dismutase, expressada em unidades de SOD/ mg de proteína do plasma (unid. de SOD/ mg proteína); GSH: Glutathiona reduzida, expressada em micromol de glutathiona/ mg de proteína do plasma (μ M GSH/ mg proteína); GSSG: Glutathiona oxidada, expressada em micromol de glutathiona dissulfeto/ mg de proteína do plasma GSSG (μ M GSSG/ mg proteína); Razão GSH/ GSSG: Razão entre os níveis séricos de GSH e GSSG (GSH/ GSSG).

6 DISCUSSÃO

O presente estudo analisou o balanço redox de indivíduos altamente treinados aerobicamente em comparação a indivíduos sedentários, submetidos a uma sessão de exercício progressivo até a exaustão, no intuito de esclarecer como o nível condicionamento aeróbio pode influenciar o estresse oxidativo e a capacidade antioxidante.

Experimentos anteriores com seres humanos obtiveram achados diferentes e até contrários a respeito do efeito do nível de condicionamento físico sobre o estresse oxidativo e a capacidade antioxidante. Essa divergência de resultados pode estar associada à variação de protocolos experimentais e da população escolhida, bem como à ausência de critérios padronizados para a alimentação e para o nível de condicionamento dos indivíduos, que possivelmente interferem nos resultados.

O presente estudo foi realizado à partir de uma análise crítica dos métodos e suas possíveis falhas, adotados por pesquisas anteriores, que possivelmente influenciaram os resultados de maneira divergente. O protocolo de exercício agudo em cicloergômetro escolhido foi o teste progressivo até a exaustão, adaptado de Balke e Ware (BALKE; WARE, 1959), para repetir os padrões de teste utilizados anteriormente (FALONE *et al.*, 2010) e facilitar o entendimento do efeito de diferentes níveis de condicionamento físico sobre o estresse oxidativo e a capacidade antioxidante. Os valores extremos encontrados no presente estudo para a PSE e R confirmam que todos os indivíduos testados atingiram o esforço máximo. A grande diferença do estado de condicionamento físico dos indivíduos foi confirmada pelos valores médios completamente distintos entre os grupos para a potência máxima atingida e para o consumo máximo de O₂. A alimentação dos voluntários foi planejada sem antioxidantes, com a intenção de prevenir contra possíveis interferências sobre o balanço redox (MADRIGAL-SANTILLÁN *et al.*, 2013; AMMAR *et al.*, 2017) e *ad libitum* para evitar que os voluntários iniciassem o exercício com a sensação de fome ou com desconfortos por excesso de alimento. A população escolhida foi de ciclistas profissionais (nível de performance 4) e indivíduos sedentários (nível de performance 1) (PAUW *et al.*, 2013), todos do sexo masculino, e a diferença escolhida

para os níveis de condicionamento entre os grupos foi a maior possível, equiparando às maiores diferenças encontradas em estudos anteriores relacionados ao presente tema com a mesma população (BRITO, 2016).

Os principais resultados deste estudo podem ser divididos entre o efeito do estado de treinamento aeróbico e o efeito do exercício progressivo até a exaustão.

6.1 No que diz respeito ao estado de treinamento dos voluntários:

Os resultados encontrados no presente estudo mostraram que houve diferenças para as variáveis TBARS, NO, GSH, GSSG e GSH/ GSSG, e não houve diferença para SOD, ao comparar indivíduos treinados aerobiamente com sedentários. Os níveis séricos dos indicadores de dano celular (TBARS) foram maiores para os indivíduos sedentários em comparação aos treinados, independentemente do exercício, o que está de acordo com os resultados encontrados por SELAMOGLU *et al.* (2000). Estes resultados diferem dos achados pelo estudo de STUPIN *et al.* (2017) e contradizem os encontrados por FALONE *et al.* (2010). No estudo de STUPIN *et al.* (2017), não houve diferenças entre os indivíduos treinados e sedentários. Entretanto, não foram fornecidos dados acerca do $VO_{2máx}$ dos indivíduos para determinar a diferença para os níveis de condicionamento físico entre os grupos. FALONE *et al.* (2010) observaram níveis de TBARS maiores para os indivíduos treinados, porém a diferença do condicionamento dos indivíduos entre os grupos ($VO_{2máx}$ para treinados 48.5 ± 0.9 ml/ kg/ min e destreinados 33.3 ± 1.2) foi menor do que a utilizada no presente estudo (TR $62,56 \pm 6,07$ ml/ kg/ min e SD $33,37 \pm 3,69$ ml/ kg/ min). Sabe-se que um aumento das concentrações de ERO e ERN pode ocasionar aumento de dano celular por estresse oxidativo (LI; GOMEZ-CABRERA; VINA, 2006; FISHER-WELLMAN; BLOOMER, 2009). O presente estudo observou um dano celular aumentado para o grupo SD, independentemente do exercício, o que pode ter sido uma consequência da maior concentração sanguínea de NO encontradas para este grupo, em comparação ao grupo TR. Os resultados deste estudo para os níveis de NO foram diferentes dos achados por BRITO (2016). No estudo realizado por BRITO (2016) não houve diferença para as concentrações sanguíneas de NO entre indivíduos treinados e sedentários nos momentos pré- e pós-exercício, porém o protocolo utilizado foi de exercício agudo submáximo até a exaustão. No presente estudo, as concentrações do antioxidante glutatona em sua forma reduzida (GSH) foram maiores, enquanto os valores da forma oxidada (GSSG) foram menores para o SD em comparação ao TR. Portanto, foi identificada uma maior atividade antioxidante (valores menores da razão GSH/ GSSG)

para o grupo TR (JONES, 2006; PÓCSI; PRADE; PENNINCKX, 2004). A menor concentração de NO, encontrada no presente estudo, para o grupo TR pode ser uma consequência da maior atividade antioxidante (LI; GOMEZ-CABRERA; VINA, 2006; FISHER-WELLMAN; BLOOMER, 2009). Não houve diferença para as concentrações de SOD entre TR e SD. Assim, os diferentes níveis de condicionamento não influenciaram os resultados para esse antioxidante.

6.2 Sobre o efeito do exercício progressivo até a exaustão:

Quanto ao efeito de uma sessão de exercício progressivo até a exaustão, foram observadas diferenças entre indivíduos treinados aerobiamente e sedentários para as variáveis SOD, NO e razão da GSH/ GSSG, sem diferença entre os grupos para GSH, GSSG e TBARS. Os resultados de TBARS foram maiores após o exercício para os dois grupos, corroborando os resultados de estudos anteriores (FISHER-WELLMAN; BLOOMER, 2009), o que indica que, independentemente do nível de condicionamento, o exercício agudo progressivo até a exaustão proporciona aumento do estresse oxidativo. O tempo total de exercício foi diferente entre os dois grupos, porém ambos atingiram níveis aumentados semelhantes para concentração de TBARS após o exercício. Portanto o fator determinante para o aumento do dano celular por estresse oxidativo foi o fato de que todos os indivíduos atingiram o esforço máximo. Esses resultados contrariam os achados por FALONE *et al.* (2010), que coletaram as amostras sanguíneas 30 minutos após o final do exercício, e diferem do estudo de STUPIN *et al.* (2017), no qual o exercício foi realizado em jejum e não houveram diferenças entre os momentos. Sabe-se que o jejum aumentado reduz o tempo de esforço em intensidades correspondentes ao $VO_{2máx}$ (MAUGHAN; FALLAH; COYLE, 2010). Portanto, a realização do esforço no estudo de STUPIN *et al.* (2017), principalmente em intensidades máximas, pode ter sido comprometida pelo jejum, e isso pode ter afetado os resultados.

TANSKANEN *et al.* (2009), mostraram que indivíduos em estado de overtraining apresentaram respostas atenuadas de estresse oxidativo em comparação ao grupo controle após o exercício progressivo até a exaustão. Os resultados do presente estudo são complementares ao estudo de TANSKANEN *et al.* (2009), pois mostraram que independentemente do estado de treinamento, para indivíduos saudáveis, o exercício progressivo até a exaustão proporcionou aumento das concentrações de TBARS.

Portanto, a concentração de TBARS após o exercício progressivo até a exaustão pode ser um importante indicador para o diagnóstico da síndrome do excesso de treinamento.

Após o exercício, houve um aumento das concentrações de NO para o grupo SD e redução para o TR em comparação aos níveis encontrados antes do exercício, resultados diferentes dos apresentados pelo estudo de CUBRILO *et al.* (2011) e BRITO (2016). No estudo realizado por CUBRILO *et al.* (2011) não foram encontradas diferenças entre as concentrações de NO pré- e pós-exercício máximo para indivíduos treinados. BRITO (2016) observou um aumento das concentrações de NO para os indivíduos treinados após o exercício e não houve diferença entre os momentos pré- e pós-exercício para os sedentários. No presente estudo, a atividade antioxidante pré-exercício foi maior (menores valores da razão GSH/ GSSG) para o grupo TR em comparação ao SD. Já no momento pós-exercício os valores foram iguais para os dois grupos, o que significa um aumento da atividade antioxidante durante o exercício para o grupo SD e manutenção para o TR. Os resultados do presente estudo são diferentes dos apresentados por SEIFISKISHAHR *et al.* (2016), que observaram redução da razão GSH/ GSSG após o exercício para os indivíduos treinados e destreinados, sem diferença entre os grupos, porém o exercício utilizado foi de intensidade submáxima. No presente estudo, o aumento da atividade antioxidante observado para o grupo SD após o exercício pode ser consequência de uma resposta antioxidante mais lenta como resultado do baixo nível de condicionamento físico. Aqui, a observada redução das concentrações de NO após o exercício para o grupo TR foram acompanhadas pelo aumento de SOD e manutenção da razão GSH/ GSSG. Para o grupo TR, a maior atividade antioxidante (GSH/ GSSG) pré-exercício, somada ao aumento da concentração de antioxidante (SOD) gerado pelo exercício, possivelmente ocasionaram a redução dos níveis de NO gerada pelo exercício (LI; GOMEZ-CABRERA; VINA, 2006; FISHER-WELLMAN; BLOOMER, 2009). O aumento dos níveis de NO após o exercício para o grupo SD foi acompanhado pelo o aumento de SOD e da atividade antioxidante gerado pelo exercício (FISHER-WELLMAN; BLOOMER, 2009). No entanto, o aumento da atividade antioxidante e das concentrações de SOD gerados pelo exercício, observados para o grupo SD, não foram suficientes para proporcionar uma redução dos níveis de NO imediatamente após o exercício. Estes resultados sugerem que existe um retardo da resposta antioxidante para os indivíduos sedentários em comparação aos treinados, ou seja, é possível que a velocidade de ação sistema antioxidante seja aumentada, como efeito do treinamento. Os indivíduos treinados apresentaram uma capacidade antioxidante mais eficiente em comparação aos

sedentários, observada pela concentração reduzida de NO para os TR imediatamente após o exercício. É possível que por essa razão, apesar do grupo TR ter atingido maiores níveis de consumo de oxigênio gerados pelo exercício em comparação ao SD (TR $62,56 \pm 6,07$ ml/ kg/ min > SD $33,37 \pm 3,69$ ml/ kg/ min), o exercício proporcionou aumentos semelhantes de dano celular por estresse oxidativo (TBARS) para os dois grupos. A duração do estímulo pode influenciar os resultados do estresse oxidativo e da capacidade antioxidante. Apesar do tempo total de exercício ter sido maior para o grupo TR, os resultados indicaram uma menor concentração de NO para o grupo TR, e níveis semelhantes TBARS entre os grupos, o que eliminou os possíveis efeitos do diferente tempo total de exercício entre os grupos estudados e tornou os resultados ainda mais significativos.

Seriam necessários mais estudos sobre o balanço redox durante o exercício e o tempo de recuperação, para maior elucidação a respeito do efeito do treinamento sobre o balanço redox em seres humanos. É importante ressaltar que o tipo de exercício experimental e os critérios metodológicos adotados devem ser planejados de modo que as comparações com estudos existentes proporcionem uma convergência de resultados, favorecendo o esclarecimento sobre o assunto.

6.3 Limitações do estudo

No presente estudo, os voluntários apresentaram-se após 3 horas em jejum, receberam a alimentação padronizada, e foram encaminhados para as medições de peso e estatura. As coletas das amostras de sangue pré-exercício aconteceram 1 hora após a refeição padronizada. O processo digestivo pode ter provocado alguma alteração nas variáveis sanguíneas analisadas. Por outro lado, esse foi um procedimento padronizado para todos os voluntários, treinados e sedentários, portanto possivelmente não alterou as comparações entre os grupos.

7 CONCLUSÃO

Como efeito do estado de treinamento, os resultados do presente estudo indicam que indivíduos adultos treinados aerobicamente apresentam estresse oxidativo reduzido e capacidade antioxidante aumentada em comparação a indivíduos sedentários. Como efeito do exercício, independentemente do nível de condicionamento físico, uma sessão de exercício progressivo até a exaustão proporciona aumento do estresse oxidativo.

A redução da concentração de radicais livres acompanhada pela manutenção da resposta antioxidante após o exercício, para os indivíduos treinados aerobicamente, pode ser uma consequência da maior capacidade antioxidante encontrada como efeito do estado de treinamento.

REFERÊNCIAS

- AMMAR, A. *et al.* Effects of pomegranate juice supplementation on oxidative stress biomarkers following weightlifting exercise. **Nutrients**, v. 9, n. 8, p. 819, 2017.
- AMERICAN THORACIC SOCIETY *et al.* ATS/ACCP Statement on Cardiopulmonary exercise testing. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 167, n. 2, p. 211, 2003.
- BALKE, B.; WARE, R. W. An experimental study of physical fitness of Air Force personnel. **United States Armed Forces Medical Journal**, v. 10, n. 6, p. 675-688, 1959.
- BORG, G. A. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 14, n. 5, p. 377-381, 1982.
- BRITO, I. S. S.; PRADO, L. S. **A formação de espécies reativas de oxigênio, estresse oxidativo, capacidade antioxidante e resposta imune durante exercício prolongado até a fadiga voluntária em indivíduos treinados e sedentários.** Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2016.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. [30] Microsomal lipid peroxidation. In: Methods in enzymology. **Academic Press**, 1978. p. 302-310.
- CUBRILO, D. *et al.* Oxidative stress and nitrite dynamics under maximal load in elite athletes: relation to sport type. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 355, n. 1-2, p. 273-279, 2011.
- CULOTTA, V. C.; YANG, M.; O'HALLORAN, T. V. Activation of superoxide dismutases: putting the metal to the pedal. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research**, v. 1763, n. 7, p. 747-758, 2006.
- DALLE-DONNE, I. *et al.* Biomarkers of oxidative damage in human disease. **Clinical chemistry**, v. 52, n. 4, p. 601-623, 2006.
- DILLARD, C. J. *et al.* Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. **Journal of Applied Physiology**, v. 45, n. 6, p. 927-932, 1978.
- DIETERICH, S. *et al.* Gene expression of antioxidative enzymes in the human heart: increased expression of catalase in the end-stage failing heart. **Circulation**, v. 101, n. 1, p. 33, 2000.
- DUTHIE, G. G. *et al.* Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 282, n. 1, p. 78-83, 1990.
- EDUARD, A.; MEIJER, F. H. The histochemical localization of reduced glutathione in skeletal muscle under different pathophysiological conditions. **Acta Histochemica**, v. 90, n. 2, p. 147-154, 1991.
- FALONE, S. *et al.* Differential impact of acute bout of exercise on redox-and oxidative damage-related profiles between untrained subjects and amateur runners. **Physiological research**, v. 59, n. 6, p. 953, 2010.

FISHER-WELLMAN, K.; BLOOMER, R. J. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. **Dynamic Medicine**, v. 8, n. 1, p. 1, 2009.

GRIPP, F. *et al.* Sustained, prolonged exercise at stable heart rate defined by the deflection point identification method. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 23, n. 2, p. 632-637, 2009.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. MC. [1] Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. In: **Methods in Enzymology**. Academic Press, 1990. p. 1-85.

HALLIWELL, B.; CROSS, C. E. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. **Environmental Health Perspectives**, v. 102, n. Suppl 10, p. 5, 1994.

HALLIWELL, B.; Free radicals and antioxidants: updating a personal view. **Nutrition Reviews**, v. 70, n. 5, p. 257-265, 2012.

HISSIN, P. J.; HILF, R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. **Analytical Biochemistry**, v. 74, n. 1, p. 214-226, 1976.

LI, J.; GOMEZ-CABRERA, M.; VINA, J. Exercise and hormesis: activation of cellular antioxidant signaling pathways. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 1067, p. 425-435, 2006.

JONES, D. P. Redefining oxidative stress. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 8, n. 9-10, p. 1865-1879, 2006.

KERKSICK, C. *et al.* International Society of Sports Nutrition position stand: nutrient timing. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 5, n. 1, p. 17, 2008.

KIRKMAN, H. N.; GAETANI, G. F. Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 32, n. 1, p. 44-50, 2007.

KOJDA, G.; HARRISON, D. Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. **Cardiovascular Research**, v. 43, n. 3, p. 652-671, 1999.

KUIPERS, H. *et al.* Variability of aerobic performance in the laboratory and its physiologic correlates. **International Journal of Sports Medicine**, v. 6, n. 04, p. 197-201, 1985.

LAWLER, J. M.; DEMAREE, S. R. Relationship between NADP-specific isocitrate dehydrogenase and glutathione peroxidase in aging rat skeletal muscle. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 122, n. 3, p. 291-304, 2001.

LAWLER, J. M.; POWERS, S. K.; CRISWELL, D. S. Inducibility of NADP-specific isocitrate dehydrogenase with endurance training in skeletal muscle. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 149, n. 2, p. 177-181, 1993.

LEVINE, R. L. Carbonyl assay for determination of oxidatively modified proteins. **Methods of Enzymology**, v. 233, p. 246-257, 1994.

- LIMA, D. M. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos-TACO**. Nepa-Unicamp, 2006.
- LOWRY, O. H. *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.
- MADRIGAL-SANTILLÁN, E. *et al.* Antioxidant and anticlastogenic capacity of prickly pear juice. **Nutrients**, v. 5, n. 10, p. 4145-4158, 2013.
- MAUGHAN, R. J.; FALLAH, J.; COYLE, E. F. The effects of fasting on metabolism and performance. **British Journal of Sports Medicine**, v. 44, n. 7, p. 490-494, 2010.
- MCCORD, J. M. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. **New England Journal of Medicine**, v. 312, n. 3, p. 159-163, 1985.
- MEISTER, A.; ANDERSON, M. E. Glutathione. **Annual Review of Biochemistry**, v. 52, n. 1, p. 711-760, 1983.
- NEUBAUER, O.; KÖNIG, D.; WAGNER, K. Recovery after an Ironman triathlon: sustained inflammatory responses and muscular stress. **European Journal of Applied Physiology**, v. 104, n. 3, p. 417-426, 2008.
- NUNN, A. V. *et al.* Inflammatory modulation of exercise salience: using hormesis to return to a healthy lifestyle. **Nutrition & Metabolism**, v. 7, n. 1, p. 87, 2010.
- PALMER, R. M. *et al.* L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 153, n. 3, p. 1251-1256, 1988.
- PAUW, K.D. *et al.* Guidelines to classify subject groups in sport-science research. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 8, n. 2, p. 111-122, 2013.
- PITTALUGA, M. *et al.* Physical exercise and redox balance in type 2 diabetics: effects of moderate training on biomarkers of oxidative stress and DNA damage evaluated through comet assay. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2015, 2015.
- PINTO, A. *et al.* Effects of physical exercise on inflammatory markers of atherosclerosis. **Current Pharmaceutical Design**, v. 18, n. 28, p. 4326-4349, 2012.
- PÓCSI, I.; PRADE, R. A.; PENNINCKX, M. J. Glutathione, altruistic metabolite in fungi. **Advances in Microbial Physiology**, v. 49, n. 1.76, 2004.
- POWERS, S. K.; JACKSON, M. J. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. **Physiological Reviews**, v. 88, n. 4, p. 1243-1276, 2008.
- POWERS, S. K.; RADAK, Z.; JI, L. Exercise-induced oxidative stress: past, present and future. **The Journal of Physiology**, v. 594, n. 18, p. 5081-5092, 2016.

POWERS, S. K.; TALBERT, E. E.; ADHIHETTY, P. J. Reactive oxygen and nitrogen species as intracellular signals in skeletal muscle. **The Journal of Physiology**, v. 589, n. 9, p. 2129-2138, 2011.

RICE-EVANS, C.; MILLER, N. J. [241 Total antioxidant status in plasma and body fluids. In: **Methods in Enzymology**. Academic Press, 1994. p. 279-293.

RISTOW, M.; ZARSE, K. How increased oxidative stress promotes longevity and metabolic health: The concept of mitochondrial hormesis (mitohormesis). **Experimental Gerontology**, v. 45, n. 6, p. 410-418, 2010.

SEIFI-SKISHAHR, F. *et al.* Physical training status determines oxidative stress and redox changes in response to an acute aerobic exercise. **Biochemistry Research International**, v. 2016, 2016.

SIES, H.; CADENAS, E. Oxidative stress: damage to intact cells and organs. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 311, n. 1152, p. 617-631, 1985.

SIES, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. **Redox Biology**, v. 4, p. 180-183, 2015.

SINGH, V. *et al.* Fluorometric Estimation of Glutathione in Cultured Microglial Cell Lysate. **Bio-protocol** v. 7, n.11, e2304, 2017.

STUPIN, Marko *et al.* Acute exhaustive rowing exercise reduces skin microvascular dilator function in young adult rowing athletes. **European Journal of Applied Physiology**, v. 118, n. 2, p. 461-474, 2018.

SUZUKI, K. *et al.* Superoxide dismutases in exercise and disease. **Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise**, p. 243-295, 2000.

TANSKANEN, M.; ATALAY, M.; UUSITALO, Arja. Altered oxidative stress in overtrained athletes. **Journal of Sports Sciences**, v. 28, n. 3, p. 309-317, 2010.

TSIKAS, D. Analysis of nitrite and nitrate in biological fluids by assays based on the Griess reaction: appraisal of the Griess reaction in the L-arginine/nitric oxide area of research. **Journal of Chromatography B**, v. 851, n. 1-2, p. 51-70, 2007.

TSUTSUI, H.; KINUGAWA, S.; MATSUSHIMA, S. Oxidative stress and heart failure. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 301, n. 6, p. H2181-H2190, 2011.

TURGAY, F. *et al.* Aerobic and anaerobic training effects on the antioxidant enzymes of the blood. **Acta Physiologica Hungarica**, v. 87, n. 3, p. 267-274, 2000.

WALLIN, B. *et al.* Lipoprotein oxidation and measurement of thiobarbituric acid reacting substances formation in a single microtiter plate: its use for evaluation of antioxidants. **Analytical Biochemistry**, v. 208, n. 1, p. 10-15, 1993.

YAGI, K. Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma. In: **Free Radical and Antioxidant Protocols**. Humana Press, 1998. p. 101-106.

APÊNDICE 1

QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA – VERSÃO CURTA, adaptada para atividade seminal durante os últimos 12 meses.

Nome: _____

Data: ____/____/____ Idade : ____ Sexo: F () M ()

As perguntas abaixo estão relacionadas ao tempo que você gastou fazendo atividade física semanalmente ao longo dos últimos 12 meses. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim. Suas respostas são MUITO importantes. Por favor responda cada questão mesmo que considere que não seja ativo.

Para responder as questões lembre que:

- Atividades físicas VIGOROSAS são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar MUITO mais forte que o normal.
- Atividades físicas MODERADAS são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar UM POUCO mais forte que o normal.

Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza por pelo menos 10 minutos contínuos de cada vez.

1a) Em quantos dias por semana você CAMINHOU por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?
dias ____ por SEMANA () Nenhum

1b) Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou caminhando por dia?
horas: ____ Minutos: ____

2a) Em quantos dias por semana, você realizou atividades MODERADAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar moderadamente sua respiração ou batimentos do coração (POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA)
dias ____ por SEMANA () Nenhum

2b) Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?
horas: ____ Minutos: ____

3a) Em quantos dias por semana, você realizou atividades VIGOROSAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar MUITO sua respiração ou batimentos do coração.
dias ____ por SEMANA () Nenhum

3b) Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

horas: _____ Minutos: _____

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentando durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

4a) Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de semana?

_____ horas _____ minutos

4b. Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de final de semana?

_____ horas _____ minutos

CENTRO COORDENADOR DO IPAQ NO BRASIL– CELAFISCS -
INFORMAÇÕES ANÁLISE, CLASSIFICAÇÃO E COMPARAÇÃO DE RESULTADOS NO BRASIL
Home Page: www.celafiscs.com.br IPAQ Internacional: www.ipaq.ki.se

APÊNDICE 2

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE

Pesquisa: O estresse oxidativo e a capacidade antioxidante total em homens treinados e sedentários após exercício aeróbico máximo.

Gostaríamos de convidar você para ser voluntário do projeto de pesquisa intitulado "*O estresse oxidativo e a capacidade antioxidante total em homens treinados e sedentários após exercício aeróbico máximo*", cujo o objetivo é avaliar o nível de estresse oxidativo em resposta a uma sessão de exercício máximo progressivo até à fadiga voluntária em indivíduos altamente treinados, e em indivíduos sedentários. Todos procedimentos serão realizados no consultório médico situado na avenida Oscar Niemayer, número 1033B, sala 328, bairro Vila da Serra, Nova Lima/MG.

Se você aceitar participar como voluntário deverá preencher uma ficha de dados pessoais e responder a um questionário que indica a sua prontidão para realizar exercícios físicos. Você deverá realizar uma visita ao local dos procedimentos, onde inicialmente será feita sua avaliação física que tem o propósito de determinar suas características físicas (peso e estatura). Em seguida você realizará uma familiarização ao protocolo de exercício ao pedalar em um cicloergometro por 10 minutos em baixa intensidade, utilizando uma máscara do aparelho que realiza medida de variáveis respiratórias. Logo após a familiarização haverá um descanso passivo de 5 minutos. Após o descanso você será submetido à situação experimental com os mesmos equipamentos utilizados na familiarização, pedalando de maneira progressiva a cada aproximadamente 2 minutos até atingir a fadiga voluntária. Todas as situações serão realizadas em ambiente a 22°C.

Durante o experimento será colocado um cardiofrequencímetro sobre seu peito para medida da frequência cardíaca, será utilizado uma máscara para medida de variáveis respiratórias. Antes e ao final do exercício sua pressão arterial será analisada e uma amostra de 8ml do seu sangue será coletada por um profissional habilitado e experiente em punção venosa e coleta de sangue, devidamente identificado. A amostra de sangue será utilizada para analisar as variáveis de estresse oxidativo e capacidade antioxidante total. Antes, durante e ao final do exercício você também deverá responder algumas perguntas para permitir avaliar algumas percepções que você está tendo ao longo do exercício. Você deverá seguir um protocolo de cuidados no dia anterior ao de coleta que prevê a padronização de suas refeições, não ingestão de bebidas que contenham álcool ou cafeína, bem como não realizar nenhum tipo de treinamento físico.

Ao participar deste estudo você está sujeito a alguns riscos naturalmente associados ao exercício físico, como: lesões musculoesqueléticas, distúrbios e incômodos causados pelo calor e cansaço durante a atividade. As medidas de peso, altura, FC e preenchimento do questionário, são simples e corriqueiras, mas podem ocasionar alguma ansiedade. A realização do teste com realização exercício físico acarretará cansaço e alterações na frequência cardíaca e na pressão arterial; a chance, bastante remota, de um evento cardíaco é minimizada pelos critérios adotados para interrupção do exercício e seleção dos participantes. Em nenhum momento da coleta você sofrerá qualquer tipo de preconceito ou discriminação. Você está isento de qualquer ajuda de custo pela participação na pesquisa. Os resultados deste estudo serão publicados, mas seus dados pessoais não serão divulgados.

Todas as despesas especificamente relacionadas ao estudo são de responsabilidade do Laboratório de Fisiologia do Exercício (LAFISE) da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG e caso seja necessário, você poderá contar com o serviço de pronto atendimento em virtude de qualquer mal-estar ocasionado pelas situações experimentais.

Além de contribuir para maior conhecimento sobre o tema e para os avanços das pesquisas desta área de conhecimento, você será pessoalmente beneficiado, pois terá acesso a testes físicos gratuitos que indicarão sua atual condição física e cujos resultados podem ser usados como parâmetros para programação de treino para melhoria de sua saúde ou rendimento.

Esta pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisas (COEP) da UFMG e este termo está de acordo com a Resolução 466 do Conselho Nacional de Saúde de 12/12/2012, que protege os direitos dos seres humanos em pesquisas. Qualquer dúvida quanto aos seus direitos como sujeito participante em pesquisas, ou se sentir que foi colocado em riscos não previstos, você poderá contatar o COEP para esclarecimentos. Você dispõe de total liberdade para esclarecer as questões que possam surgir durante a pesquisa. Para qualquer dúvida referente aos aspectos éticos que envolvem a sua participação nessa pesquisa, por favor, entre em contato com os pesquisadores responsáveis pelo estudo: Prof. Dr.

Luciano Sales Prado (orientador) – tel. (31) 3409-2350 / lucianosalesprado@hotmail.com, e Camilo Oliveira Geraldi (mestrando), tel. (31) 9-8774-1320 / camilogeraldi@outlook.com. Você também pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa: Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005. Campus Pampulha. Belo Horizonte, MG – Brasil. CEP: 31270-901. E-mail: coep@prpq.ufmg.br. Tel.: (31) 3409-4592. Os pesquisadores podem decidir sobre a sua exclusão do estudo por razões científicas, sobre as quais você será devidamente informado.

Rubrica pesquisador: _____ Rubrica participante: _____

Você se compromete a seguir as orientações dadas durante o estudo e principalmente a informar aos pesquisadores sobre desconfortos ou lesões sofridas antes ou durante a pesquisa, pois durante todo o processo o seu bem-estar será privilegiado. Após ter todas as suas dúvidas esclarecidas pelos pesquisadores responsáveis, se você concordar em participar dessa pesquisa, você deverá assinar este termo em duas vias, uma via para você e outra para os pesquisadores responsáveis.

CONSENTIMENTO

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito de todos os dados que li e concordo, voluntariamente, em participar do estudo "*O estresse oxidativo e a capacidade antioxidante total em homens treinados e sedentários após exercício aeróbio máximo*", que será realizado no consultório médico situado na avenida Oscar Niemayer, número 1033B, sala 328, bairro Vila da Serra, Nova Lima/MG. Além disso, estou ciente de que posso me recusar a participar deste estudo e/ou abandoná-lo a qualquer momento, sem precisar me justificar e sem que isso seja motivo de qualquer tipo de constrangimento para mim.

Belo Horizonte, ____ de _____ de ____.

Assinatura do voluntário: _____

Nome (letra legível): _____

Declaro que expliquei os objetivos deste estudo para o voluntário, dentro dos limites dos meus conhecimentos científicos.

Camilo Oliveira Geraldi
Mestrando em Ciências do Esporte – EEFFTO/ UFMG

Dr. Luciano Sales Prado
Orientador e Professor da EEFFTO/ UFMG

Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP-UFMG):
Av. Pres. Antônio Carlos, 6627 – Unidade Administrativa II – 2º andar
Sala 2005 – CEP 31270-901 – BH – MG – Telefax: (31) 3409-4592
email: coep@prpq.ufmg.br

APÊNDICE 3

Pressão arterial dos voluntários nos momentos pré- e pós-exercício:

VOLUNTÁRIO	PA PRÉ-EXERCÍCIO	PA PÓS-EXERCÍCIO
TR1	139x70	134x80
TR2	122x67	115x52
TR3	125x73	107x60
TR4	112x55	107x55
TR5	122x72	112x60
TR6	121x70	126x72
TR7	104x72	120x76
TR8	132x65	121x70
TR9	121x80	112x76
TR10	122x73	112x82
TR11	132x80	126x81
TR12	125x81	122x82
TR13	101x70	109x60
TR14	104x78	118x58
SD1	124x63	115x60
SD2	137x75	119x74
SD3	125x73	107x60
SD4	114x60	113x60
SD5	112x55	107x55
SD6	115x62	119x67
SD7	122x72	112x60
SD8	121x70	126x72
SD9	126x81	122x83
SD10	104x72	120x76
SD11	132x65	121x70
SD12	122x70	132x55
SD13	132x80	140x81
SD14	121x80	112x76